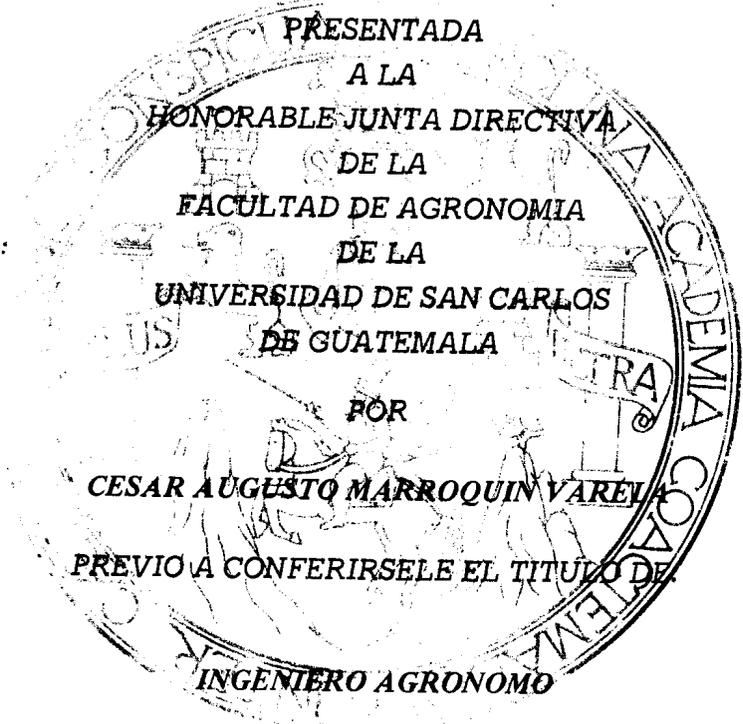


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

*"EVALUACION DE RANGO DE HOSPEDANTES, MEDIOS
DE CULTIVO, LUZ Y TEMPERATURA PARA LA
REPRODUCCION DEL ENTOMOPATOGENO
METARRHIZIUM SP. IN VITRO".*

TESIS



PRESENTADA
A LA
HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
DE LA
FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA
POR
CESAR AUGUSTO MARROQUIN VARELA
PREVIO A CONFERIRSELE EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO ACADEMICO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1,984

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

D.L.
D.
T(769)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

DR. EDUARDO MEYER MALDONADO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr. Oscar René Leiva R.
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Gustavo A. Méndez G.
VOCAL TERCERO:	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
VOCAL CUARTO:	Prof. Heber Arana Quiñónez
VOCAL QUINTO:	Prof. Leonel Arturo Gómez
SECRETARIO	Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez P.

TRIBUNAL QUE REALIZO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO:	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Lauriano Figueroa Q.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Ricardo Miyares
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Maynor Estrada
SECRETARIO:	Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez P.



Referencia
Asunto
.....

FACULTAD DE AGRONOMIA
Ciudad Universitaria, Zona 12.
Apartado Postal No. 1545
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala, 16 de noviembre de 1984

Señor
Ing. Agr. César Castañeda Salguero
Decano de la Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad Universitaria, Zona 12
Guatemala

Señor Decano:

En base a la designación hecha por esa decanatura, me permito informarle que procedí a asesorar y a revisar el escrito del trabajo de tesis "EVALUACION DE RANGO DE HOSPEDANTES, MEDIOS DE CULTIVO, LUZ Y TEMPERATURA PARA LA REPRODUCCION MASIVA DEL ENTOMOPATOGENO METARRHIZIUM SP. IN VITRO"., desarrollado por el universitario CESAR AUGUSTO MARROQUIN VARELA Carnet 79-10135.

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

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

Atentamente,


Ing. Agr. Msc. Lauriano Figueroa Q.
PROFESOR ADJUNTO I
Sub-Area Protección de Plantas

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1646

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

19 de noviembre de 1984

Ingeniero
César A. Castañeda S.
Decano Facultad de Agronomía
Presente

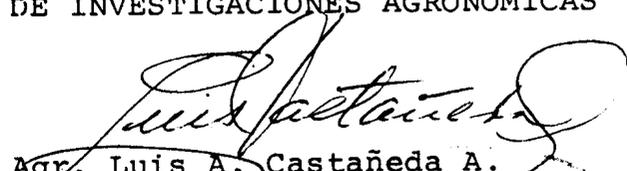
Señor Decano:

Por este medio informo a usted, que he revisado la tesis del estudiante CESAR AUGUSTO MARROQUIN VARELA, carnet número 79-10135, titulada: "EVALUACION DE RANGO DE HOSPEDANTES, MEDIOS DE CULTIVO, LUZ Y TEMPERATURA PARA LA REPRODUCCION MASIVA DEL ENTOMOPATOGENO METARRHIZIUM SP. IN VITRO", la cual lleva todos los requisitos estipulados por las normas para la planificación, ejecución y presentación de la investigación de tesis de grato en la Facultad de Agronomía.

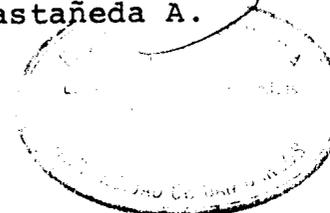
Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS


Ing. Agr. Luis A. Castañeda A.
Director

LACA/tdev.



Honorables miembros
Junta Directiva
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

De conformidad a los requisitos establecidos por la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas, tengo el honor de poner a la consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

"Evaluación de rango de hospedantes,
medios de cultivo, luz y temperatura
para la reproducción masiva del ento-
mopatógeno Metarrhizium sp. in vitro".

Atentamente,



César Augusto Marroquín Varela

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

***AGUSTIN MARROQUIN ZEPEDA
GABRIELA VARELA DE MARROQUIN***

A MIS HERMANOS

***SONIA LETICIA
MIRIAM ARACELY
BYRON ROMEO
OTONIEL
HELMER OBDULIO***

A MIS FAMILIARES

A MIS AMIGOS

TESIS QUE DEDICO

A MIS PADRES

AGUSTIN MARROQUIN ZEPEDA

GABRIELA VARELA DE MARROQUIN

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. MSc. Lauriano Figueroa Quiñóñez por su interés y dedicación en la asesoría y colaboración para la elaboración de esta tesis.

