



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN PREVIA LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE MAGISTER EN INGENIERÍA AGRÍCOLA  
MENCIÓN FITOTÉCNIA**

**MODALIDAD**

TRABAJO DE TITULACIÓN

**TEMA:**

PATOGENICIDAD DE *Beauveria* sp SOBRE *Cosmopolites sordidus* G EN  
PLÁTANO *Musa* AAB S

**AUTOR:**

**Ing. LOOR ALCÍVAR FROWEN AGUSTÍN**

**TUTOR:**

**MSc. VÉLEZ ZAMBRANO SERGIO MIGUEL**

**CO - TUTORA:**

**PhD. SOLÍS HIDALGO KARINA**

**CALCETA, FEBRERO DE 2023**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

El suscrito Loor Alcívar Frowen Agustín, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

---

**Ing. Frowen Agustín Loor Alcívar**

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

**MSc. Vélez Zambrano Sergio Miguel**, certifica haber tutelado el trabajo de titulación, Patogenicidad de *Beauveria* sp sobre *Cosmopolites sordidus* G en plátano *Musa* AAB S, que ha sido desarrollado por **Frowen Agustín Loor Alcívar**, previo la obtención del título de Magíster en Ingeniería Agrícola mención Fitotecnia, de acuerdo al Reglamento de unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**MSc. Vélez Zambrano Sergio Miguel**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación, Patogenicidad de *Beauveria* sp sobre *Cosmopolites sordidus* G en plátano *Musa* AAB S, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **Loor Alcívar Frowen Agustín**, previa la obtención del título de Magíster en Ingeniería Agrícola mención Fitotecnia, de acuerdo al Reglamento de la unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

Ph.D. Ángel Guzmán Cedeño

**MIEMBRO**

---

MSc. Luis Párraga Muñoz

**MIEMBRO**

---

MSc. Gonzalo Constante Tubay

**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por haberme dado la vida y la oportunidad de ser uno de sus escogidos, por todas las bendiciones recibidas, por los momentos agradables y también por los momentos difíciles; ya que como está escrito en su palabra, “A los que aman al señor todas las cosas le sirven para bien”.

A mi esposa, Lcda. Dora Verduga, por ser esa compañera ideal que me ha brindado su apoyo en todos los ámbitos de mi vida, en todo instante, mientras comparte su vida a mi lado.

A mi pastor, Álvaro Bazurto, por transmitirme su fortaleza espiritual adecuada y necesaria; con lo cual me ha hecho consciente que el exceso de conocimiento puede envanecer mi corazón y hacerme perder el verdadero amor por el Señor y el prójimo.

A mi tutor, MSc. Sergio Vélez, por su aporte inicial en el arranque del trabajo investigativo de esta tesis.

A mi cotutora, PhD. Karina Solís, por compartir sus importantes conocimientos con la dulzura que solo a ella le caracteriza, constituyéndose en la guía técnica en el desarrollo de esta investigación.

A mi maestro MSc. Luis Duicela, por su importante aporte en la estructuración, revisión, fortalecimiento cognoscitivo y en la redacción del presente documento.

A quienes sumaron un granito de arena con sus importantes aportes en la estructuración final de este trabajo MSc. Marlon Mena Montoya y PhD Lizardo Reina.

**Frowen Agustín Loor Alcívar**

## **DEDICATORIA**

A mis hijos, Alam, Elian, Scarlet y Samuel; también a mi sobrino Alejandro, ya que es necesario dejar trazado un sendero en dónde quizás ellos puedan algún día caminar; estoy convencido que la mejor herencia que se le puede dejar a quienes le servimos de ejemplo, es un legado, una ruta que sirva de inspiración para quienes apenas comienzan a caminar en la vida.

A mi madre, Ángela Alcívar, por ser la primera persona que confió en mi formación profesional, dándome el empujón necesario en los primeros pasos de mi etapa formativa.

A la ESPAM MFL, y la carrera de Agrícola, es preciso seguir incentivando trabajos de investigación que mejoren las condiciones ambientales para nuestro planeta sin dejar de ser productivos, estos trabajos deben salir de la academia e insertarse realmente en la comunidad y el campo.

**Frowen Agustín Loor Alcívar**

## CONTENIDO

PORTADA.....	i
DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO.....	vii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento y formulación del problema.....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Hipótesis.....	4
1.5. Variables.....	4
1.5.1. Variables Independientes.....	4
1.5.2. Variables Dependientes.....	4
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1. El plátano, origen e importancia económica.....	5
2.2. Picudo negro <i>Cosmopolites sordidus</i> G.....	6
2.2.1. Taxonomía.....	6
2.2.2. Morfología del insecto.....	6
2.2.3. Estadíos del insecto y comportamiento.....	7

2.2.4. Hábitos alimenticios.....	8
2.2.5. Trampas para capturar picudo negro.....	8
2.2.6. Manipulación de los insectos capturados.....	9
2.3. Entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> .....	10
2.3.1. Taxonomía.....	10
2.3.2. Morfología del hongo.....	10
2.3.3. Comportamiento de <i>Beauveria bassiana</i> en laboratorio.....	11
2.3.4. Acción entomopatógena.....	11
2.4. Mecanismos de control del picudo negro.....	13
2.4.1. Control químico.....	13
2.4.2. Relación dosis respuesta.....	14
2.4.3. Control biológico.....	15
2.4.4. Eficacia de control de <i>Beauveria</i> sp.....	17
2.4.5. Cepas comerciales de <i>Beauveria</i> sp.....	18
2.4.6. Aislados nativos del hongo <i>B. bassiana</i> .....	19
<b>CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO</b> .....	22
3.1. Ubicación.....	22
3.2. Duración.....	22
3.3. Fase previa: obtención de <i>Beauveria</i> sp y <i>Cosmopolites sordidus</i> .....	22
3.3.1. Captura, recolección y acopio de los insectos.....	22
* Equipos.....	22
* Insumos.....	23
* Materiales.....	23
3.3.2. Multiplicación de aislados de <i>Beauveria</i> sp.....	23
3.3.3. Conteo de conidios de los aislados de <i>Beauveria</i> sp .....	23
3.3.4. Preparación del inóculo de <i>Beauveria</i> sp .....	24
3.4. Fase experimental:.....	25



3.4.1. Diseño experimental.....	25
3.4.2. Unidad experimental.....	25
3.4.3. Factores en estudio.....	25
3.4.4. Tratamientos.....	26
3.4.5. Instalación del ensayo.....	26
3.4.6. Inoculación de los insectos con el etomopatógeno.....	26
3.5. Variables registradas y métodos de evaluación.....	27
3.5.1. Manejo de datos obtenidos.....	27
3.5.2. Determinación de la eficacia.....	27
3.5.3. Movilidad del insecto inoculado (MII) .....	28
3.5.4. Insectos con micelio del hongo (IMH) .....	29
3.5.5. Mortalidad (M) .....	29
3.5.5. Obtención de la DL <sup>50</sup> .....	30
3.6. Operacionalización de las variables.....	30
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
4.1 Determinación de la patogenicidad de aislados nativos de <i>Beauveria</i> sp sobre adultos de <i>C. sordidus</i> .....	32
4.1.1 Efecto de las dosis de los conidios de <i>Beauveria</i> sp en el picudo negro.....	32
4.1.2 Efecto de los aislados de <i>Beauveria</i> sp en el picudo negro.....	34
4.1.3 Relación entre el micelio de <i>Beauveria</i> sp y las dosis de conidios en el picudo. ....	36
4.1.4 Relación entre el micelio de <i>Beauveria</i> sp y los aislados en el picudo negro ....	38
4.2. Establecimiento de la concentración de conidios de <i>Beauveria</i> sp sobre los insectos de <i>C. sordidus</i> .....	39
4.2.1 Efecto de las dosis de los conidios de <i>Beauveria</i> sp en la mortalidad del picudo negro.....	39
4.2.2 Efecto de los aislados de <i>Beauveria</i> sp en la mortalidad del picudo negro.....	41
4.2.3 Análisis de la eficacia de las dosis de <i>Beauveria</i> sp aplicada sobre el picudo....	43
4.3. Cálculo de la DL <sup>50</sup> de conidios de <i>Beauveria</i> sp para controlar poblaciones	

	de picudo negro .....	44
	<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
5.1	Conclusiones.....	51
5.2	Recomendaciones.....	51
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>52</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>63</b>

## CONTENIDO DE TABLAS

1	<i>Factores y niveles en estudio.</i> .....	25
2	<i>Identificación y codificación de los tratamientos en estudio.....</i>	26
3	<i>Categorías para calificar el estado de incidencia del hongo .....</i>	28
4	<i>Categorías para calificar los insectos con micelio .....</i>	29
5	<i>Categorías para calificar la mortalidad .....</i>	30
6	<i>Identificación de la variable independiente.....</i>	30
7	<i>Identificación de la variable dependiente, patogenicidad del hongo.....</i>	31
8	<i>Pérdida de movilidad de los picudos pasado los doce días después de la inoculación (DDI), evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis)....</i>	32
9	<i>Picudos activos y con movilidad pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis) .....</i>	34
10	<i>Pérdida de movilidad de los picudos pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis) .....</i>	35
11	<i>Picudos activos y con movilidad pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis) .....</i>	36
12	<i>Picudos con micelio de Beauveria sp pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis) .....</i>	37
13	<i>Picudos con micelio de Beauveria sp pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis) .....</i>	38
14	<i>El porcentaje de mortalidad (PM) de picudos provocada por Beauveria sp pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis)....</i>	40

15	<i>El porcentaje de mortalidad (PM) de picudos provocada por Beauveria sp pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis)</i>	42
16	<i>Determinación de la eficacia Beauveria sp aplicada al picudo negro</i>	43
17	<i>Porcentaje de la mortalidad de picudo negro por tratamiento en el ambiente campo y la representación de escalares al máximo (EAM)</i>	45
18	<i>Valores escalares al máximo (EAM) del porcentaje de mortalidad en ambiente campo de picudos en función de aislados y dosis de conidios de Beauveria sp</i>	46
19	<i>Porcentaje de la mortalidad de picudo negro por tratamiento en el ambiente laboratorio y la representación de escalares al máximo (EAM)</i>	47
20	<i>Valores escalares al máximo (EAM) del porcentaje de mortalidad en ambiente laboratorio de picudos en función de aislados y dosis de conidios de Beauveria sp</i>	48
21	<i>Coefficiente de la DL<sup>50</sup> evaluada en ambos ambientes con los datos obtenidos de los gráficos de dispersión en función de la equis (FX)</i>	50

## RESUMEN

Un factor limitante de la producción de plátano es la infestación con picudo negro; en tal virtud, esta investigación planteó determinar la patogenicidad de tres aislados nativos de *Beauveria* sp en diferentes concentraciones ( $10^4$ ,  $10^6$  y  $10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>), aplicados bajo condiciones controladas sobre *Cosmopolites sordidus*. La investigación se efectuó en la ciudad de Calceta del cantón Bolívar, entre junio del 2021 y febrero del 2022. El experimento se planteó con 10 tratamientos y tres repeticiones en dos ambientes, campo y laboratorio; se evaluaron las variables: movilidad, insectos con micelio y mortalidad; además se determinó la DL<sup>50</sup>. Los aislados se aplicaron con atomizadores en las unidades experimentales que contenían 10 insectos vivos, rociando 1 mL de la solución sobre los tratamientos (exceptuando el testigo). Los resultados indicaron que estadísticamente las dosis difieren y los aislados fueron iguales; destacándose los porcentajes más altos obtenidos en campo y laboratorio respectivamente según la variable: movilidad de los insectos, la dosis D3 (44,4 y 50,8%), el aislado A3 (40,9 y 49,2%); en insectos con micelio, la dosis D3 (19,92 y 33,06%), los aislados A3 y A2 (17,34 y 30,10%) y en la mortalidad, la dosis D3 (38,33 y 45,44%), los aislados A2 y A1 (30,52 y 41,60%); adicionalmente se determinó la eficacia, sobresaliendo la dosis D3 (28 y 36%). Se concluye que los aislados no difieren estadísticamente, sin embargo, el A3 porcentualmente se destacó en la aparición del micelio (17,34 y 27,80%) y en la DL<sup>50</sup> obtenida, la cual fue de  $2,49 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>.

**Palabras clave:** Aislados, entomopatógenos, micelio, ambientes, conidios.

## ABSTRACT

A limiting factor of plantain production is the infestation with black weevil; therefore, this research proposed to determine the pathogenicity of three native isolates of *Beauveria sp* in different concentrations ( $10^4$ ,  $10^6$  and  $10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ ), applied under controlled conditions on *Cosmopolites sordidus*. The research was carried out in Calceta city in Bolívar canton, between June 2021 and February 2022. The experiment was carried out with 10 treatments and three repetitions in two environments, field and laboratory; the variables were evaluated: mobility, insects with mycelium and mortality; in addition, the  $\text{LD}^{50}$  was determined. The isolates were applied with atomizers in the experimental units containing 10 live insects, spraying 1 mL of the solution on the treatments (except the control). The results indicated that statistically the doses differ and the isolates were the same; highlighting the highest percentages obtained in the field and laboratory respectively according to the variable: insect mobility, the D3 dose (44,35 and 50,56%), the A3 isolate (40,93 and 49,26%); in insects with mycelium, the D3 dose (19,92 and 33,06%), the A3 and A2 isolates (17,34 and 30,10%) and in mortality, the D3 dose (38,33 and 45,44 %), isolates A2 and A1 (30,52 and 41,60%); additionally, the efficacy was determined, standing out the D3 dose (28 and 36%). It is concluded that the isolates do not differ statistically, however, the A3 percentage stood out in the appearance of the mycelium (17,34 and 27,80%) and in the  $\text{LD}^{50}$  obtained, which was  $2,49 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ .

**Key words:** Isolates, entomopathogenic, mycelium, environments, conidia.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El banano (*Musa AAA S*) y el plátano (*Musa AAB S*), son dos de los productos de la canasta básica más comercializados, según Paz y Pesantez (2013). Las musáceas se ven amenazadas por diversos problemas fitosanitarios que generan pérdidas a los productores, entre ellos el ataque del insecto picudo negro (*Cosmopolites sordidus* G). El picudo negro está presente en todos los países productores de banano y plátano del mundo, llegando a reducir el peso del racimo hasta en 28% y los rendimientos hasta en un 85% (Bohórquez, 2020).

De acuerdo a Echeverría (2006), existe un aumento de plagas resistentes por el uso excesivo de pesticidas; además de daños ambientales por la contaminación del agua, aire y suelo agrícola; así como el impacto sobre otros organismos vivos, incluyendo a la fauna benéfica. Los estudios en biología, en la actualidad se orientan a un trato más amigable con el ambiente, aprovechando los enemigos naturales de las plagas en la agricultura, que buscan solventar los problemas que aquejan los cultivos de importancia a nivel mundial como es el plátano.

Dávila (2020), indica que el picudo negro es considerado uno de los principales insectos plaga que afectan los cultivos de musáceas. El daño principal es causado por las larvas que se alimentan del corno y pseudotallo, formando galerías que impiden el desarrollo de las plantas. El ataque del picudo negro ocasiona pérdidas de hasta el 42% de la cosecha; mientras que se desconoce la magnitud de las pérdidas del picudo rayado (*Metamasius hemipterus* S), considerado peligroso debido a que es vector de enfermedades.

Para el manejo de esta plaga, se han utilizado medidas químicas, las cuales son poco eficaces para su control y no se han usado alternativas de menor impacto al ambiente como los hongos entomopatógenos. En Uganda se seleccionaron varias cepas (G41, S204 y WA) patogénicas y de alta esporulación que actúan contra el picudo negro en dosis de  $1,16 \times 10^{11}$  conidios mL<sup>-1</sup> (Akello et al., 2007).

Barra (2020) señala que la patogenicidad del hongo *B. bassiana* sobre insectos plaga es variable, situación por la que muchos investigadores evalúan al entomopatógeno con cepas nativas como RGM-547 y RGM-557, que alcanzaron entre 35 y 50% de colonización respectivamente, aplicado en el cultivo de *Lycopersicon esculentum* P para combatir plagas como *Bemisia tabaci* G, en estado adulto.

En este contexto se formula la siguiente pregunta ¿Qué concentración de los aislados nativos de *Beauveria* sp presenta mayor patogenicidad, sobre el picudo negro en condiciones controladas?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

En Ecuador, los cultivos de musáceas representan uno de los productos agrícola más importantes para la economía nacional; consecuentemente, los problemas fitosanitarios como el picudo negro, insecto plaga que causa severos daños en la estructura radical de la planta y merma la productividad de la plantación. El insecto, en su fase más nociva (larval), genera una considerable dificultad para su control, por esta razón, la mejor alternativa es el uso del microorganismo entomopatógeno.

López (2020) destaca que en el país existen un total de 144.981 ha de plátano, de las cuales 86.712 ha están bajo el sistema de monocultivo. La mayor zona de producción abarca las provincias de Manabí, Santo Domingo y Los Ríos, con 52.612; 14.249 y 13.376 ha, respectivamente.