Al Sr. Filadelfo Vásquez por el excelente trabajo de fotografía.

A los Ing. Agr. Oswaldo López Muñoz, Otoniel Chavarría, Otoniel Chacón, Luis Saravia y a la señorita Rossina Figueroa por su valiosa colaboración.

A los Ing. Agr. José Antonio De León R. y Mario Francisco Chonay por el interés y colaboración prestada en la realización del trabajo.

A los Ing. Agr. Amílcar Gutiérrez, Edil Rodríguez, Domingo Amador y Ronald Estrada, por sus valiosas recomendaciones.

CONTENIDO

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
3. OBJETIVOS	3
4. HIPOTESIS	4
5. REVISION DE LITERATURA	5
6. MATERIALES Y METODOS	13
6.1 Localización del estudio	13
6.2 Prueba de patogenicidad del hongo <u>Metarrhizium</u> sp. en 23 especies plaga .	13
6.3 Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva . . .	15
6.4 Influencia de la luz y temperatura en la esporulación del hongo	16
7. RESULTADOS	18
7.1 Prueba de patogenicidad del hongo sobre las 23 especies plaga de insectos y arácnidos inoculados	18
7.2 Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva . . .	20
7.3 Influencia de la luz y la temperatura en la esporulación del hongo	20
8. DISCUSION DE RESULTADOS	23
9. CONCLUSIONES	25
10. RECOMENDACIONES	26
11. BIBLIOGRAFIA	27
12. APENDICE	30

INDICE DE CUADROS

	Página
CUADRO 1: Nombre común, nombre científico, lugar de recolección y estados del insecto inoculados con el hongo <i>Metarrhizium sp.</i>	14
CUADRO 2. Efecto de la inoculación de <i>Metarrhizium sp.</i> en 23 especies plaga bajo condiciones de laboratorio	19
CUADRO 3. Producción de esporas ($\times 10^6$)/cc del hongo <i>Metarrhizium sp.</i> a tres diferentes temperaturas, con luz y oscuridad en cinco medios de cultivo	20
CUADRO 4: Análisis de varianza del número de esporas/cc del hongo <i>Metarrhizium sp.</i> por efecto de la luz, temperatura y medios de cultivo	21
CUADRO 5. Comparación de medias del número de esporas/cc del hongo <i>Metarrhizium sp.</i> en cinco diferentes medios de cultivo, tres temperaturas, con luz y oscuridad	22

EN APENDICE

CUADRO 1: Principales reportes de insectos controlados con <i>Metarrhizium sp.</i> . . .	30
--	----

INDICE DE FOTOS

FOTO 1: Esporas del hongo <i>Metarrhizium sp.</i>	34
FOTO 2: <i>Trichoplusia ni</i> , en sus estados de larva, pupa y adulto, parasitados por el hongo <i>Metarrhizium sp.</i>	34
FOTO 3: <i>Metarrhizium sp.</i> parasitando <i>Cholus sp.</i> en estado adulto	35
FOTO 4: <i>Metarrhizium sp.</i> parasitando <i>Apion godmani</i> en estado adulto.	35

1. RESUMEN

El Control Biológico de insectos, como componente del Control Integrado de plagas, constituye un método de sustitución del Control Químico de los mismos, con el cual se contribuye a la fitosanidad de los cultivos en el país, al aliviar el problema de las aplicaciones "tipo calendario" que antes de 1960 eran muy comunes en nuestro medio.

En Guatemala, se carece de información sobre el hongo entomopatógeno *Metarrhizium sp.*, el que ha sido consignado como un excelente agente de control de plagas en otros países como Brasil, Venezuela, Colombia, México, Costa Rica, Puerto Rico, USA, Rusia, etc.

El presente trabajo tuvo por finalidad: a) determinar el rango de hospedantes susceptibles al entomopatógeno dentro de 23 especies plaga, b) determinar el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva, mediante el uso de productos no elaborados como lo son los granos básicos que existen en cualquier época del año en el país, y c) determinar la influencia de la luz y la temperatura en la esporulación de *Metarrhizium sp.* en la producción masiva en laboratorio.

Para lograr tales objetivos se incrementó el inóculo procedente de Colombia, en tubos de ensayo con PDA. Luego se utilizó arroz, maíz quebrado, trigo, sorgo y cebada precocidos en frascos erlenmeyer de 125 cc de capacidad, conteniendo cada uno 30 g de medio, esterilizados por 30 minutos a 120°C en autoclave. Posteriormente en la cámara aséptica se hizo la siembra del hongo respectiva, y, durante 20 días se observaron los frascos, teniendo cuatro repeticiones para cada medio, de los cuales dos estuvieron cubiertos totalmente con papel aluminio, y dos sin tapar; además las temperaturas evaluadas fueron de 22, 26 y 30°C.

Se recolectaron especímenes sanos de las siguientes plagas de insectos, en estado de larva y/o adulto: chinche salivosa (*Aenolamia postica*), gusano trozador o nochero *Agrotis sp.*, zancudo (*Anopheles sp.*), picudo del chile (*Anthonomus eugenii*), picudo del algodón (*A. grandis*), áfidos del rosal (*Aphis sp.*), picudo de la vaina del frijol (*Apion godmani*), mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*), picudo del cardamomo (*Cholus sp.*), tortugui-

llas (*Diabrotica* sp.), barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*), gusano peludo (*Estigmene acrea*), conchuela mexicana del frijol (*Epilachna varivestis*), cornudo del tabaco (*Manduca sexta*), gallina ciega (*Melolontha* sp.), mosca común (*Musca doméstica* L.), cucaracha (*Periplaneta americana*), gusano de la col (*Pieris brassicae*), gallina ciega (*Phyllophaga* sp.), gusano soldado (*Spodoptera exigua*), gusano cogollero (*S. frugiperda*), araña roja (*Tetranychus* sp.), y gusano falso medidor (*Trichoplusia nii*). Se colocaron 10 insectos por cada caja de petri estéril, con cuatro repeticiones, se inocularon con una concentración de 2.1×10^6 esporas/cc, depositando cinco gotas de la suspensión sobre cada insecto, mientras que al tratamiento testigo se les depositó agua estéril.

Se estableció que el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva es el arroz a una temperatura de 26 a 30°C, siguiendo en importancia el maíz quebrado y luego indistintamente el trigo, sorgo y cebada.

De las 23 especies plaga probadas, se encontró que áfidos del rosal (*Aphis* sp.), picudo del cardamomo (*Cholus* sp.), zancudos (*Anopheles* sp.), picudo de la vaina del frijol (*Apion godmani*) en estado adulto, y larvas de gusano falso medidor (*Trichoplusia nii*), picudo del chile (*Anthonomus eugenii*), picudo del algodón (*A. grandis*) y del barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*) presentaron un porcentaje de parasitismo arriba del 80o/o.

No se encontró efecto significativo entre luz y oscuridad en la esporulación del entomopatógeno.

2. INTRODUCCION

El control de plagas de insectos, depende en la mayoría de los casos únicamente de plaguicidas químicos.

El uso excesivo de insecticidas para controlar las plagas de insectos ha perturbado el equilibrio biológico de los cultivos, al matar a sus enemigos naturales lo cual conlleva su desaparición, aparición de plagas secundarias acumulación de residuos tóxicos en agua, plantas, suelo y animales. Por ello, el interés en insecticidas microbiológicos se ha incrementado.

El sistema de Control Integrado ha venido a aliviar el problema de las aplicaciones "tipo calendario" que antes de 1960 era muy común en nuestro medio con perturbaciones graves del ecosistema produciendo resistencia en las plagas, contaminación ambiental, degradación de la vida silvestre, residuos de plaguicidas en alimentos y aumento de costos de producción con mermas en los rendimientos de cultivos.

En Guatemala el Control Integrado se está incrementando, con miras a un eficiente control de plagas que se conceptualice como un proceso dinámico tendiente a mejorar el habitat del ser humano, mediante el mayor aprovechamiento de los recursos naturales, introduciendo agentes externos de manera racional y perfectamente justificados para optimizar la producción.

El Control Biológico de insectos, constituye un método de sustitución del Control Químico de los mismos, empleándose así como un valioso componente en el control integrado de plagas, con lo cual se contribuye a la fitosanidad de los cultivos en el país.

*El hongo entomopatógeno **Metarrhizium sp.** es uno de los más frecuentes y más importantes en el Control Biológico de las plagas en otros países, sin embargo, en nuestro medio no se han efectuado estudios para poderse utilizar en los programas de manejo integrado, por lo que se planteó la realización de la presente investigación con los siguientes objetivos.*

3. OBJETIVOS

- a. *Determinar si **Metarrhizium sp.** parasita las 23 especies plaga de insectos y arácnidos de Guatemala.*
- b. *Determinar el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno **Metarrhizium sp.**, mediante el uso de productos no elaborados como lo son los granos básicos que existen en cualquier época del año en el país.*
- c. *Determinar cómo influye la luz y la temperatura en la esporulación de **Metarrhizium sp.** en la producción masiva en laboratorio.*

4. HIPOTESIS

- a. *Las 23 especies de insectos y arácnidos a evaluar son igualmente susceptibles al entomopatógeno Metarrhizium sp.*
- b. *Todos los medios de cultivo a evaluar son indistintamente adecuados para la reproducción masiva del entomopatógeno Metarrhizium sp.*
- c. *La esporulación del entomopatógeno Metarrhizium sp. se ve afectada por la luz y la temperatura.*

5. REVISION DE LITERATURA

En la actualidad, se han encontrado 1165 microorganismos relacionados con insectos, casi todos son patógenos en los mismos. Este total comprende 90 especies y variedades de bacterias, 260 especies de virus y rickettsias, 460 especies de hongos, 225 especies de protozoarios y 100 especies de nemátodos. Los hongos entomopatógenos se presentan en las cuatro clases: Ficomícetos, Ascomícetos Basidiomicetos y Deuteromicetos o Fungi Imperfecti (5,14,18).

Los hongos entomopatógenos, de manera general, son capaces de producir estados sumamente resistentes para asegurar su sobrevivencia durante períodos de condiciones desfavorables en el medio ambiente, y son capaces de diseminarse rápidamente en una población de insectos debido a liberaciones naturales de masas de esporas acarreadas por el viento (4).

Las posibilidades de usar hongos entomopatógenos como *Metarrhizium* sp. para el control de plagas de insectos fueron considerados por primera vez en la última parte del siglo XIX (4) y actualmente está siendo muy utilizado en distintos países como Brasil (3,6,11, 16), Venezuela (11,20), Costa Rica (5,14), USA (17), Nueva Zelanda (17), México (13), etc., y de igual manera podría ser utilizado en Guatemala con resultados positivos.

La muscardina verde fungosa fué descubierta por Metschnikoff en 1879, infectando larvas del escarabajo gallo del trigo, *Anisoplia austriaca* Hbst, (4,11,16).

Inicialmente Metschnikoff propuso el nombre de *Entomophthora anisopliae*, posteriormente Cienkowsky propuso el nombre de *Isaria destructor*.

Después de una serie de controversias con la proposición de diversos sinónimos, y por tratarse de un hongo imperfecto, prevaleció el nombre inicial, siendo actualmente conocido por *Metarrhizium anisopliae* (Metschn) Sorokin (1883).

En resumen la historia de la nomenclatura del hongo es:

- Nombre válido: **Metarrhizium anisopliae** (Metschnikoff) Sorokin (1883)
 Parónimo: **Entomophthora anisopliae** Metschnikoff (1879)
 Sinónimos: **Isaria destructor** Metschnikoff (1880)
Oospora destructor Delacroix (1893)
Isaria anisopliae (Metschnikoff) Petit (1895)
Penicillium anisopliae (Metschnikoff) Vuill Lemin (1904)
Metarrhizium album Petch. (1931)
Metarrhizium brunneum Petch. (1934) (11,16).

La clasificación más aceptada de **Metarrhizium** sp. es:

Superreino	Eukaryonta
Reino	Myceteae
División	Amastigomycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Deuteromycetes
Subclase	Hyphomycetidae
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	Metarrhizium
Especie	sp.