Dada la importancia del cultivo de plátano y para mantener la productividad, es necesario implementar mecanismos que controlen los ataques provocados por insectos plaga. Ubilla (2007) indica que en la actualidad existen muchas herramientas de control biológico, como el uso de hongos entomopatógenos. El hongo *B. bassiana* ha sido usado en plantaciones de plátano logrando controles hasta de 100%, en condiciones óptimas para su desarrollo, con una temperatura de 23 a 25°C y humedad del 92%.

Para Akello et al. (2007), *Beauveria* sp es considerado un patógeno patogénico y eficaz para controlar el picudo negro en plátano; sin embargo, las técnicas actuales de

aplicación en campo son una limitante y es necesario investigar un método alternativo, para el control efectivo de esta plaga.

Según Rojas et al. (2017), el aislado nativo de un hongo entomopatógenos como *Beauveria* sp y *Metarhizium* sp, es colectado a partir de insectos momificados, clasificándolos y multiplicándolos en el laboratorio luego evaluándose la capacidad bio controladora.

De acuerdo a Da Silva et al. (2020), el uso de microorganismos para el control biológico, es equivalente al de bioinsecticidas a base de hongos como *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Estos entomopatógenos son alternativas muy eficaces en el control biológico de plagas y su elevado uso se basa principalmente en su variabilidad genética, existe una gama inmensa de hospederos, fácil producción en escala industrial, formulación y aplicación.

Investigaciones con el hongo *B. bassiana* realizadas por Cabrera (2009), muestran que, para el control del picudo negro y rayado del plátano, existen diferentes razas patogénicas de *B. bassiana*, al encontrar diferencias en la tasa de mortalidad en ambos tipos de picudo; resultando un mayor control para el picudo rayado con porcentajes que varían de 64,3 a 85,4%, y en menor proporción para el picudo negro con 28,7 a 51,7%.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la patogenicidad, de aislados nativos de *Beauveria* sp y la concentración de conidial aplicados sobre *C. sordidus* G bajo condiciones controladas.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la patogenicidad de tres aislados nativos de *Beauveria* sp al aplicarlos sobre insectos adultos de picudo negro.
- Establecer la concentración de conidios más eficaz en la patogenicidad de insectos adultos de picudo negro.



- Calcular de la dosis letal media ( $DL^{50}$ ), de los aislados nativos de *Beauveria* sp para el control de adultos de picudo negro.

## **1.4. HIPÓTESIS**

Los aislados nativos de *Beauveria* sp en una concentración apropiada, tienen un alto grado de patogenicidad sobre insectos adultos de picudo, bajo condiciones controladas.

## **1.5. VARIABLES**

### **1.5.1. VARIABLES INDEPENDIENTES**

Aislados nativos y concentración de conidios de *Beauveria* sp

### **1.5.2. VARIABLES DEPENDIENTES**

Nivel de patogenicidad del hongo en insectos adultos de picudo negro

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. EL PLÁTANO, ORIGEN E IMPORTANCIA ECONÓMICA

El género *Musa* evolucionó en el sureste de Asia a los plátanos comestibles (*Musa* sp) que hoy se conoce; se originaron a partir de dos progenitores salvajes *Musa acuminata* y *M. balbisiana*, produciendo una serie de diploides, triploides y tetraploides a través de hibridación (Hameed, 2008). Estos bananos naturalmente hibridados pueden dividirse en seis grupos de genomas (AA, AAA, AAB, AB, ABB, ABBB) sobre la base de *M. acuminata* y *M. balbisiana* (Simmonds y Shepherd, 1955).

Ormaza (2017), indica que el plátano (*Musa* AAB S) es un cultivo tropical de gran importancia por su valor económico y aporte a la seguridad alimentaria, además es considerado como una importante fuente de empleo e ingresos para quienes los cultivan y producen en numerosos países del mundo. Es un cultivo con mucho valor económico en la mayoría de las regiones latinoamericanas, altamente susceptible al ataque de diversas plagas y enfermedades en la mayor parte del ciclo productivo (Carvajal, 2009).

En Ecuador se producen cerca de seis millones de toneladas de plátano, la mayor parte de las cuales son para exportación. La Unión Europea (59%) es el principal destino, seguido por Estados Unidos (29%) y el restante a otros países (12%). Se estima que hay más de 145.000 ha de plátano cultivadas, de las cuales más de 127.000 ha se encuentran en producción, siendo Manabí la provincia con la mayor área sembrada (50.000 ha) (Silva et al., 2021).

Singh et al. (2011), indican que el plátano y banano ocupan el cuarto lugar en importancia alimentaria a nivel mundial, luego del trigo, arroz y maíz. A nivel comercial y de forma global, estos productos se constituyen como las frutas de mayor exportación en términos de volumen.

## 2.2. PICUDO NEGRO *Cosmopolites sordidus* G

### 2.2.1. TAXONOMÍA

Este insecto es conocido comúnmente como picudo negro, gorgojo negro del plátano, picudo negro del banano, gorgojo del tallo del banano, gorgojo del plátano, barrenillo del banano. Se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera.

Reino:	Animalia
Phylum:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Coleóptera
Familia:	Curculionidae
Género:	<i>Cosmopolites</i>
Especie:	<i>sordidus</i>

Nombre científico: *Cosmopolites sordidus* Germar, (1824) (Coleóptera: Curculionidae)

### 2.2.2. MORFOLOGÍA DEL INSECTO

Ubilla (2007), muestra que tanto los machos como las hembras presentan el mismo aspecto y los mismos hábitos, el picudo adulto es de color negro y mide 10 a 15 mm, tienen la forma típica de la familia de los escarabajos, con un rostro alargado, de ahí el nombre de picudos. Existen unas 100.000 especies de esta familia en la naturaleza; no es extraño que algunas sean plagas. Su ciclo de vida es completado entre 30 y 40 días, el principal daño es causado por la larva, que eclosiona entre el quinto y octavo día, y con sus mandíbulas perfora el corno y realiza galerías.

El dimorfismo sexual en los adultos no es muy evidente, excepto por las siguientes características: las antenas clavadas del macho son un poco más pronunciadas que las de la hembra y el ángulo de la placa pigidial es aguda en las hembras y obtuso en los machos (Vallejo et al., 2007). El insecto tiene un aparato bucal en forma de pico fuerte, en el tórax presenta puntos a manera de gránulos y unas líneas delgadas en la parte dorsal. Los élitros son fuertes con la presencia de estrías longitudinales, además tiene las alas posteriores desarrolladas, aunque rara vez vuela.

### **2.2.3. ESTADÍOS DEL INSECTO Y COMPORTAMIENTO**

De acuerdo a Padilla et al. (2009), después de la copulación las hembras ovipositan individualmente en los cormos y con su pico hacen un hueco en la planta, de forma espaciada. El ritmo de la oviposición es semanal, el huevo es alargado, oval de aproximadamente 2 mm de longitud y de color blanco; su desarrollo no ocurre con temperaturas menores de 12°C, las que, además limitan el movimiento de los adultos. En condiciones tropicales, el tiempo que le toma a un huevo convertirse en un picudo adulto es de 5 a 7 semanas, aunque puede alargarse en varias semanas según la variedad, edad y estado de la planta huésped.

Por otra parte, Bustamante (2002) señala que las larvas empupan en las galerías cerca de la superficie del corno, su estado pupal se desarrolla dentro del corno y dura de 4 a 22 días; posteriormente emerge el adulto y puede permanecer en el interior del corno de 6 a 30 días para luego salir al exterior; el insecto puede vivir como adulto de dos a cuatro años.

Las larvas eclosionan en menos de una semana, entran en el corno y empiezan a hacer galerías, alimentándose del tejido; estas son de color blanco cremoso y miden de 1 a 1,5 cm de longitud; provistas de mandíbulas de color café, grandes y bien desarrolladas. Pasan por varias fases (5 a 8), en las que van mudando y creciendo (Padilla et al., 2009).

Armendáriz et al. (2016), consideran relevante indicar que los adultos poseen una vida extraordinariamente larga para un insecto (hasta 4 años), se alimentan del corno o rizoma y del tallo de las plantas; presentan una actividad nocturna, por lo que difícilmente son vistos de día; momento en el que se refugian en el interior de las plantas y en los desechos de las parcelas. En sustratos húmedos el picudo puede sobrevivir sin alimentarse durante varios meses, cuando lo hace se alimenta especialmente de plantas dañadas y cortadas.

#### **2.2.4. HÁBITOS ALIMENTICIOS**

Según Gold y Messiaen (2000), los rizomas de las musáceas cortados presentan una atracción especial, ya que los insectos adultos son atraídos por las sustancias volátiles emanadas por las plantas hospederas, por lo tanto, es difícil establecer un nuevo cultivo y mantenerlo sano, en campos infestados, ya que los retoños son susceptibles al ataque del insecto plaga.

De acuerdo a Gold et al. (2001), los adultos de picudo viven libremente, pueden permanecer en la misma planta por largos períodos de tiempo, sin embargo, son muy activos en la noche por lo cual se dispersan caminando por el suelo, aunque una pequeña parte de ellos podrá moverse a una distancia mayor, siendo capaces de trasladarse distancias de hasta 60 m en 5 meses. Es muy susceptible a la desecación por lo cual se lo encuentra entre las vainas foliares, en la base de la planta o asociado con los residuos del cultivo, vuelan raramente y la diseminación también ocurre a través del material infestado.

En relación a este tema, Ramírez y Torres (2016), destaca que el picudo es un insecto catalogado como la principal plaga que ataca las musáceas. Este insecto interfiere en muchas actividades de la planta dado su mecanismo de alimentación, ya que impide el desarrollo radicular, limita la absorción de nutrientes, reduce el vigor de las plantas, daña el cormo y otros tejidos vegetativos, retrasa la floración, provoca pudrición de la planta y volcamiento de la misma.

#### **2.2.5. TRAMPAS PARA CAPTURAR PICUDO NEGRO**

Castaño-Parra (1989), indica que existen diversos tipos de trampas para capturar el picudo negro; algunas de estas son las siguientes:

- Semicilíndrica, la cual consta de un trozo de pseudotallo de unos 40 cm de longitud dividido en dos partes longitudinales que se colocan en el suelo, cerca de la planta y con el lado de corte hacia abajo.
- Tipo "sándwich ", consta de dos rodajas o secciones de pseudotallo de unos 15 cm de longitud cada una, colocadas una encima de la otra, previa limpieza del suelo.

- Disco de cepa, a una planta cosechada anclada en el suelo se le hace un corte transversal u oblicuo de 20 a 30 cm del suelo y sobre el corte se coloca una rodaja de pseudotallo de 10 a 15 cm de longitud.
- Disco de cepa modificado, similar a la anterior, pero en lugar del corte transversal u oblicuo, se hacen dos cortes inclinados o en bisel hacia adentro y encima se coloca un trozo de pseudotallo con la misma forma.
- Feromonas de atracción sexual (Cosmolure, nombre comercial), las mismas que se colocan en el campo para atraer los insectos; la recomendación técnica es colocar un número de cuatro trampas por hectárea para capturar ejemplares adultos de picudo.

Las trampas con la feromona Cosmolure, según Alpízar (1999), se elaboran utilizando recipientes plásticos tipo canecas, cortando y abriendo dos ventanas (15 x 15 cm), a ambos lados del recipiente y a una altura de 20 cm desde la base; dentro de la trampa se coloca la feromona colgada desde el techo de la trampa, de modo tal, que pueda cumplir su función de atrayente en el ambiente. la trampa se debe enterrar hasta la base de las ventanas realizadas, dejando subidas con tierra tipo rampas, para que el insecto ingrese y caiga en el fondo de la trampa quedando atrapado.

## **2.2.6. MANIPULACIÓN DE LOS INSECTOS CAPTURADOS**

Según lo indica Mondragón y Contreras (2015), es común utilizar en las prácticas de laboratorio, insectos vivos, los cuales resultan ser de sencilla manipulación y fácil obtención; sin embargo, capturarlos y mantenerlos en buenas condiciones en el laboratorio demanda dedicación y conocimiento.

Hernández (2018) indica que algunas especies trastornan su comportamiento y sus hábitos alimenticios, ocasionando cambios fisiológicos debido al estrés que presentaron al momento de ser capturadas, lo que se conoce como estrés crónico.

Así mismo Cardona (2004), resalta que la manipulación de los insectos debe realizarse con sumo cuidado ya que en los ambientes de cría son susceptibles al ataque de virus y bacterias. Estas infecciones pueden dispararse por las condiciones de estrés a las cuales

están sometidos los insectos o por heridas ocasionadas en el proceso de la manipulación. El alimento es extremadamente importante influyendo directamente sobre el desarrollo, comportamiento y el ciclo de vida de los insectos.

## **2.3. ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana***

### **2.3.1. TAXONOMÍA**

El entomopatógeno *Beauveria* sp es un hongo ascomiceto perteneciente al orden de los Hypocreales que crece de forma natural en los suelos de los cultivos:

Reino: Fungi

Filum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Cordyceps

Género: *Beauveria*

Especie: *bassiana*

Nombre científico: *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin, (1912) (Hypocreales: Cordyceps).

### **2.3.2. MORFOLOGÍA DEL HONGO**

De acuerdo a Rehner et al. (2011), el género *Beauveria* sp bajo el microscopio se observan células conidiógenas globosas con forma de botella formadas por una única célula; conidios terminales holoblásticos los que son producidos en una sucesión simpodial sobre un raquis denticulado indeterminado; además, los conidios, son hialinos, de pared lisa 1,5 a 5,5 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de diámetro y globosos a cilíndricos o vermiformes. Fuera del microscopio, se presenta a manera de una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo de los artrópodos muertos y sobre medios de cultivo axénico, esta estructura esponjosa está formada por el micelio y conidios.

Según Echeverría (2006) *Beauveria* sp, es un organismo eucariótico heterótrofo que se compone de células quitinizadas, las cuales permiten ejercer por medio de mecanismos físicos y químicos, la infección de un gran número de insectos, a los 15 días de desarrollo

forma un micelio de aspecto algodonoso de color blanco; a medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillento. El revés es de color rojizo al centro y amarillento en la periferia, además identifican a la enfermedad como “muscardina blanca” debido a que los insectos presentan una morfología característica algodonosa en su cuerpo.

### **2.3.3. COMPORTAMIENTO DE *Beauveria bassiana* EN LABORATORIO**

Cañedo y Ames (2004), resaltan que el medio de cultivo permite el desarrollo de microorganismos; este medio debe contener los nutrientes suficientes (carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, etc.), para asegurar el desarrollo y reproducción de los hongos. Para facilitar el crecimiento del hongo el pH debe ser ligeramente ácido (6 a 6,3), pudiendo utilizar ácido láctico al 25%; además se puede añadir antibióticos para inhibir el crecimiento de bacterias saprofitas que suelen contaminar las muestras.

Los mismos autores indican que la colonia crece en medio de cultivo patata-dextrosa-agar (PDA); apreciándose algodonosa, polvorienta y de color blanco a los 14 días; medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillenta y cremosa. Posee conidióforos de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diámetro, con células conidiógenas y forman grupos compactos solitarios de 3 a 6  $\mu\text{m}$ . En ciertos casos, los conidióforos se ramifican y forma un raquis de 20  $\mu\text{m}$  de longitud y 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, denticulado, que sostiene un conidio en cada dentículo. Los conidios son hialinos, globosos a sub globosos, de 2 a 3  $\mu\text{m}$ .

Para contabilizar los conidios del hongo Cañedo y Ames (2004), utilizan un hematocitómetro o cámara de Neubauer, este equipo es utilizado para el conteo de esporas y consiste en una placa de vidrio que tiene dos cámaras de 0,1 mm de profundidad; cada cámara está dividida en nueve cuadrados de 1 mm<sup>2</sup> (total 9 mm<sup>2</sup>).

### **2.3.4. ACCIÓN ENTOMOPATOGÉNICA**

Según Jara (2009), la acción entomopatogénica del hongo comprende dos fases: una patogénica y otra saprofitica; la fase patogénica o infectiva ocurre cuando los conidios entran en contacto con el tejido vivo del hospedero y en condiciones de humedad adecuada (85%) germinan y penetran a través de la cutícula del insecto o por los apéndices bucales y se desarrolla el micelio en el cuerpo del insecto. La cutícula del



insecto está constituida por proteína, quitina y lípidos, sustancias orgánicas muy resistentes, que son desnaturalizadas por las enzimas producidas por el hongo.

El hongo se desarrolla en el punto de infección, produce toxinas que se difunden en el celoma, a través de la hemolinfa y causa la mortalidad del insecto (Grandes, 2010). El mismo autor indica que después del deceso de los insectos, se inicia la fase saprofitica, dónde el hongo se desarrolla profusamente sobre el cadáver, en condiciones de humedad apropiadas, produciéndose gran cantidad de conidios, que son los propágulos para iniciar una nueva infección.

Por su parte Cañedo y Ames (2004), indican que el uso de enemigos naturales, como los hongos entomopatógenos, reduce el riesgo de causar efectos negativos en el ambiente o en las personas; sin embargo, hay aún mucho trabajo por hacer para tener bioplaguicidas eficaces basados en hongos, ya que se precisa de una serie de pasos como son; la colección, aislamiento, caracterización y multiplicación de estos microorganismos.