Metarrhizium sp. tiene una posición taxonómica cercana a **Penicillium** en la familia **Moniliaceae**. Comprende las especies **album**, **anisopliae**, **brunneum** y **glutinosum**. **Metarrhizium anisopliae** se caracteriza por sus esporas de 5 a 7.5 micras de largo y 2.3 a 3.7 micras de ancho. Rhada et al. indican que existe variación en las dimensiones de las esporas: unas largas cuyas dimensiones varían entre 10.6 a 12 micras y otras cortas con dimensiones entre 3.5 a 8 micras. El color verde de sus esporas y la apariencia característica de las larvas muertas por un ataque de **M. anisopliae** le ha valido el nombre de "muscardina verde". El color verde de sus esporas no es característico de todas las especies del género **Metarrhizium**: **M. album** Petch., patógeno de salta hojas en Ceil-an, son de color blanco; **M. brunneum**, patógeno de cicadélidos de las Islas Filipinas, son amarillo-café y **M. glutinosum** las presenta verde

oliváceas o negro oliváceas (5,14,16).

Metschnikoff estudió la enfermedad y vislumbró su uso práctico en el control de los insectos. También apreció una evidencia de la importancia de las epizotias naturales en la reducción de las poblaciones de insectos.

Desde su descubrimiento se han encontrado un gran número de insectos infectados con *Metarrhizium*, —hasta 75 especies sólo en Norteamérica— (4).

Veen (1968) dice que el rango de hospedantes excede de 200 especies (7). Dicho hongo está distribuido en casi todo el mundo, y fué aislado en por lo menos 46 países, inclusive Brasil (11).

De acuerdo con Steinhilber (1956), el primer intento exitoso, por Metschnikoff y Krassiltschik, para producir en forma masiva un patógeno de insectos fué con el hongo *Metarrhizium anisopliae* (Metsch) Sor. (4,16).

En 1879, el ruso Metschnikoff, conduce el primer experimento significativo en la destrucción de insectos dañinos con microorganismos, por infección de larvas del insecto *Anisoplia austriaca* con el hongo *Metarrhizium anisopliae* (7,16).

Krassiltschik en 1886 y 1888 en Rusia usó *M. anisopliae* en el control del curculiónido de la remolacha azucarera, *Cleonus punctiventris*, indicando una mortalidad entre el 50 al 80% (4,5,16,17).

Gough en Trinidad y Tobago, Rorer en 1910 y 1913 y Williams en 1921 reportan el uso de *M. anisopliae* contra *Tomaspis saccharina* (*Aeneolamia varia saccharina*) (11,16).

En Brasil, en 1969, fueron encontradas ninfas y adultos de *Mahanarva posticata* parasitadas por *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin 1883, el cual fue posteriormente aislado. Empleando técnicas apropiadas y usando como medio de cultivo arroz cocido, fue posible producir una mayor cantidad del hongo, proporcionando una primera aplicación en cañales de la Estación Experimental de Productores de Azúcar, en Cabo, Estado de Pernambuco (6,9,11).

Para la producción del hongo en gran escala, actualmente se usa "arroz cocido" como medio de cultivo, acondicionando en recipientes de vidrio tipo soro, con capacidad de 500 cc siendo también usados sacos de propileno.

Ambos materiales soportan bien la operación de autoclave a 120°C por 30 minutos, y usaron PDA para el aislamiento inicial (3,6).

Berrios Escoria (5) y Del Pozo Valdéz (14) reportan el uso de *Metarrhizium anisopliae* como insecticida biológico en el control de *Hypsipyla grandella* Zeller en Costa Rica en 1971.

Rodas Castañeda (11) encontró *M. anisopliae* como agente efectivo contra la chinche salivosa, *Aenolamia* sp. en Guatemala en 1981.

En apéndice, se reportan todos los insectos que han sido controlados en distintos años y países por *Metarrhizium anisopliae*.

La sintomatología de la micosis en insectos por *Metarrhizium* sp. reportado por Berrios Escoria (5), Del Pozo Valdez (14) y Guagliumi et. al. (11) son:

1. Cambios de conducta: pérdida del apetito, apatía, movimientos débiles y desacomodados debido a parálisis parciales finalmente la larva pierde el reflejo de enderezamiento permaneciendo encorvada.
2. Decoloración: los cambios de color que ocurren en insectos atacados pueden deberse al color del mismo hongo, o a pigmentos que éste produce.
3. Cambios de estructura interna y externa: al penetrar el hongo en el hospedante perfora las membranas intersegmentarias del abdomen, las hifas invaden además del tejido adiposo, los sistemas musculares y nerviosos, la presencia del propio hongo llenando el cuerpo del hospedante da la característica rigidez post-mortal de la larva.
4. Alteraciones fisiológicas del insecto: aumento exagerado del consumo de oxígeno, pérdida de peso, histólisis producto de la actividad enzimática. Estos síntomas se pueden presentar a un mismo tiempo o de modo sucesivo. En 4 a 7 días se

presenta la mayor mortalidad.

La palabra "muscardina" puede referirse a un tipo de enfermedades producido por ciertos hongos, o a los hongos en sí.

En estas enfermedades, el hongo emerge del cuerpo del insecto, cubriendo el animal con material fungoso característico, recordando en cierta forma, al bombón francés o menta dulce (muscardin French). La palabra se aplicó primero a la conocida enfermedad (muscardina blanca) del gusano de la seda, causada por el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. También ha sido usada para referirse a la enfermedad (muscardina verde) del escarabajo gallo del trigo *Anisoplia austriaca* y otros insectos, causada por *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (4).

La infección del hospedante por el hongo se lleva a cabo a través de la pared del tubo digestivo o bien a través del integumento, ocurriendo a menudo por ambas vías. Estudios histopatológicos de la acción de la "muscardina verde" en larvas de elatéridos (Coleoptera) revelan que la penetración ocurre directamente a través de la cutícula membranosa o esclerotizada, viéndose facilitada dicha penetración por mecanismos enzimáticos y presión mecánica. Ocasionalmente el hongo penetra en el hospedante a través de espiráculos (4,14).

Metschnikoff (1880) encontró que *M. anisopliae* podía crecer y esporular fácilmente en una solución azucarada, en gotas suspendidas pero que no podía reproducirse en grandes volúmenes líquidos. A. Werigo, un profesor de química de Odesa, Rusia, sugirió una masilla de cerveza como un medio para reproducción en gran escala y el experimento tuvo éxito.

Metschnikoff en su escrito de 1880 menciona el uso de frascos tapados con algodón o asbestos (4).

Metarrhizium glutinosum tiene buen crecimiento en nitratos y pobre crecimiento en amoníaco de nitrógeno, igualmente tiene pobre crecimiento en nitrato y sulfato de amonio (12).

Krassiltschik (1888) siguió los trabajos de Metschnikoff e informó que se necesi-

taban de 14 a 15 días entre la siembra y la cosecha, con una temperatura de 25°C. Se produjeron de 180 a 220 gramos de esporas por metro cuadrado de medio. Se necesitaban 8 Kg. de esporas para el control del curculiónido de la remolacha, *Cleonus punctiventris* Germ., en una hectárea de cultivo (4).

Los materiales no elaborados frecuentemente usados para el cultivo del tipo de hongos entomopatógenos son: el camote, la papa, harina de maíz, avena, amasijo de cerveza, aserrín, caldo de carne, carne de puerco, excrementos de perro, sangre, pez espada y arenque. Algunos técnicos han usado Sabouraud-dextrosa-agar pero es muy caro (4,11).

El arroz cocido ha sido muy usado por Rorer (1910, 1913) (5), Gough en 1911 (11), Berríos Escoria en 1971 (5), en Brasil desde 1969 hasta la fecha (3,6,8,10,11) en México en 1981 (13) etc. El arroz fue adecuadamente lavado y cocido por 10 a 15 minutos, se secó y colocó aún caliente en vasos de cultivo y se metió al autoclave por espacio de una hora a 100°C por 3 o 4 días sucesivos.

Platos circulares de hojalata y platos de hojalata para pudín fueron usados por Gough en 1911 en la preparación del cultivo de arroz (5).

Metarrhizium anisopliae crece en forma rápida en medio artificial, su crecimiento y germinación son promovidos por la alta humedad y el calor.

En condiciones de laboratorio, temperaturas entre 24 y 26°C son óptimas para el crecimiento, siendo el rango normal de desarrollo entre 10 y 30°C. Se ha determinado que la germinación se lleva a cabo a temperaturas entre 10 y 35°C, ocurriendo la más rápida germinación entre 25 y 30°C en un tiempo de 4 días (5,11,13,14,16).

Walstad y asociados determinaron que a 8°C las esporas permanecen viables por lo menos 12 meses, pero a 21°C las esporas sobreviven por un período de 2.5 meses. Otros experimentos similares han concluido que la longevidad de las conidias de *M. anisopliae* decrece a medida que la temperatura de almacenamiento se incrementa de 8 a 25°C.

La longevidad también es reducida por la acción de la luz visible; la máxima sobrevivencia se obtiene a 8°C en oscuridad y a 75% de humedad relativa, existiendo aún el

75o/o de esporulación a los 455 días.

Para el crecimiento normal requiere un pH entre 4.7 a 10.0, siendo el pH optimo entre 6.9 y 7.4 (5,12,14,16).

Trabajos efectuados en Oficina Central Barreiros, en Pernambuco, Brasil, permiten evaluar los perjuicios ocasionados por **Mahanarva posticata** en plantas de caña de azúcar, considerando una pérdida de 17.5o/o en rendimiento industrial, en áreas que soportaban una infestación alrededor de 0.7 adultos/tallo de caña.

Tomándose valores medios de producción agrícola y rendimiento industrial, tenemos 4000 Kg de azúcar/ha en Pernambuco. Atribuyéndose el perjuicio de pérdidas industriales citado, se estima para el estado una pérdida de 700 kg de azúcar/ha, que corresponde a Cr\$12,691.00 (aproximadamente unos \$100.00 dólares), en función de la densidad de infestación.

Además de las cigarrías, fueron encontradas parasitadas por el hongo otros insectos dañinos a la caña de azúcar, tales como **Diatraea sp.**, **Metamasius hemipterus**, **Spodoptera Frugiperda** y **Cirphis sp. (6)**.

Como puede apreciarse en la revisión anterior, el hongo del género **Metarrhizium** podría constituir una opción de control de plagas en Guatemala; sin embargo, el arroz es más caro que otros sustratos disponibles en nuestro medio.

No se encontró en la literatura el efecto que puede tener la luz en la esporulación. Tampoco se sabe sobre la patogenicidad de este hongo sobre algunos de los principales insectos plaga en Guatemala.

Por lo anteriormente expuesto, se planteó la realización del presente estudio, con los objetivos ya descritos.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 *Localización del estudio:*

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

6.2 *Prueba de patogenicidad del hongo Metarrhizium sp. en 23 especies plaga:*

El aislamiento inicial del hongo lo proporcionó la Doctora Rodríguez Fárquez de Colombia. De aquí se incrementó el inóculo en PDA, usando para ello tubos de ensayo mantenidos en incubadora a 29°C.

Posteriormente se recolectaron especímenes sanos de las principales plagas de insectos en Guatemala (cuadro 1).

Se inoculó en los estados de larva y/o adulto debido a que es en esos estados cuando ocasionan los mayores daños y además por la imposibilidad de obtener todos los estados del ciclo de vida de los insectos mencionados.

Se colocaron 10 ejemplares en cada caja de petrí estéril, con cuatro repeticiones, se les proporcionó alimento, calor y humedad apropiada y con una jeringa hipodérmica estéril se les agregó cinco gotas de la suspensión fúngica 2.1×10^6 esporas/cc a cada ejemplar. Durante 15 días se observó el comportamiento y después se determinó si hubo crecimiento del hongo en el cuerpo del insecto, lo cual dió positiva la prueba en los insectos que lo manifestaron.

Los insectos tratados se mantuvieron en laboratorio a temperatura ambiente. A la vez, de cada especie evaluada se tomaron 40 individuos como testigos a los que se les agregó cinco gotas de agua estéril a cada uno.

Finalmente, los insectos que presentaron el hongo se ocuparon para realizar montajes y corroborar así que se trató del hongo *Metarrhizium sp.* En cada especie se determinó el porcentaje de parasitismo obtenido.

CUADRO 1: NOMBRE CIENTIFICO, NOMBRE COMUN, LUGAR DE RECOLECCION Y ESTADOS DEL INSECTO INOCULADOS CON EL HONGO METARRHI-ZIUM SP. GUATEMALA, 1984.