Chiriboga et al. (2015), indican que *B. bassiana*, ataca a más de 60 especies de insectos en todo el mundo; en Colombia se ha descubierto hasta el momento en 30 huéspedes, fundamentalmente en lepidópteros y coleópteros. Su importancia es elevada en agroecosistemas que muestran una gran variedad de estas familias de insectos, en plantaciones el hongo ha sido descubierto en nueve huéspedes de diferentes géneros de insectos, así como en el barrenillo de las ramas del café *Xylosandrus morigerus* Blandford y distintas especies de hormigas.

Resaltando los resultados de Castellanos (1997), revela que la patogenicidad del hongo sobre los insectos depende de una compleja relación entre su habilidad para penetrar la cutícula y la fortaleza del sistema inmunológico del insecto para prevenir el desarrollo del hongo. Esta relación se debe a factores muy concretos incluidos las diferencias cuticulares, la penetración cuticular y las reacciones inmunes; dónde el desarrollo del hongo sobre el insecto puede ser influenciado por la eficacia de los hemocitos en encapsular y melanizar el patógeno.

Dentro de este marco Zúñiga y Soto (2018), destacan que *B. bassiana* al igual que otros hongos entomopatógenos, antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como la pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis. Con la muerte del insecto, el beneficio se incrementa pues la esporulación y posterior dispersión del hongo, permite un control más allá de la aplicación.

## **2.4. MECANISMOS DE CONTROL DEL PICUDO NEGRO**

### **2.4.1. CONTROL QUÍMICO**

Vergara (2015), resalta que el control que se realiza en las plantaciones bananeras comerciales es principalmente químico, utilizando nematicidas con actividad biocida e insecticidas específicos aplicados en la base de la planta, estos plaguicidas generalmente son de acción rápida.

Según Gold y Messiaen (2000), indican que anteriormente se utilizaban insecticidas ciclodiénicos, pero fueron abandonados debido al desarrollo de resistencia y a las implicaciones ambientales. Así mismo se encuentran disponibles organofosforados menos persistentes, pero son más costosos y tóxicos para los aplicadores, por lo tanto, menos adecuados para los sistemas de producción a pequeña escala; por otra parte, el picudo negro ha mostrado tener la habilidad de desarrollar resistencia a la mayoría de los agroquímicos.

La aplicación de agricultura limpia, en especial para el control químico del picudo negro, los nematicidas químicos son los más utilizados, ya que tienen un doble efecto o acción al controlar los nematodos e insectos; entre los más utilizados están los organofosforados terbufós, cadusafós, etoprofós y fenamifós y los carbamatos carbaryl, oxamil y carbofurán (Moya et al., 2011).

Según Carvajal (2009), el uso terbufos señala que es un plaguicida del grupo de los organofosforados, que reduce las poblaciones de los picudos en trampas por debajo del nivel crítico, sin embargo, el uso de un mismo ingrediente activo por un largo tiempo,

produce una característica importante en el insecto, que es su gran capacidad para desarrollar resistencia a los insecticidas incrementando los costos del control.

Hussaini (2014), señala que las restricciones en el uso de insecticidas químicos han limitado la disponibilidad de medidas de control contra las plagas de insectos transmitidas en el suelo. Sin embargo, un manejo integrado de plagas (MIP) implica, métodos de control para reducir el impacto ambiental y los peligros del uso de los productos químicos. El control biológico puede ser una alternativa más económica en lugar de algunos insecticidas, pero su control suele ser muy específico.

#### **2.4.2. RELACIÓN DOSIS RESPUESTA**

Para Báez et al. (2004), un aspecto importante de la toxicología, es conocer la concentración de un compuesto químico aplicado a un organismo vivo midiendo el efecto nocivo provocado; a este fenómeno se le llama dosis respuesta; la cual puede medir los efectos colaterales generados al ambiente por los productos químicos.

De acuerdo a Peraza y Delgado (2012), los bioensayos ecotoxicológicos en el laboratorio son una herramienta esencial, ya que con un determinado organismo y el uso de testigos se puede predecir el efecto de las sustancias químicas tóxicas. Los riesgos ecológicos por lo general son juzgados basándose en el efecto sobre los organismos, las poblaciones o la comunidad, utilizando respuestas como la dosis letal media ( $DL^{50}$ ), calculados a partir de bioensayos ecotoxicológicos.

Considerando la referencia de Castillo (2004), quien indica que, para determinar la toxicidad de un producto sobre un organismo, se debe conocer su biología, fisiología y ecología; el indicador más comúnmente utilizado es la muerte de la entidad de prueba. Las pruebas de toxicidad permiten conocer la estimación de la concentración letal que produce una respuesta tóxica al 50% de la población evaluada.

El referido autor indica que el método de análisis Probit para calcular la  $DL^{50}$ , permite estimar la mortalidad de unos organismos evaluados mediante la técnica de probabilidad de los valores, los que siguen la distribución logarítmica de tolerancia; el porcentaje de organismos vivos por la utilización tóxica de una sustancia los que se transforman en

valores Probit. Sin embargo, de acuerdo a Tyler y Gurian (1950), para que este método pueda ser utilizado, los cálculos deben encontrarse en un rango entre el 4,917 y 5,095; los valores que se alejen de ese rango inutilizan el método Probit.

Según Ramírez et al. (2017), se puede utilizar el método aritmético para determinar la  $DL^{50}$ , y consiste en proyectar con un gráfico de dispersión en función de X, con los valores de mortalidad obtenidos, luego de la aplicación de un agente que cause la muerte de un organismo determinado, estos se reemplazan en la fórmula  $(y - b * m^{-1})$ , y se interpretan los resultados encontrados.

Por su parte Ocampo (2010), pudo determinar la  $CL^{50}$  de *B. bassiana* más efectiva para controlar larvas en tercer estadio y adultos de *Epilachna varivestis*. Para el primer caso, se utilizó un rango de cinco concentraciones para cada aislamiento ( $10^5$  a  $10^9$  conidios  $mL^{-1}$ ). La mortalidad se evaluó cada 24 horas durante 10 días después de la inoculación (DDI). Tres de los cuatro aislamientos redujeron significativamente la sobrevivencia en un rango de 25 al 41%, de los adultos de *E. varivestis* comparado con la cepa comercial GHA (77%) y el testigo (71%) a los 10 DDI.

Aliaga y Cruz (2009), utilizaron el método Probit para determinar la  $DL^{50}$ , es decir, calcularon el tiempo necesario para matar el 50% de la población larval de *Spodoptera frugiperda* y ninfas de *Aphis craccivora* con el hongo *B. bassiana*; los resultados obtenidos fueron para *S. frugiperda* en estadio I, el valor del  $CL^{50}$  fue de  $1,90 \times 10^{24}$  conidios  $g^{-1}$  y el valor del  $CL^{90}$  fue de  $2,30 \times 10^{31}$  conidios  $g^{-1}$ , para estadio II, el valor del  $CL^{50}$  fue de  $7,90 \times 10^{24}$  conidios  $g^{-1}$  y el valor del  $CL^{90}$  fue de  $9,10 \times 10^{31}$  conidios  $g^{-1}$ . Para el estadio III y para las ninfas de *Aphis craccivora* no se encontró efecto alguno con la cepa estudiada.

### **2.4.3. CONTROL BIOLÓGICO**

Según Zapata (2016), se conocen varios métodos para el control de este insecto, entre ellos el control etológico con feromonas y el control biológico mediante el uso de hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana*, estos microorganismos, pueden convertirse en herramienta importantes para el manejo integrado del picudo negro en el cultivo del plátano.

El hongo entomopatógeno *B. bassiana* ha sido recuperado del cuerpo de muchos insectos del orden coleóptera, lepidóptera y hemíptera, siendo posible que ataque y afecte a todos los artrópodos, debido a la producción una toxina llamada beauvericina (Bermúdez, 2006). El hongo parasita al insecto en cuatro etapas, adhesión, germinación y penetración, multiplicación y esporulación.

Dentro del mismo contexto Armendáriz et al. (2016), resaltan que son muchos los microorganismos (hongos, virus, bacterias, protozoarios, nemátodos y micoplasma) que actúan independientemente o asociados sobre el complejo de insectos plaga. Por su parte Zúñiga y Soto (2018), aclara que el uso de los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, y *M. anisopliae*, aparecen como importantes alternativas para combatir otro grupo de especies de insectos dañinos, entre los que destacan el picudo negro del plátano.

Da Silva et al. (2020) evidenciaron a *B. bassiana* + *M. anisopliae*, ocasionando el 73% de mortalidad en *B. tabaci* G, en el envés de las hojas de lechuga. Así mismo, *B. bassiana* obtuvo el 84% de mortalidad para *Brevicoryne brassicae* L en el haz de las hojas de col a los 23 DDI. Por otra parte, evaluando la mortalidad del insecto plaga, en dónde, en el envés de las hojas de col, *B. bassiana* + *M. anisopliae*, mostraron 79% en solo seis DDI y *M. anisopliae* 88% en 23 DDI.

Ramírez y Torrez (2016), evaluaron agentes biológicos para controlar poblaciones de picudo negro; en sus resultados indicaron que las medias poblacionales después de la segunda aplicación mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.05$ ), entre los tratamientos; teniendo un mejor control en la disminución poblacional de picudo negro. El tratamiento de *B. bassiana*, la combinación de *B. bassiana* + *M. anisopliae* y *M. anisopliae* por separado mostraron un control similar de igual manera mostraron diferencias respecto a *Beauveria bassiana* y al testigo.

Así mismo Jara (2009), demostró que al evaluar el efecto de dos cepas de *B. bassiana* para el control del picudo negro y picudo rayado en plátano utilizando dos niveles de aplicación, los mejores resultados fueron obtenidos del trampeo combinado a los 15 y 30

DDI, con las cepas Marona y Cadena, con 44,1 y 38,6% respectivamente para picudo rayado y 37,0 y 33,1% para picudo negro. Además, se obtuvo reducción de daño por larvas de este último, mediante trapeo con la cepa Marona, donde los demás tratamientos mantuvieron un nivel bajo con respecto al testigo.

Mencionando los resultados de Armendáriz (2016) quien, en investigación realizada en un cultivo de plátano, comprobó que la patogenicidad de *B. bassiana* fue mayor sobre el picudo rayado que en el negro; por este motivo, propuso el aislamiento de poblaciones locales que muestren mayor infectividad sobre picudo negro.

#### **2.4.4. EFICACIA DE CONTROL DE *Beauveria* sp**

Athanassiou et al. (2017), resaltan que para que los entomopatógenos sean eficaces en el control, es necesario que estén en condiciones de temperatura y humedad relativa adecuadas. Por su parte Bich et al. (2018), indican que la estrategia de control biológico utilizando hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *M. anisopliae*, sólo pueden ser útiles si se utilizan métodos prácticos y económicos de multiplicación en masa y que estén disponibles en el medio.

Garrido et al. (2017), evaluaron tres aislados de *Beauveria bassiana* y dos cepas de *Metarhizium brunneum*, para determinar su patogenicidad contra ninfas en el cuarto estadio de *B. tabaci*; realizando inmersión de hojas de melón en suspensiones con concentraciones que van desde  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . Como resultado de esas aplicaciones se obtuvo la  $DL^{50}$  que oscilaba entre  $3,4 \times 10^4$  y  $2,2 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . La mortalidad total de las ninfas osciló entre 83,9 y 100,0% y entre 66,3 y 87,9%, respectivamente.

Teniendo en cuenta todos estos aspectos, Malpartida et al. (2013), probaron una cepa comercial de *B. bassiana*, en el control de larvas de *Dione juno* C, evaluando su patogenicidad, sintomatología, efecto en la alimentación y caracterización morfológica, además de determinar la  $DL^{50}$ . Estableciendo de esta manera si constituye o no, una alternativa eficaz de control biológico; los resultados demuestran la efectividad del hongo *B. bassiana*, sobre larvas de lepidópteros y señalan a la concentración de  $10^8$  conidios

mL<sup>-1</sup>, como la de mayor efectividad para obtener resultados certeros en la lucha biológica de plagas.

Por su parte, Suarez y Suarez (2020), indican que algunas cepas de *B. bassiana* en condiciones de laboratorio pueden causar mortalidades superiores al 60%; sin embargo, González et al. (2017), refieren que, a mayor concentración, mayor efecto del hongo, lo que origina en consecuencia mayor mortalidad. Con respecto a las demás concentraciones, también se aprecia un marcado efecto del hongo, lo que ocasiona una caída de alimentación que llega al cuarto día hasta el 60 y 80% en los tratamientos T1 y T2 respectivamente.

Carballo (2001), demostró que la formulación de *B. bassiana* en arroz, tuvo un mayor efecto sobre la mortalidad del picudo negro (62,4%), que aquella formulada en emulsión (44,6%). Sin embargo, el mismo autor indica que no se encontró efecto significativo en la reducción de la población, ni la disminución del daño causado por el picudo negro. Otros trabajos realizados por el mismo autor, reporta un control de 85% de picudo negro, al aplicar *B. bassiana*, formulado en aceite con agua.

Por su parte Castillo et al. (2012), indican que en el caso de *B. bassiana*, luego de la germinación de los conidios en la cutícula del insecto, los tubos germinativos penetran el integumento por acción mecánica y efectos enzimáticos, pasando a la hemolinfa dónde ataca los tejidos. La duración de las diferentes fases del ciclo del hongo depende de la especie y de las condiciones ambientales presentes durante la infección. En condiciones favorables para el entomopatógeno se desarrolla micelio, conidióforos y conidios sobre la cutícula del insecto, proporcionando otra fuente de inóculo para afectar otros individuos.

#### **2.4.5. CEPAS COMERCIALES DE *Beauveria* sp**

Buenrostro (2012), indica que evaluó la patogenicidad de cuatro tratamientos del hongo *B. bassiana*, dos cepas comerciales y dos aislamientos de insectos infectados colectados en el estado de Nuevo León, para determinar su actividad insecticida contra las cucarachas. Los tratamientos se aplicaron como conidios aéreos, producidos por

fermentación sólida, o conidios en sumersión + blastosporas y sobrenadante filtrado, producidos por fermentación líquida estos productos de fermentación fueron evaluados como tres experimentos por separado.

Para obtener la concentración óptima de *B. bassiana* y la duración de la exposición para obtener una colonización efectiva de plantas de banano, se debe sumergir las plantas en una concentración de  $10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  durante dos horas (Akello et al., 2009). Así mismo, la colonización endofítica *B. bassiana* en plantas de banano cultivadas en tejido, no tuvo un impacto negativo en el crecimiento de las plantas, incluso cuando las plantas se inocularon en la concentración más alta.

Por su parte, Dávila (2020), aplicando *B. bassiana* bajo dos formulaciones; una líquida, con el mayor porcentaje de mortalidad de picudo negro (44%), y con la formulación sólida se obtuvo el mayor porcentaje, pero en picudo rayado (88%); el tiempo letal medio ( $\text{TL}^{50}$ ), usando la formulación sólida fue de 11 DDI. Para las evaluaciones de picudo negro en campo se encontraron diferencias entre los tratamientos únicamente al segundo día de captura, destacando la formulación líquida (27,54%).

De acuerdo a Rivas (2020), al valorar una cepa comercial de *B. bassiana*, indica que a el tercer día de evaluación pudo observar el avance parasitario del hongo en los 3 tratamientos inoculados; así mismo a las 72 horas de la inoculación pudo observar con mayor claridad micelios y esporas de *B. bassiana*, en el tratamiento T1 observó 75% del parasitismo y 25% de movilidad de los individuos; en el tratamiento T2 pudo ver el 85% del proceso de parasitismo y 15% de movilidad de los individuos y en el Tratamiento T3 observó a los individuos llenos de micelios y esporas 95% de parasitismo y 5% de movilidad en los insectos.

#### **2.4.6. USO DE AISLADOS NATIVOS DEL HONGO *B. bassiana***

Jara (2009), realizó una recolección e identificación de entomopatógenos relacionados con la muerte de picudo negro, para evaluar y obtener los mejores entomopatógenos de la zona y determinar su acción entomopatógena en los cuatro estadíos de desarrollo del insecto, evaluando dos cepas de *B. bassiana*; encontrándose que la cepa Cadena 1 en larvas, presentó 50% de esporulación, en comparación a la cepa Marona.



La cepa Cadena 1 obtuvo el más alto porcentaje de control (87%), seguido de la cepa Marona (78%) (Jara, 2009). Estos valores altos de control se encuentran en relación directa con la tasa de mortalidad que ocasiona cada una de estas cepas, lo que permite deducir que dentro del control biológico haciendo uso de *B. bassiana*, los más altos porcentajes alcanzado por las cepas se encuentran relacionados con las mayores tasas de infección del entomopatógeno.

Malpartida et al. (2013), indican que evaluaron cepas de *B. bassiana*; proporcionada por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú, a partir de su producción comercial, las cuales utilizan arroz como sustrato de crecimiento. Los resultados demostraron la efectividad del hongo *B. bassiana*, sobre larvas de lepidópteros y señalan a la concentración de  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ , como la de mayor efectividad para obtener resultados certeros en la lucha biológica de plagas.