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	LUGAR RECOLECCION	ESTADO INSECTO
<i>Aenolamia postica</i>	Chinche salivosa	Bárcenas, V.N.	Adulto
<i>Agrotis sp.</i>	Gusano trozador	Barcenas, V.N.	Larva
<i>Anopheles sp.</i>	Zancudo	Ciudad capital	Adulto
<i>Anthonomus eugenii</i>	Picudo del chile	Bárcenas, V.N.	Larva, adulto
<i>Anthonomus grandis</i>	Picudo algodón	Escuintla	Larva, adulto
<i>Aphis sp.</i>	Afidos del rosal	Ciudad capital	Adulto
<i>Apion godmani</i>	Picudo vaina frij.	Bárcenas, V.N.	Adulto
<i>Ceratitis capitata</i>	Mosca del medit.	Ciudad capital	Adulto
<i>Cbolus sp.</i>	Picudo cardamomo	Retalhuleu	Adulto
<i>Diabrotica sp.</i>	Tortuguilla	Barcenas, V.N.	Adulto
<i>Diatraea saccharalis</i>	Barrenador caña a.	Escuintla	Larva
<i>Estigmene acrea</i>	Gusano peludo	Ciudad capital	Larva
<i>Epilachna varivestis</i>	Conchuela mex. fr.	Chimaltenango	Adulto
<i>Manduca sexta</i>	Cornudo tabaco	Bárcenas, V.N.	Larva
<i>Melolontha sp.</i>	Gallina ciega	Bárcenas, V.N.	Larva, adulto
<i>Musca doméstica L.</i>	Mosca común	Ciudad capital	Adulto
<i>Periplaneta americana</i>	Cucaracha	Ciudad capital	Adulto
<i>Pieris brassicae</i>	Gusano de la col	Bárcenas, V.N.	Larva
<i>Phyllophaga sp.</i>	Gallina ciega	Bárcenas, V.N.	Larva
<i>Spodoptera exigua</i>	Gusano soldado	Ciudad capital	Larva
<i>Spodeoptera frugiperda</i>	Gusano cogollero	Santa Rosa	Larva
<i>Tetranychus sp.</i>	Araña roja	Ciudad capital	Adulto
<i>Trichoplusia nii</i>	Gusano falso med.	Ciudad capital	Larva

6.3 *Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva:*

Para determinar el medio más efectivo y más barato para la reproducción masiva del entomopatógeno *Metarrhizium sp.* se utilizaron frascos erlenmeyer de 125 cc de capacidad como unidad experimental, se usaron medios precocidos de maíz quebrado, trigo, sorgo, cebada y arroz, con cuatro repeticiones para cada tratamiento, de los cuales dos estaban totalmente cubiertos con papel aluminio para evaluar el efecto de la luz en la esporulación del hongo y dos sin tapar, los cuales se mantuvieron en incubadora.

Cada lote de frascos contenían medio cubierto con papel aluminio y descubierto, los que se evaluaron a 3 temperaturas: 22, 26 y 30°C.

A cada frasco se le agregó 30 g de medio precocido, tapados con algodón y papel aluminio, luego se esterilizaron por 30 minutos a 120°C y se llevaron a la cámara aséptica de aislamiento donde se procedió a la siembra del hongo, usando suspensiones de esporas en tubos con agua estéril, con una jeringa hipodérmica estéril se les agregó 1 cc de suspensión de concentración conocida a cada frasco, se agitaron y guardaron en incubadora según tratamientos descritos.

Todos los frascos se revisaron constantemente para evitar contaminaciones y a los 20 días después de la siembra se compararon crecimientos y esporulación del hongo, y con la ayuda de un hematócmetro se determinó el número de esporas/frasco. Para ello se agregó 1000 cc de agua estéril a cada frasco conteniendo 30 g de medio, se agitaron y guardaron.

Luego se procedió a tomar una alícuota con una micropipeta para hacer la inferencia del número de esporas/frasco y así finalmente se determinó cuál es el medio más adecuado, tomando en cuenta la producción de esporas/cc de suspensión y el precio que dicho medio tiene en el mercado nacional.

Los resultados se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial, cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ijklm} = U + \alpha_k + \beta_l + \rho_m + (\alpha\beta)_{kl} + (\alpha\rho)_{km} + (\beta\rho)_{lm} + (\alpha\beta\rho)_{klm} + E_{ijklm}$$

donde:

- Y_{jklm} = variable respuesta de la $jklm$ -ésima unidad experimental.
 U = efecto de la media general.
 α_k = efecto del k -ésimo tratamiento.
 β_l = efecto del l -ésimo tratamiento.
 γ_m = efecto del m -ésimo tratamiento.
 $(\alpha\beta)_{kl}$ = efecto del kl -ésimo tratamiento.
 $(\beta\gamma)_{lm}$ = efecto del lm -ésimo tratamiento.
 $(\alpha\gamma)_{km}$ = efecto del km -ésimo tratamiento.
 $(\alpha\beta\gamma)_{klm}$ = efecto del klm -ésimo tratamiento.
 E_{jklm} = error experimental de la $jklm$ -ésima unidad experimental.

También se compararon las medias (número de esporas/cc de suspensión) mediante la prueba de tukey al 50/o de significancia, usando como comparador:

$$W_p = q_{50/o}(30,30).S_x$$

donde:

30 grados de libertad del error.

30 número de medias a comparar.

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

6.4 Influencia de la luz y temperatura en la esporulación del hongo

Se evaluaron tres temperaturas: 22, 26 y 30°C y para evaluar el efecto de la luz se tuvieron cuatro frascos por medio, de los cuales dos estaban sin tapar y dos totalmente tapados con papel aluminio para cada temperatura.

Inicialmente se propuso evaluar el factor luz de la manera siguiente, dado que la incubadora usada no contaba con luz incorporada: se introdujo un foco de 25 watts en la misma, lo cual provocó un incremento muy grande de temperatura que inhibió totalmente el desarrollo del hongo. Esta práctica se realizó dos veces, obteniendo los mismos resultados; y no habiendo forma de controlar la temperatura con luz incorporada, se optó por realizar la prueba en la forma planificada, usando el papel aluminio para provocar oscuridad total.

La influencia de la luz y la temperatura en la esporulación del hongo, se determinó usando un diseño completamente al azar con arreglo factorial.