González et al. (2017), evaluaron una cepa de *B. bassiana*, sobre el gusano barrenador del loche *Diaphania hyalinata* L. esta cepa fue aislada, seleccionada en el laboratorio y propagada en sustrato de arroz. Los resultados demostraron que entre los tratamientos hay diferencias estadísticas, incluyendo el testigo el cual no registró ninguna mortalidad durante el ensayo; la mortalidad en los tres tratamientos fue directamente proporcional a la concentración de conidios, llegando al 68% el más efectivo.

La mortalidad causada por varios aislados de *B. bassiana* fue significativamente diferente, uno de estos no fue patógeno para picudo negro en la concentración probada, y solo dos cepas de *B. bassiana* obtenidas del suelo causaron mortalidades cercanas al 70% a los 16 DDI, por el contrario, las muertes causadas por dos aislamientos obtenidos de insectos fueron  $> 80\%$  (López et al., 2013). La mortalidad en el control fue inferior al 6,5% y ninguno de los adultos muertos mostró incidencia del hongo.

Según Rodríguez et al. (2017), al evaluar la producción de conidios de dos cepas nativas de *B. bassiana* y una de colección de cultivos bifásico utilizando arroz, avena, cebada, maíz, sorgo y trigo como sustratos. La producción de conidios entre los sustratos utilizados se presentó en un rango de  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  y no se encontraron diferencias estadísticas. La mayor producción se obtuvo con la avena la cual fue de  $5 \times 10^8$  conidios

mL<sup>-1</sup>; la menor producción de  $1,72 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup> la presentó la cebada. Con arroz se produjo  $3,15 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>; con sorgo y maíz  $2,68 \times 10^8$  y con trigo  $2,38 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>.

Por otra parte, Pari et al. (2015), evaluó la concentración de conidios de *Beauveria brongniartii*; para determinar la forma de aplicación y el control de *Premnotrypes* spp. en el cultivo de papa; utilizando cepas nativas procedentes de la región Puno (Perú), las cuales se compararon en concentración de conidios. En los resultados sobresalió con una concentración de  $2,8 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup> en 28,71 DDI, superior a quinua  $2,6 \times 10^7$  conidios mL<sup>-1</sup> en 28,64 DDI y arroz  $3,1 \times 10^7$  conidios mL<sup>-1</sup> en 27,28 DDI; así mismo utilizó cebada a una concentración de  $2,3 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>; las parcelas en que se aplicó el hongo mostraron mayor número de tubérculos sanos.

Ocampo (2010), evaluó la actividad de cuatro aislamientos nativos del hongo *B. bassiana* y el producto comercial Mycotrol ®, sobre adultos de *E. varivestis* M (Coleoptera: Coccinellidae), una de las plagas de mayor importancia económica del cultivo del frijol en México. Los aislamientos nativos se obtuvieron de diferentes especies de insectos colectados en cultivos de maíz en el Estado de Guanajuato. Los insectos se expusieron mediante inmersión a una sola concentración de cada aislamiento ( $10^8$  conidios viables/mL) incluyendo a la cepa comercial.

Según Vargas (2020), al aplicar varias cepas de *B. bassiana* sobre insectos adultos de *Metamasius hemipterus*; a una concentración de  $10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>; determinó que la cepa INTA-H-25 eliminó el 90% de la población antes de los cinco DDI y las cepas INTA-H-26, INTA H-31 e INTA-H-50 eliminaron el 50% de la población de picudos antes de los cinco DDI, superando al resto de los tratamientos. En el parasitismo se observó, que la cepa INTA-H-50 fue la que produjo más micelio sobre el insecto y la cepa INTA-H-31 la mayor cantidad de conidios; siendo estas características importantes para la diseminación del hongo e infección del insecto.

## **CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO**

### **3.1. UBICACIÓN**

El experimento se realizó en la ciudadela Municipal de la ciudad Calceta del cantón Bolívar; posicionado en las coordenadas geográficas: Latitud Sur: 0° 50'48" y 80°10'40" Longitud Oeste y a una Altitud de 24 msnm.

### **3.2. DURACIÓN**

La investigación tuvo una duración de nueve meses, de junio del 2021 a febrero del 2022.

### **3.3. FASE PREVIA: OBTENCIÓN DE *Beauveria sp* y *Cosmopolites sordidus***

#### **3.3.1. CAPTURA, RECOLECCIÓN Y ACOPIO DE LOS INSECTOS**

Esta actividad se la realizó en dos cultivos de plátano, ambos ubicados en el sitio El Limón del cantón Bolívar; una plantación localizado en la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM MFL y la otra plantación localizada en el sitio La Pastora, en la vía hacia la parroquia La Estancilla; en cada plantación se colocaron varias trampas previamente elaboradas que contenían feromonas de atracción sexual (Cosmolure), para la captura de los insectos picudo negro; estos, se colectaron de forma periódica, hasta completar la cantidad de insectos vivos necesarios para la ejecución del experimento (anexos 1).

Los insectos capturados en los cultivos de plátano, se llevaron al laboratorio (ciudadela Municipal), y se colocaron en un recipiente (tina 20 L) con trozos de pseudotallo de plátano para mantenerlos vivos, hasta completar la cantidad requerida (200 individuos), para cada repetición establecida en el experimento.

- **Equipos**, Computador portátil, cámara fotográfica, termómetro multifunción, cámara de flujo laminar, microscopio, autoclave, estufa, balanza, agitador magnético, lámpara de alcohol, horno de microondas, nevera, cámara de Neubauer y vehículo para movilización.

- **Insumos**, Hormona Cosmolure, corno de plátano (en trozos), PDA (marca Tm Media), alcohol (70%), agua destilada, Tween 80 (0,1%), cloro (5%) marca Ajax, software Infinite Analice, para observar el enfoque del microscopio, software Android para conteo de esporas, software Android (Neubauer) para determinar la concentración del inóculo.
- **Materiales**, Canecas plásticas vacías (para elaborar las trampas), pala, machete, tina plástica (para reservar los insectos capturados), recipientes plásticos (200 mL), atomizadores (30 mL), casilleros, placas de Petri, matraces, frasco de vidrio, tubos de ensayo, probetas, pipetas, micropipetas con puntas, porta objetos, cubre objetos, asa de platino, asa de Digralsky, lupa entomológica, plástico film, papel aluminio, cinta masking y tijeras.

### **3.3.2. MULTIPLICACIÓN DE AISLADOS DE *Beauveria* sp**

Los aislados del hongo *Beauveria* sp se cultivaron y desarrollaron en el laboratorio de Biología Molecular de la ESPAM MFL, se sembraron dentro de la cámara de flujo laminar en placas de Petri conteniendo medio de cultivo PDA, e incubaron a temperatura ambiente dentro de gabinetes, con lo cual, luego de los 21 DDI empezaron a esporular, mostrando la característica blanca algodonosa, típica de este hongo; todos los materiales utilizados se esterilizaron en la autoclave (anexos 1).

Los hongos evaluados en esta investigación, fueron obtenidos a partir de aislamiento directo de adultos de picudo negro, con incidencia del hongo *Beauveria* sp en plantaciones de musáceas en el cantón Joya de los Sachas de la provincia de Orellana en la amazonia ecuatoriana.

### **3.3.3. CONTEO DE CONIDIOS DE LOS AISLADOS DE *Beauveria* sp**

Para el conteo se dispuso un hematocitómetro (cámara de Neubauer). En este equipo, se utilizó el cuadrado del centro de la cámara, el cual está subdividido en 25 cuadros más pequeños (5x5), con una superficie de 0,04 mm<sup>2</sup> cada uno; se aplicó la solución de los conidios y se eligió cinco de estos cuadrados, estandarizando los escogidos para realizar el conteo bajo el microscopio (anexos 1).

### 3.3.4. PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE *Beauveria* sp

Utilizando el protocolo de Cañedo y Ames (2004), se determinó la concentración de los conidios de cada aislado cultivado en placas de Petri; el conteo se lo realizó en la cámara de flujo laminar, seleccionando las placas que presente el mejor desarrollo del micelio, siguiendo el siguiente procedimiento (anexos 1).

#### Fórmula 1 (conteo de conidios)

$$\frac{N O}{N mC} \times \frac{25 mC}{1 C} \times \frac{1 C}{V (1 mm^3)} \times \frac{1000 mm^3}{1 cm^3} \times \frac{1 cm^3}{1 mL} \times FD$$

#### Dónde:

<b>N O</b>	= número de conidias observadas
<b>N mC</b>	= número de minicua-dros observados
<b>mC</b>	= minicua-dro (0,2 mm × 0,2 mm)
<b>C</b>	= cua-dro (1 mm × 1 mm)
<b>V</b>	= Volumen del cua-dro (largo, ancho y profundo)
<b>FD</b>	= Factor de dilución

De acuerdo a Cañedo y Ames (2004), se inicia agregando agua destilada con Tween 80 (0,01%) en la placa de Petri, y con la utilización del asa de Digrafsky se removi6 las partes reproductiva del hongo frotando el líquido sobre el aislado, se recuper6 el sobrenadante y fue vertido en un matraz Erlenmeyer (suspensión madre), se tom6 una alícuota (10 µL), para colocarla en el hematocit6metro (cámara de Neubauer), y realizar el conteo en el microscopio; se determin6 el número de conidios observados en las cuadrículas y el resultado se ingres6 en un software Android (Neubauer), determinando así el número de esporas de la suspensión madre (anexos 1).

Respecto a lo indicado por Coto (2013), para cada solución madre obtenida, se establecieron las concentraciones de conidios señaladas para este experimento 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup> y 10<sup>8</sup> conidios mL<sup>-1</sup>; haciendo uso de diluciones seriadas; (1/10), (1/100), (1/1.000) y (1/10.000); en los tres casos se complet6 el volumen (7 mL) para cada atomizador, con agua destilada preparada con Tween 80 (0,1%) (anexos 1).

### 3.4. FASE EXPERIMENTAL:

La fase experimental, es la etapa en dónde se ejecutó el ensayo ubicando los tratamientos en los dos ambientes controlados; campo (1), y laboratorio (2), y ubicados en la ciudadela Municipal; en esta fase se realizó todo el proceso experimental, la instalación, evaluación y monitoreo del ensayo.

#### 3.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en un diseño completamente al azar (DCA) de 10 tratamientos con tres repeticiones en dos ambientes. Los datos se analizaron mediante el análisis no paramétrico Kruskal-Wallis a un nivel de significación del 5%; se utilizó programa estadístico Infostat.

#### 3.4.2. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental la constituyó un recipiente plástico (tarrina de 200 mL), en la que se colocaron 10 insectos adultos de picudo negro. El experimento se estableció con 10 tratamientos, los mismos que se evaluaron en 3 repeticiones y en 2 ambientes distintos [campo (1) y laboratorio (2)]. En consecuencia, el experimento estuvo conformado por 60 unidades experimentales, conteniendo un total de 600 insectos picudos negros adultos.

#### 3.4.3. FACTORES EN ESTUDIO

En la tabla 1 se presentan los factores y niveles en estudio para esta investigación:

**Tabla 1** Factores y niveles en estudio.

Factores en estudio	Niveles		
	1	2	3
A) Aislados del hongo <i>Beauveria</i> sp	A1 = Aislado 1	A2= Aislado 2	A3= Aislado 3
D) Dosis de conidios mL <sup>-1</sup>	D1 = 10 <sup>4</sup>	D2 = 10 <sup>6</sup>	D3 = 10 <sup>8</sup>

### 3.4.4. TRATAMIENTOS

La combinación de los factores y niveles en estudio más el testigo absoluto dieron como resultado diez tratamientos (Tabla 2).

**Tabla 2** *Identificación y codificación de los tratamientos en estudio.*

Tratamientos	Descripción	
	(A) Factor Aislados	(D) Factor Dosis
T1 = (Testigo)	Testigo absoluto (sin entomopatógeno)	
T2 = (A1D1)	A1 = Aislado 1	D1= 10 <sup>4</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T3= (A1D2)	A1 = Aislado 1	D2= 10 <sup>6</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T4= (A1D3)	A1 = Aislado 1	D3= 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T5= (A2D1)	A2 = Aislado 2	D1= 10 <sup>4</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T6= (A2D2)	A2 = Aislado 2	D2= 10 <sup>6</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T7= (A2D3)	A2 = Aislado 2	D3= 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T8= (A3D1)	A3 = Aislado 3	D1= 10 <sup>4</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T9= (A3D2)	A3 = Aislado 3	D2= 10 <sup>6</sup> conidios mL <sup>-1</sup>
T10= (A3D3)	A3 = Aislado 3	D3= 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>

### 3.4.5. INSTALACIÓN DEL ENSAYO

Los insectos capturados en campo fueron lavados con agua destilada, contados y colocados en cada unidad experimental (10 individuos); adicional se colocaron pedazos de corno de plátano para alimentar los picudos. Las unidades experimentales fueron rotuladas con el código respectivo y se aplicaron los tratamientos del hongo entomopatógeno en las concentraciones establecidas (anexos 2).

### 3.4.6. INOCULACIÓN A LOS INSECTOS CON EL ENTOMOPATÓGENO

Se aplicó el inoculante en cada tratamiento con atomizadores (30 mL), cada atomizador fue desinfectado, escurrido, codificado y llenado con 7 mL del aislado preparado en su

concentración respectiva, según el tratamiento. Posteriormente se aplicó en forma de aspersión el inóculo, empleando 1 mL (10 asperjadas del atomizador) de la solución, dentro de las unidades experimentales que contenían los insectos (anexos 2).

### 3.5. VARIABLES REGISTRADAS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN

#### 3.5.1. MANEJO DE DATOS OBTENIDOS

Para interpretar y transformar los resultados, se implementó la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), con la cual se pudo expresar los resultados de las observaciones en valores porcentuales; se registraron las observaciones obtenidas en los registros de campo y posteriormente se aplicó la fórmula.

**Fórmula 2** (transformar observaciones numéricas a porcentuales)

$$\% I = \left( \frac{\sum (n * a)}{N * A} \right) \times 100$$

**Dónde:**

- I%* = *porcentaje de incidencia*
- n* = *número de insectos por categoría*
- a* = *calificación de la categoría observada*
- N* = *número total de insecto en unidad experimental*
- A* = *nivel máximo de las categorías observadas*

#### 3.5.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA

Para determinar la dosis más eficaz aplicada, se implementó la fórmula de Abbott (1925), en la cual se requiere transformar los porcentajes de mortalidad (PM) a porcentajes de sobrevivencia (PS), las fórmulas son las siguientes.



**Fórmula 3** (determinar la sobrevivencia porcentual)

$$PS = (100 - PM)$$

**Dónde:**

PS = *porcentaje de sobrevivencia*

PM = *porcentaje de mortalidad*

**Fórmula 4** (determinar eficacia)

$$E \% = \left( \frac{X - Y}{X} \right) \times 100$$

**Dónde:**

E% = *porcentaje de eficacia*

X = *porcentaje de sobrevivencia del testigo*

Y = *porcentaje de sobrevivencia del tratamiento*

**3.5.3. MOVILIDAD DE LOS INSECTOS INOCULADOS (MII)**

Para analizar esta variable, se realizó el monitoreo diario de los insectos en las unidades experimentales durante doce días después de la inoculación (DDI). El análisis estadístico se lo realizó evaluando el porcentaje de insectos sin movilidad (PISM), y el porcentaje de insectos con movilidad (PICM) (Tabla 3).

**Tabla 3** *Categorías para calificar el estado de los insectos con incidencia del hongo.*

Categoría	Calificación
0	Insectos sin síntoma
1	Insectos con poca vitalidad
2	Insectos con movimiento errático
3	Insectos con poco movimiento
4	Insectos aislados del grupo y cuerpo opaco

### 3.5.4. INSECTOS CON MICELIO DEL HONGO (IMH)

De igual manera para esta variable, se realizó el monitoreo diario de los insectos en las unidades experimentales durante doce DDI. En este caso se anotaron en la hoja de registro de campo, el número de insectos que presentaron insectos con micelio (estructura algodonosa blanca o amarillento), presente en alguna parte del cuerpo del insecto; el análisis estadístico se lo realizó evaluando el porcentaje de insectos con micelio (PIMH) (Tabla 4).

**Tabla 4** *Categorías para calificar los insectos con micelio.*

Categoría	Calificación
0	Sin presencia del micelio en el cuerpo del insecto
1	Presencia del micelio hasta el 25% del cuerpo del insecto
2	Presencia del micelio hasta el 50% del cuerpo del insecto
3	Presencia del micelio hasta el 75% del cuerpo del insecto
4	Presencia del micelio en más del 75% del cuerpo del insecto

### 3.5.5. MORTALIDAD (M)

Finalmente, para esta variable, se realizó el monitoreo diario de los insectos en las unidades experimentales durante doce DDI. En esta variable, se anotaron en la hoja de registro de campo, la sobrevivencia o mortalidad de picudo negro en las unidades experimentales. El análisis estadístico se lo realizó evaluando el porcentaje de mortalidad (PM), de los insectos (Tabla 5).

**Tabla 5** Categorías para calificar la mortalidad de picudo negro

Categoría	Calificación
0	Insectos vivos con mucha vitalidad
1	Insectos con poca vitalidad
2	Insectos desorientados, con movimiento errático
3	Insectos aislados, opacos con movimientos leves
4	Insectos inmóviles, mutilados y/o volteados

### 3.5.6. OBTENCIÓN DE LA DL<sup>50</sup>

Para determinar el valor de la DL<sup>50</sup>, se determinaron los resultados promedios que se obtuvieron en la variable mortalidad de picudo negro, se ordenaron en una hoja de cálculo y se expresaron en un gráfico de dispersión en la función de X; los valores resultantes se calcularon con la fórmula del método aritmético (Ramírez et al., 2017).

**Fórmula 5** (determinar dosis letal media)

$$X = \frac{(y - b)}{m}$$

**Dónde:**

y = Valor de la media de la población (50)

b = Valor inicial del eje y

m = Valor máximo en el eje X

### 3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

**Tabla 6** Identificación de la variable independiente

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos
Aplicación de aislados nativos de <i>Beauveria</i> sp	Acción entomopatógena	Incidencia del hongo	Observación

**Tabla 7** *Identificación de la variable dependiente, patogenicidad del hongo*

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos
Índice de afección de <i>C. sordidus</i>	Estado del insecto	Movilidad, con o sin micelio vivo o muerto	Observación



Cabe mencionar que a pesar de que no se realizó ninguna aplicación en los tratamientos testigo (T1), se evidenciaron insectos con síntomas (ICS), esto se debió probablemente al estrés y la manipulación de los insectos en el manejo del experimento como lo indica Hernández (2018), pudiendo sufrir del conocido stress crónico.

Por su parte Castellanos (1997), indica que la patogenicidad del hongo sobre los insectos depende de una compleja relación entre su habilidad para penetrar la cutícula y la fortaleza del sistema inmunológico del insecto para prevenir el desarrollo del hongo.

Los resultados fueron similares a los de Ramírez y Torres (2016), quienes indican que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, teniendo un mejor control en la disminución poblacional de *C. sordidus*; tanto en el tratamiento con *B. bassiana*, la combinación de *B. bassiana* + *M. anisopliae* y *M. anisopliae* por separado.

Así mismo, los resultados fueron similares a los de Barra (2020), quien indica que la patogenicidad del hongo *B. bassiana* sobre *Bemisia tabaci* G, insecto plaga del cultivo de *Lycopersicon esculentum* P alcanzó del 35 al 50% de colonización.

Los resultados también fueron similares a los de Zúñiga y Soto (2018), quienes indicaron que el hongo *B. bassiana*, al igual que otros hongos entomopatógenos, antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como la pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis.

Los resultados difieren con los de González et al. (2017), en cuanto al tiempo de respuesta, quienes indican que existe un marcado efecto del entomopatógeno sobre los insectos, ocasionando síntomas de letargo e inapetencia alimenticia al cuarto día luego de aplicados los tratamientos, llegando hasta un 80% de los síntomas.

Así mismo, existen diferencias con lo presentado por López et al. (2013), quienes indicaron que ninguno de los adultos muertos mostró incidencia del hongo, sin embargo, causaron mortalidad cercana al 70% después de 16 DDI.

En contraste y como resultado del análisis anterior, se determinó el porcentaje de los insectos con movilidad (PICM); los resultados indicaron que existen diferencias

estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, para el ambiente campo, el testigo obtiene el porcentaje más elevado con 83,3%, siendo estadísticamente diferente a las dosis aplicadas; por su parte, las dosis D1 y D2 no difieren estadísticamente entre sí, registrando porcentajes de 69,4 y 65,4% respectivamente, no obstante, difieren estadísticamente de la dosis D3, el cual registró el menor porcentaje de insectos sin síntomas del hongo con 16,7% (Tabla 9).

Bajo el mismo análisis, en la evaluación del ambiente laboratorio para determinar el PICM; los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, el testigo registró el mayor porcentaje con 79,4%, mostrando diferencias estadísticas frente a todas las dosis aplicadas; por ende, los menores porcentajes se observaron en las dosis D1, D2 y D3, las cuales no difieren estadísticamente entre sí, registrando porcentajes de 56,8; 53,2 y 49,2% respectivamente (Tabla 9).

**Tabla 9** Picudos activos y con movilidad pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Porcentaje de insectos con movilidad (PICM)		
Factor D (dosis de conidios)	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
Testigo (0)	83,3 a	79,4 a
D1 ( $10^4$ )	69,4 b	56,8 b
D2 ( $10^6$ )	65,4 b	53,2 b
D3 ( $10^8$ )	55,6 c	49,2 b
	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$

#### 4.1.2. EFECTO DE LOS AISLADOS DE *Beauveria* sp EN EL PICUDO NEGRO

Al evaluar los aislados del hongo para determinar el PISM; los resultados en el ambiente campo, mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $p < 0,0001$ ); en este caso el aislado A3 presentó el mayor porcentaje con 40,9%, mostrando diferencia estadística con el resto de aislados; por su parte, los aislados A2 y A1 fueron estadísticamente iguales, registrando porcentajes de 37,4 y 31,1% respectivamente; así

mismo, difieren estadísticamente del testigo, el cual presentó un porcentaje de 16,7% (Tabla 10).

Igualmente, al evaluar el ambiente laboratorio; se demostró que existe diferencia estadística entre los tratamientos ( $p < 0,0001$ ); los resultados indicaron que los aislados A3, A2 y A1 no difieren estadísticamente entre sí, registrando los mayores porcentajes con 49,3; 48,9 y 42,2% respectivamente; no obstante, difieren estadísticamente del testigo, el cual presentó el menor porcentaje, con 20,6% (Tabla 10).

**Tabla 10** Pérdida de movilidad de los picudos pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Porcentaje de insectos sin movilidad (PISM)		
Factor A (aislados)	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
A3	40,9 a	49,3 a
A2	37,4 ab	48,9 a
A1	31,1 b	42,2 a
Testigo	16,7 c	20,6 b
	$p < 0,0002$	$p < 0,0001$

Consecuentemente, como resultado del análisis anterior dentro de la variable nivel de patogenicidad, evaluando el PICM en el ambiente campo, se determinó que existe diferencias estadísticas ( $p < 0,002$ ); en dónde, el testigo muestra diferencias estadísticas frente a los aislados evaluados, con el porcentaje más elevado, 83,3%; por su parte los aislados A1 y A2, fueron estadísticamente iguales, registrando porcentajes de 68,9 y 62,6% respectivamente, no obstante, difieren estadísticamente del aislado A3, el cual registró el menor porcentaje con 59,1% (Tabla 11).

Por su parte, al evaluar el ambiente laboratorio, los resultados indicaron que existe diferencias estadísticas ( $p < 0,002$ ); en dónde, el testigo muestra diferencia estadística frente a los aislados evaluados, con el porcentaje más elevado de 79,4%; por su parte los aislados A1 y A2, no difieren estadísticamente entre sí, registrando porcentajes de 57,8 y 51,1% respectivamente, así mismo, difieren estadísticamente del aislado A3, el



cual registró el menor PICM, con 50,7% (Tabla 11).

**Tabla 11** Picudos activos y con movilidad pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Porcentaje de insectos con movilidad (PICM)		
Factor A (aislados)	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
Testigo	83,3 a	79,4 a
A1	68,9 b	57,8 b
A2	62,6 bc	51,1 b
A3	59,1 c	50,7 b
	$p < 0,002$	$p < 0,0001$

#### 4.1.3. RELACIÓN ENTRE EL MICELIO DE *Beauveria* sp Y LAS DOSIS DE CONIDIOS EN EL PICUDO NEGRO

Respecto a la evaluación de las dosis del micelio aplicadas, se determinó el porcentaje de insectos con micelio (PIMH); los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, para el ambiente campo, la dosis D3 y D2 no difieren estadísticamente entre sí, obteniendo los porcentajes más elevado con 19,92 y 15,90% respectivamente, siendo estadísticamente diferente del resto de las dosis; por su parte, la dosis D1 obtuvo un resultado de 9,67% siendo estadísticamente diferente al testigo el cual registró el menor resultado con el 0% (Tabla 12).

De igual forma en el ambiente laboratorio; los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, las dosis D3 y D2, no difieren estadísticamente entre sí, obteniendo los porcentajes más elevado con 33,06 y 27,99% respectivamente, siendo estadísticamente diferente del resto de las dosis; por su parte, la dosis D1 obtuvo un resultado de 19,33%, siendo estadísticamente diferente al testigo el cual registró el menor resultado con el 0% (Tabla 12).

Los resultados fueron similares a los de Jara (2009), quien realizó una recolección e identificación de entomopatógenos relacionados con la mortalidad de *C. sordidus*,

evaluando dos cepas de *B. bassiana*; encontrándose que la cepa Cadena 1 (C1) a nivel de larvas, presentó un 50% de esporulación en comparación a la cepa Marona (Ma).

**Tabla 12** Picudos con micelio de *Beauveria sp* pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Porcentaje de insectos con micelio del hongo (PIMH)		
Factor D (dosis de conidios)	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
D3 ( $10^8$ )	19,92 a	33,06 a
D2 ( $10^6$ )	15,90 a	27,99 a
D1 ( $10^4$ )	9,67 b	19,33 b
Testigo (0)	0,00 c	0,00 c
	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$

Así mismo, los resultados fueron similares a los de Castillo et al. (2012), quienes indicaron que en condiciones favorables el entomopatógeno desarrolla micelio, conidióforos y conidios sobre la cutícula del insecto, pasando a la hemolinfa dónde ataca los tejidos, además que la duración de las diferentes fases del ciclo del hongo depende de la especie y de las condiciones ambientales presentes durante la infección.

En consecuencia, los resultados también fueron similares a los de Grandes (2010), indicando que una vez que el hongo se desarrolla en el punto de infección, produce toxinas que se difunden en el celoma, a través de la hemolinfa y causa la mortalidad; y en la fase saprofítica, se producen gran cantidad de conidios.

Los resultados fueron similares a los de Garrido et al. (2017), indicando que del 0 al 16% de cadáveres de ninfas mostró crecimiento fúngico. Así mismo existe similitud con Zúñiga y Soto (2018), indicando que con la mortalidad del insecto el beneficio se incrementa por la esporulación y posterior dispersión del hongo, lo permite un control más allá de la aplicación, es decir, a mayor cantidad de días, es más notoria la aparición del micelio.

Los resultados fueron diferentes a los de Rivas (2020), quien valoró una cepa comercial de *B. bassiana*, indicando que al tercer día de evaluación pudo observar con mayor

claridad micelios, siguiendo un aumento progresivo hasta llegar al 95% de parasitismo y 5% de movilidad en los insectos.

Así mismo, los resultados fueron diferentes a los presentados por Echeverría (2006), indicando que posterior a la infección 15 DDI, se desarrolla el micelio de aspecto algodonoso de color blanco; siendo este tiempo, mucho mayor que el observado en esta investigación.

#### 4.1.4. RELACIÓN ENTRE EL MICELIO DE *Beauveria* sp Y LOS AISLADOS EN EL PICUDO NEGRO

Para determinar el PIMH en el ambiente campo, se utilizaron diferentes aislados del hongo; los resultados mostraron igualdad estadística entre los tratamientos evaluados ( $p < 0,0018$ ); sin embargo, los valores aritméticos fueron diferentes entre sí, quedando de la siguiente manera; 17,34; 15,96; 12,19 y 0% para los aislados A3, A2, A1 y testigo respectivamente (Tabla 13).

Consecuentemente en el ambiente laboratorio; los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, los aislados A2, A3 y A1, no difieren estadísticamente entre sí, obteniendo los porcentajes más altos con 30,10; 27,80 y 22,49% respectivamente, pero siendo estadísticamente diferentes al testigo, el cual obtuvo el resultado más bajo con el 0%, (Tabla 13).

**Tabla 13** Picudos con micelio de *Beauveria* sp pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Porcentaje de insectos con micelio del hongo (PIMH)		
Factor A (aislados)	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
A3	17,34 a	27,80 a
A2	15,96 a	30,10 a
A1	12,19 a	22,49 a
Testigo	0,00 b	0,00 b
	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$

## **4.2. ESTABLECIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CONIDIOS DE *Beauveria* sp SOBRE LOS INSECTOS DE *C. sordidus***

### **4.2.1. EFECTO DE LAS DOSIS DE LOS CONIDIOS DE *Beauveria* sp EN LA MORTALIDAD DEL PICUDO NEGRO**

Se evaluó la concentración de conidios del hongo para obtener los porcentajes de mortalidad (PM), en las unidades experimentales; los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, para el ambiente campo, la dosis D3 obtiene el porcentaje más elevado con 38,33%, siendo estadísticamente diferente del resto de las dosis; por su parte las dosis D2 y D1 no difieren estadísticamente entre sí, registrando porcentajes de 27,18 y 21,77% respectivamente, estos a su vez difieren estadísticamente del testigo el cual registró el menor porcentaje con el 14,64% (Tabla 14).

Así mismo en el ambiente laboratorio, los resultados indicaron que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,0001$ ); en dónde, las dosis D3, D2 y D1, fueron estadísticamente iguales, siendo las que obtienen los porcentajes más altos con 45,44; 42,71 y 35,13% respectivamente, estos a su vez fueron estadísticamente diferente al testigo el cual registró el menor porcentaje con el 27,50% (Tabla 14).

Los porcentajes de mortalidad obtenidos en los testigos 14,64 y 27,50% en los ambientes campo y laboratorio respectivamente; se deben a muerte natural o probablemente a la manipulación de los insectos evaluados en los tratamientos (Tabla 14).

Los resultados coinciden con los indicado por Mondragón y Contreras (2015), relacionado a la dificultad de mantener insectos vivos en laboratorio, ya que en el tratamiento testigo a pesar que no se realizó ninguna aplicación se encontraron insectos muertos; de igual forma Cardona (2004), indica que la mortalidad se debe probablemente al estrés y/o agentes biológicos.

**Tabla 14** El porcentaje de mortalidad (PM) de picudos provocada por *Beauveria sp* pasado los 12 DDI, evaluando las dosis en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Factor D (dosis de conidios)	Mortalidad (%)	
	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
D3 (10 <sup>8</sup> )	38,33 a	45,44 a
D2 (10 <sup>6</sup> )	27,18 b	42,71 a
D1 (10 <sup>4</sup> )	21,77 bc	35,13 ab
Testigo	14,64 c	27,50 b
	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$

Los resultados presentados fueron similares a los de Dávila (2020), quien aplicando *B. bassiana*, obtuvo un porcentaje de mortalidad en picudos negro del 44%.

Los resultados fueron similares a los obtenidos por González et al. (2017), con respecto a las concentraciones, quienes demuestran que a mayor concentración mayor efecto del hongo, lo que deriva a mayor mortalidad.

Los resultados fueron similares a los presentados por Cabrera (2009), quien evaluando a *B. bassiana*, en el control del picudo negro obtuvo una mortalidad entre el 28,7 al 51,7%; además indica que existen diferentes razas patogénicas de *B. bassiana*, mostrando variación en la tasa de mortalidad en ambos tipos de picudo.

Los resultados fueron diferentes a los presentados por Da Silva et al. (2020), indicando que *B. bassiana* + *M. anisopliae* ocasionó un 73% de mortalidad sobre *Bemisia tabaci* y 84% para *Brevicoryne brassicae* L, en solo 23 DDI. Así mismo, en el envés de las hojas de col, la combinación de entomopatógenos mostró 79% de mortalidad en 6 DDI.

Así mismo, los resultados fueron diferentes a los de Jara (2009), ya que determinó que la cepa Cadena 1 (C1), obtuvo el más alto porcentaje de mortalidad con el 87%, seguido de la cepa Marona (Ma) con 78% de mortalidad. Estos valores altos en las tasas de

infección, se encuentran en relación directa con la concentración de conidios de *B. bassiana*.

Existen diferencia frente a lo presentado por González et al. (2017), dónde indican que la mortalidad en los tratamientos evaluados llegó hasta el 68%, siendo directamente proporcional a la concentración de conidios, concluyendo, que entre los tratamientos evaluados existen diferencias con el testigo, el cual no registró ninguna mortalidad durante el ensayo.

Así mismo, existe diferencia respecto a los resultados presentados por Suarez y Suarez (2020), quienes indicaron que algunas cepas de *B. bassiana* en condiciones de laboratorio pueden causar mortalidades superiores al 60%.

Los resultados también difieren con lo presentado por Carballo (2001), quien indicó que la formulación de *B. bassiana*, en arroz tuvo un mayor efecto de mortalidad con el 62,4%, y la formulada en emulsión con el 44,6%; sin embargo, no se encontró efecto significativo en la reducción de la población, ni la disminución del daño causado por el picudo negro; inclusive otro trabajo formulado en aceite con agua reporta un control de 85% de mortalidad.

Los resultados fueron diferentes a lo evidenciado por Armendáriz et al. (2016), quien indica que los adultos de picudo negro poseen una vida extraordinariamente larga para un insecto (hasta 4 años), en dónde se alimentan del cormo o rizoma y del tallo de las plantas; pudiendo sobrevivir sin alimentarse durante varios meses.