7. RESULTADOS

7.1 *Prueba de patogenicidad del hongo sobre las 23 especies plaga de insectos y arácnidos inoculados:*

Los insectos parasitados por el hongo (larvas y/o adultos) fueron observados durante 15 días. Los insectos muertos se pusieron en cajas de petri con papel filtro humedecido, donde se reconoció a los parasitados por su decoloración, turgidez y rigidez; además de que a las 24 horas de muertas aproximadamente, comenzó a emerger el micelio blanquecino, llegando a cubrir todo el cuerpo del insecto, tomando un color blanco uniforme al transcurrir el tiempo. Seguidamente al esporular el hongo, los insectos se transforman en su mayoría completamente en una masa de esporas que al final se desintegran con el más leve movimiento, confirmando de esta manera lo consignado por otros autores (5,11,14).

En el cuadro 2 se presentan los insectos inoculados, así como el porcentaje de parasitismo y días promedio en que el hongo se manifiesta.

En apéndice, se muestran fotografías de insectos parasitados por el hongo, bajo las condiciones del experimento.

El parasitismo de las plagas se expresa en porcentaje de individuos parasitados por el hongo. Todos los insectos parasitados por el hongo *Metarrhizium sp.* mueren.

CUADRO: EFECTO DE LA INOCULACION DE METARRHIZIUM SP. EN 23 ESPECIES PLAGA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO. GUATEMALA, 1984.

No.	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	ESTADO DEL INSECTO	INSECTOS INOCULADOS	INSECTOS PARASITADOS	o/o DE PARASITISMO.
1	<i>Aenolamia postica</i>	Chinche salivosa	adulto	40	0	0.0
2	<i>Agrotis sp.</i>	Gusano trozador	larva	40	0	0.0
3	<i>Anopheles sp.</i>	Zancudo	adulto	40	36/4*	90.0
4	<i>Anthonomus eugenii</i>	Picudo del chile	larva, adulto	40,40	40,13/6-8	100/32.5**
5	<i>Anthonomus grandis</i>	Picudo algodón	larva, adulto	40,40	40,19/8,20	100/47.5
6	<i>Aphis sp.</i>	Afidos del rosal	adulto	200	180/2-5	90.0
7	<i>Apion godmani</i>	Picudo vaina frij.	adulto	40	33/6-8	82.5
8	<i>Ceratitidis capitata</i>	Mosca del medit.	adulto	40	38/6-8	95.0
9	<i>Cbolus sp.</i>	Picudo cardamomo	adulto	40	34/15-20	85.0
10	<i>Diabrotica sp.</i>	Tortuguilla	adulto	40	3/15	7.5
11	<i>Diatraea saccharalis</i>	Barrenador caña a.	larva	40	40/8	100.0
12	<i>Estigmene acrea</i>	Gusano peludo	larva	40	0	0.0
13	<i>Epilacbna varivestis</i>	Conchuela mex. fri.	adulto	40	0	0.0
14	<i>Manduca sexta</i>	Cornudo tabaco	larva	40	0	0.0
15	<i>Melolontba sp.</i>	Gallina ciega	larva, adulto	40,40	0,0	0.0/0.0
16	<i>Musca doméstica L.</i>	Mosca común	adulto	40	0	0.0
17	<i>Periplaneta americana</i>	Cucaracha	adulto	40	0	0.0
18	<i>Pieris brassicae</i>	Gusano de la col	larva	40	4/10-15	10.0
19	<i>Phyllophaga sp.</i>	Gallina ciega	larva	40	0	0.0
20	<i>Spodoptera exigua</i>	Gusano soldado	larva	40	0	0.0
21	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Gusano cogollero	larva	40	0	0.0
22	<i>Tetranychus sp.</i>	Araña roja	adulto	40	0	0.0
23	<i>Trichoplusia nii</i>	Gusano falso med.	larva	40	39/8-10	97.5

* El denominador corresponde a los días después de inoculados en que se manifestó el hongo.

** El denominador corresponde a los porcentajes de parasitismo en estado adulto.

7.2 Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva

El resultado de las observaciones periódicas efectuadas durante 20 días a partir de la siembra de los frascos erlenmeyer, permitió determinar el mejor medio de cultivo y la mejor temperatura para la reproducción masiva del entomopatógeno. En el cuadro 3 se presenta la producción de esporas por temperatura, con luz y oscuridad.

CUADRO 3: PRODUCCION DE ESPORAS ($\times 10^6$)/CC DEL HONGO METARRHIZIUM SP. A TRES DIFERENTES TEMPERATURAS, CON LUZ Y OSCURIDAD EN CINCO MEDIOS DE CULTIVO. GUATEMALA, 1984.

TRATAMIENTOS	22°C		26°C		30°C	
	LUZ	OSCURIDAD	LUZ	OSCURIDAD	LUZ	OSCURIDAD
Arroz	2.05	1.90	2.25	2.20	2.30	2.25
Maíz quebrado	1.60	1.65	1.80	1.65	1.80	1.80
Trigo	0.78	0.80	0.90	1.08	0.96	0.95
Sorgo	0.92	0.86	0.92	0.89	1.05	0.94
Cebada	0.72	0.87	0.90	0.94	0.91	0.86

7.3 Influencia de la luz y la temperatura en la esporulación del hongo:

En el cuadro 3 se presenta la producción de esporas en las tres temperaturas evaluadas, en el cual se puede apreciar la variación existente y el efecto de la luz y la oscuridad.

El análisis de varianza de los resultados, efecto de la luz, temperatura y medios de cultivo, se presenta en el cuadro 4, en el que puede apreciarse que existe diferencia significativa entre la esporulación de los diferentes medios de cultivo evaluados, así como las temperaturas evaluadas, no existiendo ningún efecto entre la esporulación con la luz y oscuridad.

Asimismo, la comparación de medias del número de esporas/cc del hongo *Metarrhizium sp.* se indica en el cuadro 5.

CUADRO 4: ANALISIS DE VARIANZA DEL NUMERO DE ESPORAS/CC DEL HONGO METARRHIZIUM SP. POR EFECTO DE LA LUZ, TEMPERATURA Y MEDIOS DE CULTIVO. GUATEMALA, 1984.