#### **4.2.2. EFECTO DE LOS AISLADOS DE *Beauveria* sp EN LA MORTALIDAD DEL PICUDO NEGRO**

Los aislados del hongo fueron evaluados para determinar el PM en el ambiente campo, los resultados obtenidos indicaron que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados ( $p < 0,0056$ ); en consecuencia, se determinó que los aislados A3, A2 y A1, no difieren estadísticamente entre sí, habiendo obtenido los porcentajes más elevados con 30,07; 30,52 y 26,69% respectivamente, sin embargo, difieren

estadísticamente del testigo, el cual obtuvo el porcentaje más bajo con 14,64%.

En la misma línea de resultados se evaluó el PM en el ambiente laboratorio; los cuales indican que existen diferencias estadísticas ( $p < 0,155$ ); en dónde, los aislados A1, A3 y A2, fueron estadísticamente iguales, obteniendo los porcentajes más altos con 41,60; 41,24 y 40,44% respectivamente, pero siendo estos estadísticamente diferentes al testigo, el cual obtuvo el resultado más bajo con el 27,50% (Tabla 15).

**Tabla 15** El porcentaje de mortalidad (PM) de picudos provocada por *Beauveria sp* pasado los 12 DDI, evaluando los aislados en ambos ambientes (Kruskal Wallis).

Factor A (aislados)	Mortalidad (%)	
	Ambiente campo (1)	Ambiente laboratorio (2)
A3	30,07 a	41,24 a
A2	30,52 a	40,44 a
A1	26,69 a	41,60 a
Testigo	14,64 b	27,50 b
	$p < 0,0056$	$p < 0,155$

Los resultados difieren a los presentados por Garrido et al. (2017), quienes evaluando aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, realizaron inmersión de hojas de melón en suspensiones con concentraciones que van desde  $10^5$  a  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ; obtuvieron una mortalidad total de las ninfas que osciló entre 83,9 y 100,0% y entre 66,3 y 87,9%, respectivamente.

Así mismo, los resultados fueron diferentes a los de Vargas (2020), quien aplicó varias cepas de *B. bassiana* sobre insectos adultos de *Metamasius hemipterus*; a una concentración de  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ; el cual eliminó el 90% de la población antes de los cinco DDI y otras cepas eliminaron el 50% de la población de picudos antes de los cinco DDI, superando al resto de los tratamientos.

#### 4.2.3. ANÁLISIS DE LA EFICACIA DE LAS DOSIS DE *Beauveria* sp APLICADA SOBRE EL PICUDO NEGRO

Las dosis de conidios de los aislados fueron evaluadas para determinar la eficacia utilizando los porcentajes de sobrevivencia (PS); en el ambiente campo, los resultados obtenidos indicaron que existen diferencias estadísticas entre las dosis valoradas ( $p < 0,0238$ ); en consecuencia, se determinó que la dosis D3 fue la más eficaz con 28%, siendo estadísticamente diferente a las dosis D2, D1 y al testigo con 15, 9 y 0% respectivamente (Tabla 16).

En la misma evaluación para el ambiente laboratorio, los resultados obtenidos indicaron que existen diferencias estadísticas entre las dosis analizadas ( $p < 0,0195$ ); por lo tanto, se determinó que la dosis D3 fue la más eficaz con 36%, siendo estadísticamente diferente a las dosis D2, D1 y al testigo con 33, 24 y 0% respectivamente (Tabla 16).

**Tabla 16** Determinación de la eficacia de *Beauveria* sp aplicada al picudo negro.

Ambientes	aislados/dosis	Eficacia (%)			Media
		A3	A2	A1	
Campo	D3 ( $10^8$ )	38	23	22	28 a
	D2 ( $10^6$ )	17	15	12	15 ab
	D1 ( $10^4$ )	1	18	8	9 b
	Testigo	0	0	0	0 b
$p < 0,0238$					
Laboratorio	D3 ( $10^8$ )	36	34	37	36 a
	D2 ( $10^6$ )	18	27	27	33 ab
	D1 ( $10^4$ )	40	29	30	24 b
	Testigo	0	0	0	0 b
$p < 0,0195$					



Los resultados presentados fueron similares a los de Malpartida et al. (2013), quienes demostraron que la efectividad del hongo *B. bassiana*, sobre larvas de lepidópteros es mejor en una concentración de  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ .

También los resultados fueron similares a los de Akello et al. (2009), quienes indicaron que la concentración óptima fue de  $10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ , sumergiendo plantas de banano para realizar una colonización efectiva del hongo.

Los resultados fueron inferiores y diferentes a los presentado por Pari et al. (2015), quien determinó que la concentración más eficaz obtenida en su investigación fue de  $2,8 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en 28,71 DDI, superior a quinua  $2,6 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en 28,64 DDI y arroz  $3,1 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en 27,28 DDI; así mismo utilizó cebada a una concentración de  $2,3 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ .

En la misma línea, los resultados fueron diferentes a los de Rodríguez et al. (2017), quienes evaluaron la producción de conidios de dos cepas nativas de *Beauveria bassiana* para la producción de conidios, en la cual no se encontraron diferencias estadísticas con  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . La mayor producción se obtuvo con sustratos de avena, la cual fue de  $5 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ; la menor producción de  $1,72 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  la presentó la cebada. Con arroz se produjo  $3,15 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ; con sorgo y maíz  $2,68 \times 10^8$  y con trigo  $2,38 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ , respectivamente.

### **4.3. CÁLCULO DE LA $DL^{50}$ DE CONIDIOS DE *Beauveria* sp PARA CONTROLAR POBLACIONES DE PICUDO NEGRO**

Con el porcentaje de mortalidad se obtuvo la dosis letal media ( $DL^{50}$ ); de esta manera se determina cual es la concentración de conidios necesaria para matar a la mitad de la población de insectos picudos. En el ambiente campo los aislados utilizados no alcanzaron el 50% de mortalidad, sin embargo, los resultados en los insectos fueron directamente proporcional a la concentración de las dosis aplicadas; por lo tanto, la concentración  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en cada aislado obtuvo los porcentajes más altos con 47,22; 34,17 y 33,13% para los aislados A3, A2 y A1 respectivamente (Tabla 17).

**Tabla 17** *Porcentaje de la mortalidad de picudo negro por tratamiento en el ambiente campo y la representación de escalares al máximo (EAM)*

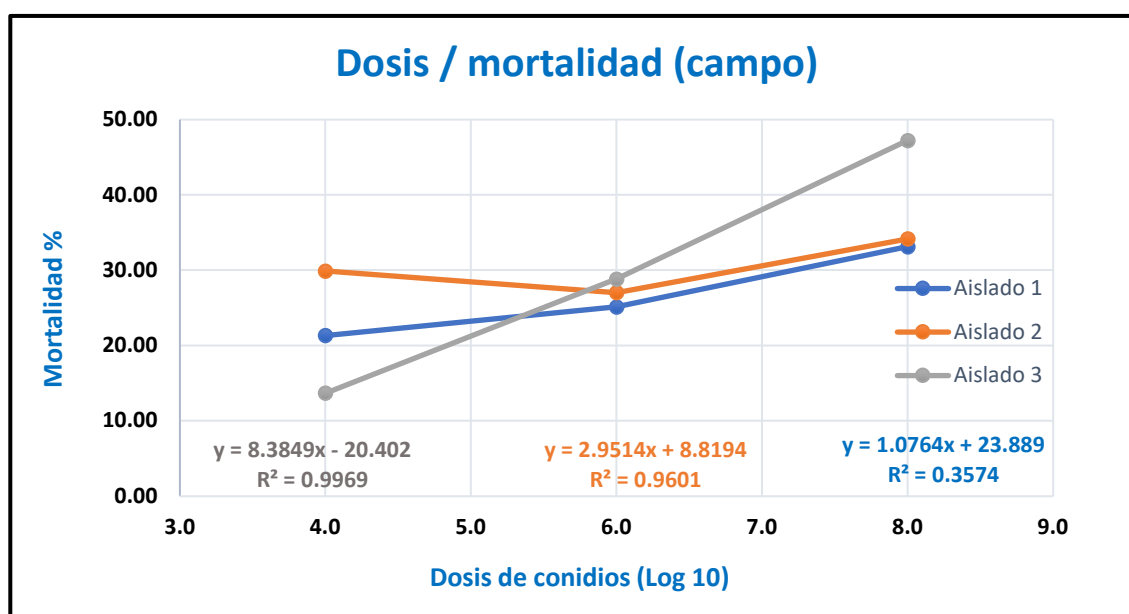
Ambiente campo				
Tratamientos	Aislados	Dosis	Mortalidad %	Escarar al máximo (EAM)
A3D3		D3 ( $10^8$ )	47,22	100,0
A3D2	A3	D2 ( $10^6$ )	28,82	61,0
A3D1		D1 ( $10^4$ )	13,68	29,0
A3D3		D3 ( $10^8$ )	34,17	72,4
A3D2	A2	D2 ( $10^6$ )	27,01	57,2
A3D1		D1 ( $10^4$ )	29,86	63,2
A3D3		D3 ( $10^8$ )	33,13	70,2
A3D2	A1	D2 ( $10^6$ )	25,14	53,2
A3D1		D1 ( $10^4$ )	21,32	45,1
	Testigo	-	14,58	30,9

Los valores del escalar al máximo obtenidos en el ambiente campo indican que el aislado A3 y en la dosis D3 (A3D3), logra el índice de mortalidad más alto con el 100% y en relación a éste, se determinan los porcentajes obtenidos de los demás tratamientos, incluyendo el testigo que alcanzó el 30,9% (Tabla 18).

**Tabla 18** Valores escalares al máximo (EAM) del porcentaje de mortalidad en ambiente campo de picudos en función de aislados y dosis de conidios de *Beauveria sp*

	Aislados			Media
	A1	A2	A3	
D1 (10 <sup>4</sup> )	45,1	63,2	29,0	45,8
D2 (10 <sup>6</sup> )	53,2	57,2	61,0	57,2
D3 (10 <sup>8</sup> )	70,2	72,4	100,0	80,8
Media	56,2	64,3	63,3	
Testigo		30,9		

En un disperso grama se visualizan los valores de mortalidad obtenidos en función de las dosis de conidios (log 10), aplicadas a los picudos negros (Tabla 17) para el ambiente campo; el gráfico expresado en función de “x”, muestra los valores a ser reemplazados en la fórmula aritmética para determinar la DL<sup>50</sup> (Figura 1).



**Figura 1** Relación entre las dosis de conidios y la mortalidad del picudo negro (Campo)

De igual manera en el ambiente laboratorio los aislados utilizados no alcanzaron el 50% de mortalidad, sin embargo, los resultados de dos de los aislados (A1 y A2), con 43,96 y 46,56% respectivamente, fueron directamente proporcional a la concentración de las dosis aplicadas; es decir, la concentración  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de estos aislados obtuvieron los porcentajes más altos. El resultado del aislado A3 fue de 48,96%, no obstante, este valor se obtuvo con la dosis de aplicación más baja  $10^4$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  (Tabla 19).

**Tabla 19** *Porcentaje de la mortalidad de picudo negro por tratamiento en el ambiente laboratorio y la representación de escalares al máximo (EAM).*

Ambiente laboratorio				
Tratamientos	Aislados	Dosis	Mortalidad %	Escarar al máximo (EAM)
A3D3		D3 ( $10^8$ )	45,21	93,7
A3D2	A3	D2 ( $10^6$ )	29,58	61,3
A3D1		D1 ( $10^4$ )	48,26	100,0
A3D3		D3 ( $10^8$ )	43,96	91,1
A3D2	A2	D2 ( $10^6$ )	37,85	78,4
A3D1		D1 ( $10^4$ )	38,89	80,6
A3D3		D3 ( $10^8$ )	46,53	96,4
A3D2	A1	D2 ( $10^6$ )	37,29	77,3
A3D1		D1 ( $10^4$ )	40,28	83,5
	Testigo	-	27,36	56,7

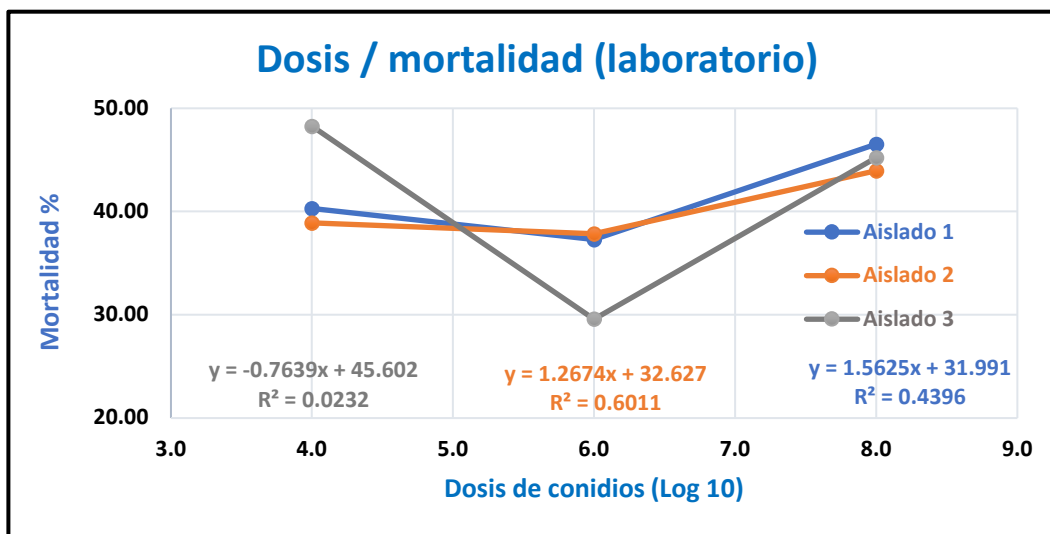
Los valores del escalar al máximo obtenidos en el ambiente laboratorio indicaron que el aislado A3 y en la dosis D1 (A3D1), logró el índice de mortalidad más alto (100%) y en

relación a éste, se determinaron los porcentajes obtenidos de los demás tratamientos incluyendo el testigo que alcanzó el 56,7% (Tabla 20).

**Tabla 20** *Valores escalares al máximo (EAM) del porcentaje de mortalidad en ambiente laboratorio de picudos en función de aislados y dosis de conidios de Beauveria sp*

	Aislados			Media
	A1	A2	A3	
D1 (10 <sup>4</sup> )	83,5	80,6	100,0	88,0
D2 (10 <sup>6</sup> )	77,3	78,4	61,3	72,3
D3 (10 <sup>8</sup> )	96,4	91,1	93,7	93,7
Media	85,7	83,4	85,0	
Testigo		56,7		

En un disperso grama se visualizan los valores de mortalidad que se obtuvieron en función de las dosis de conidios (log 10), aplicadas a los picudos negros (Tabla 19) para el ambiente laboratorio; el gráfico expresado en función de "x", muestra los valores a ser reemplazados en la fórmula aritmética para determinar la DL<sup>50</sup> (Figura 1).



**Figura 2** Relación entre las dosis de conidios y la mortalidad del picudo negro (Laboratorio).

Los datos obtenidos en los gráficos (Coeficientes fx) se aplicaron en la fórmula para la obtención de la  $DL^{50}$  (Ramírez et al., 2017). Se evaluó la mortalidad en función de las dosis de conidios por aislados y en ambos ambientes. Los resultados se mostraron en forma de logaritmo base 10, con lo cual se puede indicar que el aislado A3 en el ambiente campo obtuvo el mejor resultado para matar un porcentaje cercano a la mitad de la población de insectos 8,40 (log 10), el mismo, que luego de transformado a valores numéricos indican que la  $DL^{50}$  es de  $2,49^8$  conidios  $mL^{-1}$  (Tabla 21).

Existe diferencia de estos resultados con los indicados por Malpartida et al. (2013), quienes demostraron la efectividad del hongo utilizando una concentración 100.000.000 ( $10^8$  conidios  $mL^{-1}$ ) para el control de larvas de lepidópteros (*Dione juno*), como la de mayor efectividad.

**Tabla 21** Coeficiente de la  $DL^{50}$  evaluada en ambos ambientes con los datos obtenidos de los gráficos de dispersión en función de la equis (FX).

Coeficientes ( $f_x$ )				
Aislados	Ambiente campo	$DL^{50}$ (Log10)	Ambiente laboratorio	$DL^{50}$ (Log10)
	8,3849		-0,7639	
A3	-20,402	8,40	45,602	-5,76
	50		50	
	2,9514		1,2674	
A2	8,8194	13,95	32,627	13,71
	50		50	
	1,0764		1,5625	
A1	23,889	24,26	31,991	11,53
	50		50	
DL <sup>50</sup> (dosis) resultante		2,49 <sup>8</sup>		

Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Aliaga y Cruz (2009), quienes evaluaron la susceptibilidad a la cepa *Beauveria bassiana* CBLE-265, con la finalidad de determinar la concentración letal al 50% ( $CL^{50}$ ), para controlar *Spodoptera frugiperda* y *Aphis craccivora*. Utilizando el método Probit para *Spodoptera frugiperda*, en los estadios I y II los valores del  $CL^{50}$  fueron de  $1,9 \times 10^{24}$  y  $7,9 \times 10^{24}$  conidios  $g^{-1}$ .

No hay coincidencia de los resultados frente a lo presentado por Ocampo (2010), quien pudo determinar la  $CL^{50}$  de dos de los aislamientos de *B. bassiana* más activos (Bb37 y Bb40) en larvas de tercer estadio y adultos de *Epilachna varivestis*. Sus resultados indicaron que utilizó cinco concentraciones para cada aislamiento ( $10^5$  a  $10^9$  conidios viables  $mL^{-1}$ ), para lograr del 25 al 41% de mortalidad en los adultos de *E. varivestis*.

# CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## 5.1. CONCLUSIONES

- Los aislados A1, A2 y A3, fueron estadísticamente iguales en la patogenicidad del picudo negro, sin embargo, el aislado A3 demostró los mejores resultados, destacándose en la variable aparición del micelio del hongo con 17,34 y 27,80%, en los ambientes campo y laboratorio respectivamente; por otra parte, en la DL<sup>50</sup> con  $2,49 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>.
- La concentración más eficaz fue la dosis D3 ( $10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>) en ambos ambientes (28 y 36%), la cual resultó ser más patogénica para controlar el picudo negro del plátano.
- La DL<sup>50</sup> obtenida en esta investigación fue de  $2,49 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>; la cual resultó ser mayor que la concentración más alta aplicada  $1 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>.

## 5.2. RECOMENDACIONES

- Probar a campo abierto los aislados de *Beauveria* sp, para determinar la efectividad del control de la plaga insectil, en estas condiciones.
- Probar concentración de conidios mayores que  $10^8$  conidios mL<sup>-1</sup> para explorar dosis óptimas.
- Realizar el análisis molecular de los aislados A1, A2 y A3 para su posterior incubación y multiplicación.



## BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18:265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Akello, J., Dubois, T. y Coyne, D. (2007). *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin como endófito en el cultivo de tejidos de planta (*Musa* spp.). Kampala, Uganda. *Journal Invertebrate Pathology*. 96(1):34-42. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17391694/>
- Akello, J., Dubois, T., Coyne, D. y Kyamanywa, S. (2009). The effects of *Beauveria bassiana* dose and exposure duration on colonization and growth of tissue cultured banana (*Musa* sp) plant. *Biological control*, 49(1), 6-10. <https://www.researchgate.net/publication/229406780>
- Aliaga, J. y Cruz, J. (2009). *Determinación de las CL<sup>50</sup> y CL<sup>90</sup> del hongo Beauveria bassiana CBLE-265 para el control de las plagas Spodoptera frugiperda y Aphis craccivora*. [Tesis de Químico Farmacéutico], Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1637>
- Alpízar, D. (1999). Validación de feromona Cosmolure en seis fincas de la región atlántica de Costa Rica. Estación experimental los Diamantes. [http://www.mag.go.cr/congreso\\_agronomico\\_xi/a50-6907-II\\_178.pdf](http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-II_178.pdf)
- Armendáriz, I., Landázuri, P., Taco, J. y Ulloa, S. (2016). Efectos del control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) en el plátano. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 319-327. <https://www.redalyc.org/pdf/437/43745945010.pdf>
- Athanassiou, C., Kavallieratos, N., Rumbos, C. y Kontodimas, D. (2017). Influence of temperature and Humidity relative on the insecticidal efficacy of *Metarhizium anisopliae* against larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) on wheat. *Journal of Insect Science*, 17(1), 1-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5388312/>

- Báez, M., Rossini, G., y Granados, Y. (2004). 5 métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*, 99. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GD7-N3154OIC&oi=fnd&pg=PA99&dq=metodo+probit&ots=TqfpYltop0&sig=gQqIN\\_V9G01g0FOzl81OGBqN2Gs](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GD7-N3154OIC&oi=fnd&pg=PA99&dq=metodo+probit&ots=TqfpYltop0&sig=gQqIN_V9G01g0FOzl81OGBqN2Gs)
- Barra, L. (2020). *Beauveria bassiana* endófito: Agente de promoción de crecimiento vegetal y de biocontrol en tomate. [Tesis de Doctor en Ciencias Agronómicas], Universidad de Concepción. <http://repositorio.udec.cl/handle/11594/547>
- Bermúdez, J. (2006). Evaluación de *Beauveria bassiana* Vuill y *Metarhizium anisopliae* Sorok en el Combate de *Imatidium neivai* Bondar en Palma Africana, [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Técnica de Manabí. Repositorio institucional del INIAP. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3599>
- Bich, G., Castrillo, M., Villalva, L., y Zapata, P. (2018). Evaluation of Rice By-Products, Incubation Time, And Photoperiod for Solid State Mass Multiplication of The Biocontrol Agents *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Agronomy Research*, 16(5):1921-1930. <https://www.researchgate.net/publication/332703169>
- Bohórquez, K. (2020). *Manejo etológico del Picudo Negro (Cosmopolites sordidus) en el cultivo de Banano (Musa acuminata AAA), Jujan - Guayas*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Agraria del Ecuador. [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BOHORQUEZ%20SANCHEZ%20KEVIN%20DAVID\\_compressed.pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BOHORQUEZ%20SANCHEZ%20KEVIN%20DAVID_compressed.pdf)
- Buenrostro, G. (2012) *Aislamiento y Efectividad de Beauveria bassiana Villemin Para El Control Biológico De La Cucaracha Urbana Periplaneta americana L.* [Tesis de Doctor en Ciencias Agronómicas], Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/2707/1/1080227494.pdf>

- Bustamante, M. (2002). Manejo integrado de plagas en el cultivo de banano y plátano con énfasis en sigatoka negra. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. <http://hdl.handle.net/11036/2936>
- Cabrera, J. (2009). Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuill. en el control biológico de gorgojo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) en condiciones de laboratorio. [Ingeniero agrónomo], Universidad agraria de la selva. <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/85/>
- Cañedo, V. y Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>
- Cardona, S. (2004), Evaluación de la viabilidad para el establecimiento de un mariposario en el área propuesta como distrito de manejo integrado de los recursos naturales cañón del río alicante, localizado entre los municipios de Maceo y Puerto Berrío. [https://www.corantioquia.gov.co/ciadoc/fauna/AIRNR\\_CN\\_4746\\_2003.pdf](https://www.corantioquia.gov.co/ciadoc/fauna/AIRNR_CN_4746_2003.pdf)
- Carballo, M. (2001). Opciones para el manejo del picudo negro del plátano. Hoja técnica N.36. CATIE. Manejo Integrado de Plagas. 4. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6619>
- Carvajal, O. (2009). *Control del picudo del plátano Cosmopolites sordidus Germar (Coleóptera, Curculionidae) por el nematodo Heterorhabditis bacteriophora (Heterorhabditidae)*. [Tesis de Ingeniero agrónomo], Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/362/1/T2743.pdf>
- Castaño-Parra, O. (1989). Manual sobre el cultivo de plátano en manejo de problemas entomológicos en los cultivos de plátano y banano. 100-126. <https://www.ica.gov.co/getattachment/08fbb48d-a985-4f96-9889-0e66a461aa8b/-nbspc;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-platano.aspx>

- Castellanos, D. (1997). Importancia en la patogenicidad de la acción enzimática del hongo *Beauveria bassiana* V, sobre la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología*, 23(1-2), 65-71.  
<https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co/index.php/SOCOLEN/articulo/download/9875/12362>
- Castillo, C., Cañizalez, L., Valera, R., Godoy, J., Guedez, C., Olivar, R., y Morillo, S. (2012), Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo-Venezuela. *Revista académica*, 23(XI), 275-281.  
<http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/academia/v11n23/art08.pdf>
- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. *Instituto Mexicano de tecnología del agua*.  
<https://www.idrc.ca/sites/default/files/openebooks/147-7/index.html>
- Chiriboga, H., Gómez, G. y Garcés, K. (2015). *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de Hormigas Cortadoras (Ysaú). *IICA*.  
<https://repositorio.iica.int/bitstream/11324/2646/1/BVE17038724e.pdf>
- Coto, C. (2013) El mundo de los virus: con el transcurrir del tiempo surgen más entidades desconocidas y peligrosas que lo componen. *Revista Química Viva*, 12(2), 61-63.  
<https://www.redalyc.org/pdf/863/86328550001.pdf>
- Da Silva, R., Vargas J., Sánchez, J., Oliva, R., Alarcón, T., Villegas, P., (2020). *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 419-426.  
<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.14>
- Dávila, K. (2020). *Eficacia de la aplicación líquida y sólida del hongo Beauveria bassiana para el control del picudo negro (Cosmopolites sordidus) y del picudo rayado (Metamasius hemipterus) en condiciones de laboratorio y campo*. [Tesis de Ingeniero Agropecuario], Universidad Técnica Estatal de Quevedo.  
<http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6024>

- Echeverría, F. (2006). *Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin*. [Ingeniero Biológico], Instituto Tecnológico de Costa Rica. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/463/Trabajo%20Final%20de%20Graduacion%20Biblioteca.pdf?sequence=1>
- Garrido, I., Resquín, G., Amarilla, S., Ríos, A., Carrasco, L. y Quesada, E. (2017). Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Pest Science*, 90, 319-330. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-016-0767-2>
- Gold, C. y Messiaen, S. (2000). El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*. Plagas de Musa. *Hoja Divulgativa*, 4, 1-4. [https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/user\\_upload/online\\_library/publications/pdfs/696\\_ES.pdf](https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/user_upload/online_library/publications/pdfs/696_ES.pdf)
- Gold, S., Pena, E. y Karamura, B. (2001). Biology and integrated pest management for the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews*, 6, 79-155. <https://www.researchgate.net/publication/227097901>
- González, H., Sánchez, C., López, J., Malca, R. y Vásquez, J. (2017). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, sobre el gusano barrenador del loche *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) en laboratorio. *UCV Hacer*, 6(2), 73-79. <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-hacer/article/view/763>
- Grandes, J. (2010). *Ensayos de dos hongos entomopatógenos para el control de Empoasca kraemeri en Piñón Blanco, en el distrito de la Banda de Shilcayo, San Martín*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Nacional de San Martín de Tarapoto. [https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/608/TFCA\\_142.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/608/TFCA_142.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Hameed, F. (2008). *Evaluation of William's banana (Musa Cavendish L) clones under hot arid climates of the Sudán*. [Tesis de Doctor en Ciencias Agronómica], University of Khartoum. <http://khartoumspace.uofk.edu/bitstreams/385a340a-58b7-4b26-815e-36f916337d13/download>
- Hernández, J. (2018). *Selección por color de frutos de Schoepfia schreberi por dos especies aviares y efecto de la ingestión de los mismos sobre la sobrevivencia de larvas de Anastrepha spatulata*. [Tesis de Master en Ciencias Agronómicas], Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada. <https://sii.ecosur.mx/Content/ProductosActividades/archivos/27886/textocompleto%200.pdf>
- Hussaini, S. (2014). Potential of Entomopathogenic Nematodes in Integrated Pest Management. *In integrated Pest Management*, 11, 193-222. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00012-9>
- Jara, J. (2009). *Evaluación de cepas nativas de Beauveria bassiana (Báls.) Vuill, en el control biológico de gorgojo negro (Cosmopolites sordidus Germar) en condiciones de laboratorio*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Nacional Agraria de la Selva. <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/85/AGR-528.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- López, R., Mesquita, A., Tigano, M., Souza, D., Martins, I. y Faria, M. (2013). Diversity of indigenous *Beauveria* sp and *Metarhizium* sp in a commercial banana field and their virulence toward *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). *Ecología fúngica*, 6(5), 356-364. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.06.007>
- López, A. (2020). *Incidencia y control del picudo negro (Cosmopolites sordidus) en el cultivo de plátano en el Ecuador*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Técnica de Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/8481/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000278.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Malpartida, J., Narrea, M. y Dale, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* V, sobre el gusano defoliador de Maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en Laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(2), 75-81. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162013000200002&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162013000200002&script=sci_abstract)
- Mondragón, I. y Contreras, Y. (2015). Uso de los insectos *Tenebrio molitor*, *Tribolium castaneum* y *Palembus dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) como recurso didáctico en la enseñanza de las Ciencias Naturales. *Revista de Investigación*, 39(86), 255-270. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-29142015000300013](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-29142015000300013)
- Moya, K., Martínez, A., y Herrera, A. (2011). Evaluación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en condiciones de campo para el combate de trips en el cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill) en San Pablo de León Cortés, Costa Rica. *Métodos en Ecología y Sistemática*, 6(3), 62-70. <https://www.researchgate.net/profile/Keylor-Villalobos/publication/272165249>
- Ocampo, J. (2010). *Susceptibilidad de larvas y adultos de la conchuela del frijol, Epilachna varivestis (Mulsant.) (Coleoptera: Coccinellidae), a aislados nativos de Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae)*. [Tesis de Magister en Ciencias Biológicas], Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. [http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB\\_UMICH/1836](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/1836)
- Ormaza, M. (2017). *Influencia de tres niveles de carbamida sobre la inducción de hijuelos de plátano (Musa AAB Simmonds) en el valle del Río Carrizal*. [Tesis de Ingeniero Agrícola], Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. <http://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/539/1/TA65.pdf>
- Padilla, A., Carnero A. y Martínez, M. (2009). Efectos del picudo *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae) en el cultivo de la platanera y su

- dinámica poblacional en Canarias. *Terralia*, 73, 24-30. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=ES2009002133>
- Pari, J., Mamani, F. y Landaeta, J. (2015). Evaluación de sustratos y producción de *Beauveria Brongniartii* (sacc.) patch para control de gorgojo de los andes (*Premnotrypes* spp) en cultivo de papa. *Revista Investigaciones Altoandinas*, 17(3), 347-354. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5294161>
- Paz, R., Pesantez, Z. (2013). Potencialidad del plátano verde en la nueva matriz productiva del Ecuador. *Revista Científica Yachana*, 2(2), 203–210. <https://doi.org/10.1234/yach.v2i2.47>
- Peraza, R. y Delgado, V. (2012). Determinación de la concentración letal media (CL<sup>50</sup>) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en *Laeonereis culveri* (Webster 1879) (Polychaeta: Annelida). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2), 137-144. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992012000200004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000200004)
- Ramírez, J. y Torres, H. (2016). *Control del picudo (Cosmopolites sordidus) en el cultivo de plátano (Musa paradisiaca) usando tres agentes biológicos, Heterorhabditis bacteriophora, Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5875/1/CPA-2016-T080.pdf>
- Ramírez, M., Huerta, G., Guzmán, I., Alarcón, L., Flores, E., Rojas, A. y Moreno, M. (2017). Methamidophos Induces Cytotoxicity and Oxidative Stress in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Environmental toxicology*, 32(1), 147-155. <https://doi.org/10.1002/tox.22220>



- Rehner, S., Minnis, A., Sung, G., Luangsaard, J., Devotto, L. y Humber, R. (2011). Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycology*, 103(5): 1055-1073. <https://doi.org/10.3852/10-302>
- Rivas, V. (2020). *Efecto del control biológico del hongo Beauveria bassiana sobre el insecto Planococcus citri, en condición in vitro-región Lambayeque, 2020*. [Tesis de Ingeniero Ambiental]. Universidad de Lambayeque <https://repositorio.udl.edu.pe/handle/UDL/419>
- Rodríguez, L., Gandarilla, F., Maldonado, M., Quintero, I., Ramos, L., Álvarez, J. y Santo, M. (2017). Evaluación de sustratos naturales para la producción de conidios de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (hypocreales: cordycipitaceae) en cultivo bifásico. *Interciencia*, 42(11), 739-743. <https://www.redalyc.org/journal/339/33953499006/>
- Rojas, R., Loza, M., Vino, L., y Serrano, T. (2017). Capacidad biocontroladora de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) en el control de pulgones *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 48-68. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2072-92942017000100004&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2072-92942017000100004&script=sci_abstract)
- Silva, P., Sablón, N. y Bravo, M. (2021). Estudio de la Cadena Agroalimentaria del Plátano en la Provincia De Manabí. *Sinergia*, 12(3), 155-174. [https://doi.org/10.33936/eca\\_sinergia.v12i3.3430](https://doi.org/10.33936/eca_sinergia.v12i3.3430)
- Simmonds, N. y Shepherd, K. (1955). The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 55(359), 302-312. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>
- Singh, H., Selvarajan, R., Uma, S. y Karihaloo, J. (2011). Micro propagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific. *Asia-Pacific Consortium on*

- Agricultural Biotechnology* 1. 1-92.  
<https://www.researchgate.net/publication/274063310>
- Suarez, J. y Suarez, L. (2020). *Efectividad del hongo Beauveria bassiana en trampas para manejo del picudo del cultivo de plátano (Cosmopolites sordidus: Coleoptera-Curculionidae) Tonalá- Chinandega, 2019*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Nacional Agraria. <https://repositorio.una.edu.ni/4075/1/tnh10s939.pdf>
- Tyler, S. y Gurian, J. (1950). Determination of the LD<sup>50</sup> by use of Probit, angular, and logit transformations. *Health and Biology*, 4486, 31-38.  
[https://drive.google.com/file/d/1tOmuox\\_3k4o19K7C8g21UqE4jbHJFyK6/view?usp=drivesdk](https://drive.google.com/file/d/1tOmuox_3k4o19K7C8g21UqE4jbHJFyK6/view?usp=drivesdk)
- Townsend, G. y Heuberger, J. (1943) Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.  
[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=725513](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=725513)
- Ubilla, P. (2007). *Control de Picudo negro (Cosmopolites sordidus) con barrera de polietileno y Bazam (Beauveria bassiana) en plátano para condiciones de Zamorano, Honduras*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano.  
<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/750/1/T2500.pdf>
- Vallejo, L., Sánchez, R. y Salgado, M. (2007). Re descripción del adulto y descripción de los estados inmaduros de *Cosmopolites sordidus* G. 1824 (coleoptera: curculionidae), el picudo negro barrenador del plátano en Colombia. Universidad de Caldas. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-30682007000100018&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-30682007000100018&script=sci_abstract&tlng=es)
- Vargas, C. (2020). Capacidad parasítica de *Beauveria bassiana* sobre el picudo del palmito (*Metamasius hemipterus*). (Coleoptera: Dryophthoridae). *Alcances Tecnológicos*, 13(1), 13-18.

[http://www.platicar.go.cr/images/buscador/documents/pdf/2019/REVISTA\\_ALCANCES\\_TECNOLOGICOS\\_2020\\_ap\\_vf\\_comp\\_ed.pdf#page=14](http://www.platicar.go.cr/images/buscador/documents/pdf/2019/REVISTA_ALCANCES_TECNOLOGICOS_2020_ap_vf_comp_ed.pdf#page=14)

Vergara, E. (2015). *Evaluación de dosis de insecticidas y tipos de trampas en el manejo de picudos (Cosmopolites sordidus y Metamasius hemipterus), en el cultivo de banano (Musa AAA), en la zona de Babahoyo*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/19838>

Zapata, K. (2016). *Control Biológico y etológico de picudo negro (Cosmopolites sordidus) en el cultivo de banano en la provincia de El Oro*. [Tesis de Ingeniero Agrónomo], Universidad Católica Santiago de Guayaquil. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/6938>

Zúñiga, M. y Soto, A. (2018). Control Microbiológico de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidóptera: Crámbidae) En Caña Panelera a nivel de Campo. *Boletín científico centro de museos historia natural*, 22(2), 33-41. <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v22n2/0123-3068-bccm-22-02-00033.pdf>

# **ANEXOS**

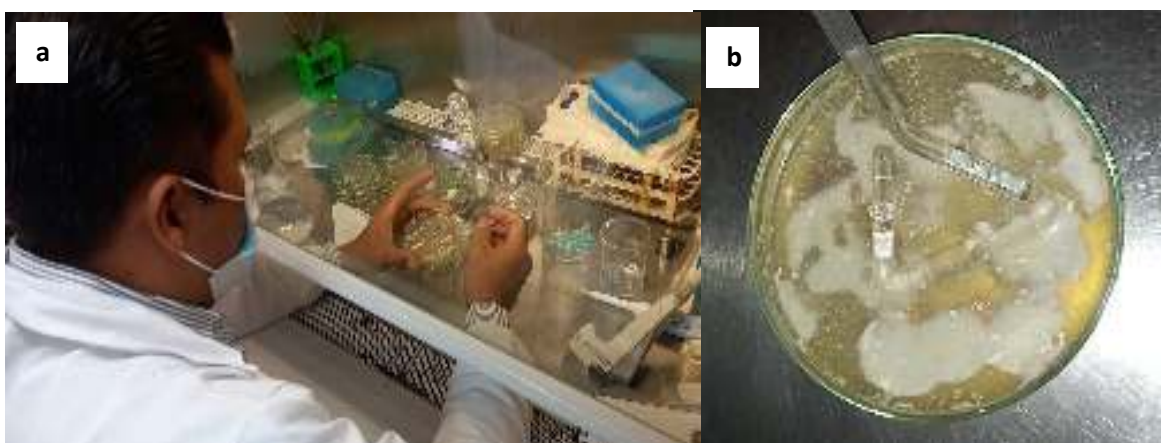
## ANEXOS 1. \_ Preparación del experimento



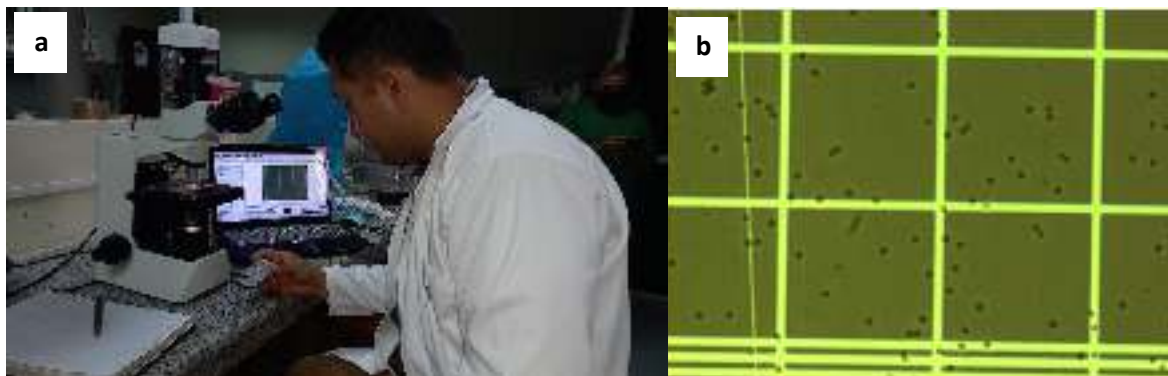
**Fotos 1.- 1a) Colocación de trampas, 1b) Insectos picudo negros**



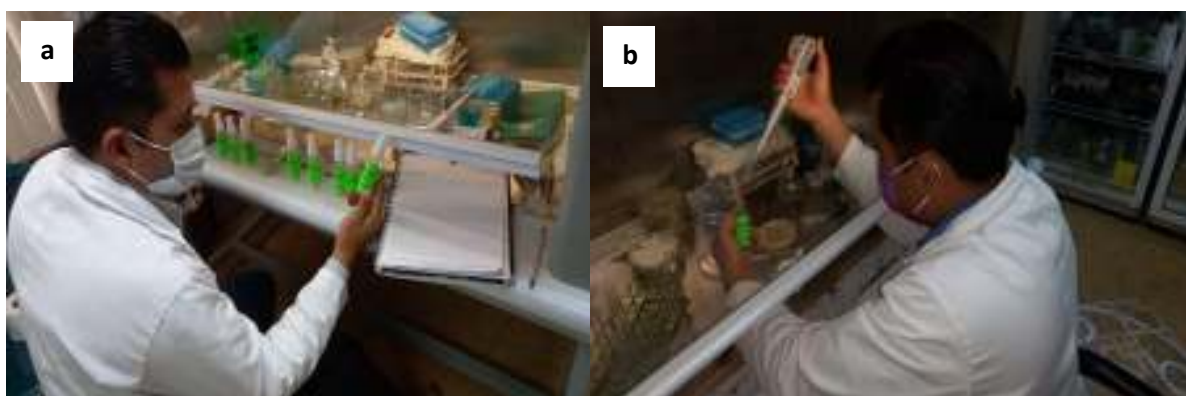
**Fotos 2.- 2a) Aislado del Beauveria sp A1, 2b) Aislado del Beauveria sp A2, 2c) Aislado del Beauveria sp A3**



**Fotos 3.- 3a) Remoción de micelios en placa de Petri, 3b) Retiro de sobrenadante con asa de**



**Fotos 4.- 4a)** Observación de conidios en microscopio, **4b)** Conteo de conidios en cámara de Neubauer

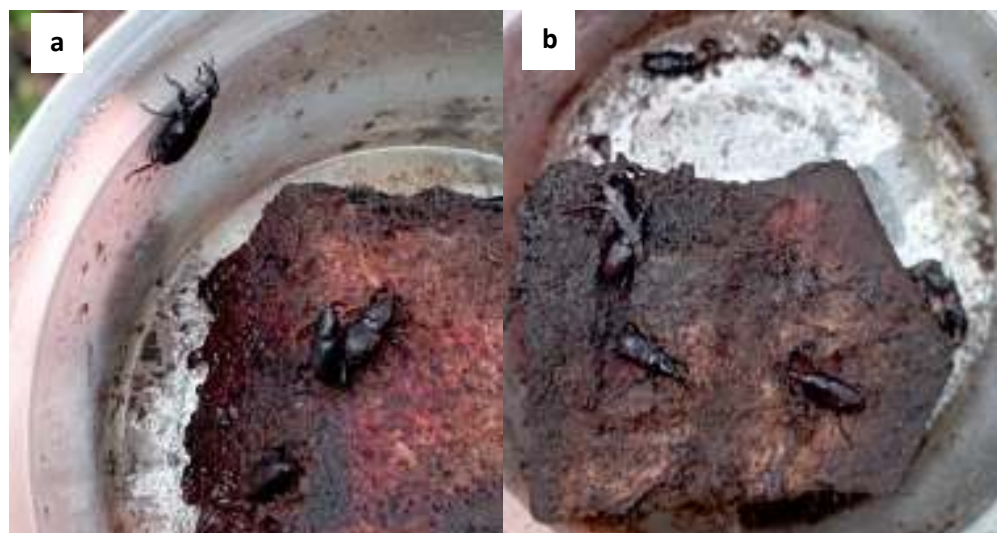


**Fotos 5.- 5a y 5b)** Clasificación y llenado de los atomizadores con los aislados en las concentraciones respectivas

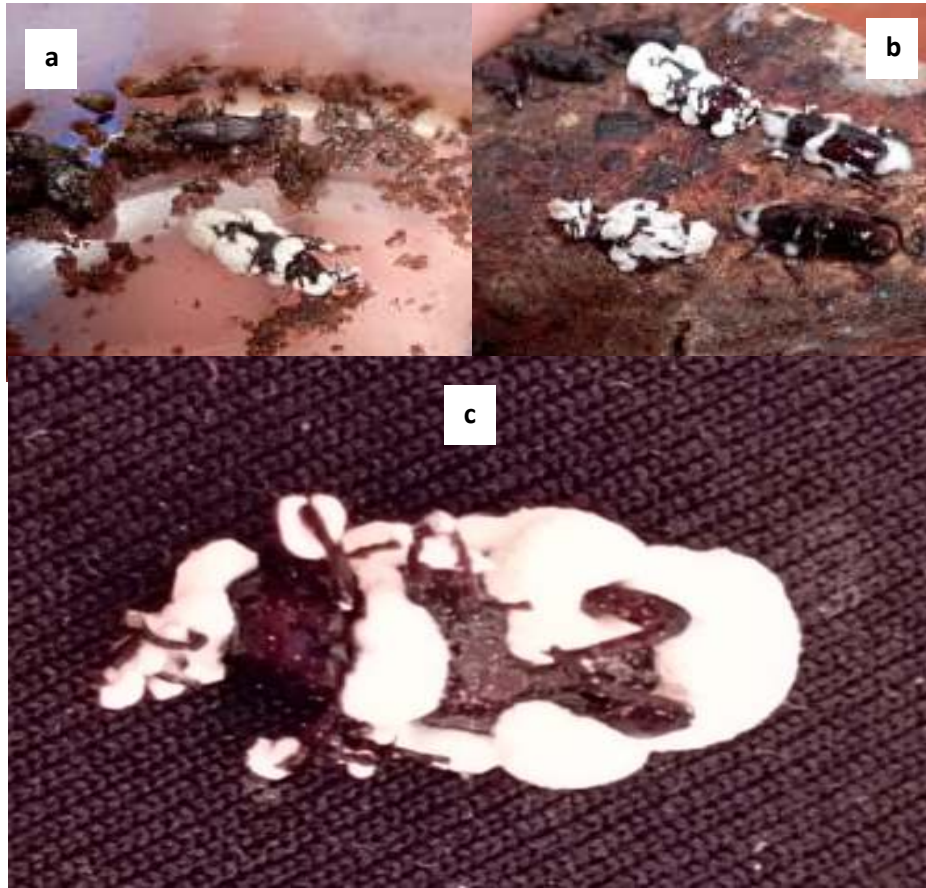
## ANEXOS 2. \_ Instalación del experimento



*Fotos 6.- 6a, 6b y 6c) Insectos vivos en sus unidades experimentales mientras se aplica el respectivo tratamiento*



*Fotos 7.- 7a y 7b) Monitoreo de los insectos dentro de las unidades experimentales en la toma de datos*



*Fotos 8. - 8a, 8b y 8c) Insectos con micelio del hongo*



## ANEXOS 3. \_ Base de dato de los resultados

Movilidad de insectos inoculados (MII)													
Ambiente 1 (campo)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	0	0	0	5	6	10	18	31	33	33
T2	A1D1	0	0	0	3	5	10	12	19	30	38	38	40
T3	A1D2	0	0	3	3	5	10	17	28	31	37	45	47
T4	A1D3	0	0	3	7	15	20	28	36	55	58	58	60
T5	A2D1	0	0	0	0	15	15	18	29	44	58	58	60
T6	A2D2	0	0	3	7	10	15	25	34	42	44	45	47
T7	A2D3	0	0	5	10	15	20	33	41	49	58	58	60
T8	A3D1	0	0	6	8	9	20	23	25	32	40	41	42
T9	A3D2	0	0	3	7	10	20	23	30	56	63	64	67
T10	A3D3	0	0	5	17	25	31	38	44	68	69	78	87
Ambiente 2 (laboratorio)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	0	3	5	5	12	13	20	24	37	40
T2	A1D1	0	1	2	2	8	13	17	29	42	44	45	47
T3	A1D2	0	0	0	10	23	42	44	47	55	58	64	67
T4	A1D3	0	0	8	17	29	31	40	58	62	63	64	73
T5	A2D1	0	2	8	22	29	37	45	52	62	65	70	73
T6	A2D2	0	0	0	10	23	38	44	47	62	63	71	73
T7	A2D3	0	0	5	15	19	25	44	49	63	75	78	80
T8	A3D1	0	0	3	10	19	31	50	52	62	63	64	73
T9	A3D2	0	0	5	16	25	36	38	41	56	58	71	73
T10	A3D3	0	0	5	15	23	30	36	45	75	77	83	93

*Registro de información de campo con los datos de incidencia del hongo*

Porcentaje de insectos con micelio (PICM)													
Ambiente 1 (campo)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	A1D1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	A1D2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
T4	A1D3	0	0	0	0	0	0	0	0	8	9	10	20
T5	A2D1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T6	A2D2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
T7	A2D3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	17	23
T8	A3D1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T9	A3D2	0	0	0	0	0	0	5	8	8	28	29	37
T10	A3D3	0	0	0	0	0	0	5	8	21	28	36	43
Ambiente 2 (laboratorio)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	A1D1	0	0	2	4	5	7	8	10	10	12	13	13
T3	A1D2	0	0	8	18	29	35	38	42	42	44	53	53
T4	A1D3	0	0	8	18	25	28	32	46	48	50	53	53
T5	A2D1	0	0	8	18	21	24	32	42	42	44	45	47
T6	A2D2	0	0	9	17	21	28	32	35	48	50	53	53
T7	A2D3	0	0	2	3	13	22	34	46	49	75	80	80
T8	A3D1	0	0	0	5	9	24	26	31	36	50	53	53
T9	A3D2	0	0	0	3	21	24	26	31	36	50	53	53
T10	A3D3	0	0	2	5	13	22	34	46	49	75	80	80

*Registro de información de campo con los datos de insectos con micelio*

Porcentaje de mortalidad (PM)													
Ambiente 1 (campo)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	1	2	3	8	17	23	23	31	33	33
T2	A1D1	0	0	1	2	8	18	21	23	27	48	55	53
T3	A1D2	0	0	1	10	18	21	25	28	32	47	61	60
T4	A1D3	0	0	1	6	13	27	38	43	55	63	71	73
T5	A2D1	0	0	1	4	11	21	25	34	55	67	68	67
T6	A2D2	0	0	1	4	13	21	26	40	42	50	61	60
T7	A2D3	0	0	1	6	8	19	42	53	62	69	71	73
T8	A3D1	0	0	1	4	5	5	13	15	18	31	33	33
T9	A3D2	0	0	0	4	8	8	21	43	55	61	68	73
T10	A3D3	0	0	3	12	38	53	56	58	75	82	83	100
Ambiente 2 (laboratorio)													
Tratamientos		Días después de la inoculación (DDI)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1	Testigo	0	0	0	2	3	5	17	31	45	70	75	80
T2	A1D1	0	0	1	12	26	40	50	53	62	75	78	87
T3	A1D2	0	0	4	12	26	34	42	53	55	67	74	80
T4	A1D3	0	0	4	19	38	53	62	63	75	75	83	87
T5	A2D1	0	0	1	12	26	34	43	48	62	76	77	87
T6	A2D2	0	0	3	6	19	40	50	53	68	69	71	73
T7	A2D3	0	0	3	19	33	40	56	58	68	75	83	93
T8	A3D1	0	1	4	19	33	34	43	47	58	76	77	87
T9	A3D2	0	0	1	6	13	27	50	53	55	69	71	73
T10	A3D3	0	1	4	19	38	53	62	63	75	82	89	93

*Registro de información de campo con los datos de mortalidad*