FUENTES DE VARIACION G. DE L.		SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_C	$F_T 5\%$
TRATAMIENTOS	29	17.27827×10^{12}	0.59580×10^{12}	22.28*	1.85
Temperaturas	2	0.30776×10^{12}	0.15388×10^{12}	5.76*	3.32
Medios de cultivo	4	16.74832×10^{12}	4.18708×10^{12}	156.59*	2.69
Luz - oscuridad	1	1.81660×10^9	1.81660×10^9	0.07	4.17
TM	8	0.10116×10^{12}	0.01264×10^{12}	0.47	2.27
TL	2	3.96330×10^9	1.98417×10^9	0.07	3.32
ML	4	0.04927×10^{12}	0.01231×10^{12}	0.46	2.69
TML	8	0.06597×10^{12}	8.24640×10^9	0.31	2.27
ERROR	30	8.02150×10^{11}	2.67383×10^{10}		
TOTAL	59	18.08042×10^{12}			

* = indican diferencia significativa respecto a F_T .

Coeficiente de Variación = 12.44o/o.

En la determinación del mejor medio de cultivo, fue frecuente la contaminación por *Aspergillus flavus* y *A. niger* en los cinco medios evaluados, pero esto no fue ninguna limitante en la determinación del mismo. En el caso específico del maíz, se tuvo mucho problema de contaminación con una bacteria no identificada, la cual limita el uso del maíz quebrado en la reproducción masiva de *Metarrhizium sp.*

CUADRO 5: COMPARACION DE MEDIAS DEL NUMERO DE ESPORAS/CC DEL HONGO METARRHIZIUM SP. EN CINCO DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO, TRES TEMPERATURAS, CON LUZ Y OSCURIDAD. GUATEMALA, 1984.

TRATAMIENTOS	NUMERO PROMEDIO DE ESPORAS/CC
Arroz, luz, 30°C	2.30 x 10 ⁶
Arroz, oscuridad, 30°C	2.25 x 10 ⁶
Arroz, luz, 26°C	2.25 x 10 ⁶
Arroz, oscuridad, 26°C	2.20 x 10 ⁶
Arroz, luz, 22°C	2.05 x 10 ⁶
Arroz, oscuridad, 22°C	1.90 x 10 ⁶
Maíz, luz, 26°C	1.80 x 10 ⁶
Maíz, luz, 30°C	1.80 x 10 ⁶
Maíz, oscuridad, 30°C	1.80 x 10 ⁶
Maíz, oscuridad, 26°C	1.65 x 10 ⁶
Maíz, oscuridad, 22°C	1.65 x 10 ⁶
Maíz, luz, 22°C	1.60 x 10 ⁶
Trigo, oscuridad, 26°C	1.08 x 10 ⁶
Sorgo, luz, 30°C	1.05 x 10 ⁶
Trigo, luz, 30°C	0.96 x 10 ⁶
Trigo, oscuridad, 30°C	0.95 x 10 ⁶
Sorgo, oscuridad, 30°C	0.94 x 10 ⁶
Cebada, oscuridad, 26°C	0.94 x 10 ⁶
Sorgo, luz, 26°C	0.92 x 10 ⁶
Sorgo, luz, 22°C	0.92 x 10 ⁶
Cebada, luz, 30°C	0.91 x 10 ⁶
Trigo, luz, 26°C	0.90 x 10 ⁶
Cebada, luz, 26°C	0.90 x 10 ⁶
Sorgo, oscuridad, 26°C	0.89 x 10 ⁶
Cebada, oscuridad, 22°C	0.87 x 10 ⁶
Cebada, oscuridad, 30°C	0.86 x 10 ⁶
Sorgo, oscuridad, 22°C	0.86 x 10 ⁶
Trigo, oscuridad, 22°C	0.80 x 10 ⁶
Trigo, luz, 22°C	0.78 x 10 ⁶
Cebada, luz, 22°C	0.72 x 10 ⁶

Las medias con la misma letra son estadísticamente iguales al 50/o de significancia. El comparador $W_p = 0.20 \times 10^6$ esporas/cc.

8. DISCUSION DE RESULTADOS

Las pruebas de patogenicidad realizadas demostraron que las especies de *Anthonomus eugenii*, *A. grandis* y *Diatraea saccharalis* en estados de larva presentaron 100o/o de parasitismo, por lo que es una opción que se tendrá que evaluar en el campo para el control de estas plagas que son de mucha importancia en el cultivo del chile, algodón y caña de azúcar respectivamente.

En larvas de zancudos (*Anopheles* sp.) se observó una mortalidad total, sin embargo, el hongo no se desarrolló debido a que la prueba se realizó en el agua.

En las especies de *Aenolamia postica*, *Agrotis* sp., *Estigmene acrea*, *Epilachna varivestis*, *Manduca sexta*, *Melolontha* sp., *Musca domestica*, *Phyllophaga* sp., *Periplaneta americana*, *Spodoptera exigua*, *S. frugiperda* y *Tetranychus* sp. no presentaron ningún grado de susceptibilidad al entomopatógeno. Con el resto de especies evaluadas, se obtuvo buen porcentaje de parasitismo, excepto *Diabrotica* sp., y *Pieris brassicae*, que presentaron porcentajes de parasitismo muy bajos (7.5 y 10.0o/o respectivamente).

En la prueba con los áfidos del rosal (*Aphis* sp.), se observó que al segundo y/o tercer día de inoculados, los insectos caen totalmente momificados, y al colocarlos en papel absorbente húmedo manifiestan el hongo.

En el caso del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, que ha sido reportado por la literatura como susceptible al entomopatógeno en estudio (6), en este caso manifestó ser totalmente resistente al mismo, posiblemente debido a que se trata de una raza diferente del insecto, del hongo, o de ambos a la vez.

En la determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno, se concluye que es el arroz, a una temperatura de 26 a 30°C, ya que en este medio de cultivo y temperatura se obtuvo la esporulación más alta. El maíz quebrado también es muy bueno, pero lamentablemente se tuvo mucho problema de contaminación con una bacteria no identificada, posiblemente debido al método de quebramiento utilizado (piedra y martillo).

Los otros tres medios evaluados (sorgo, trigo y cebada) presentaron una esporulación baja respecto a los dos medios anteriormente mencionados.

Realizando un análisis económico de los medios evaluados, vemos que el arroz es más caro que el maíz (Q0.55/Kg de arroz y Q0.22/Kg de maíz), pero se recomienda utilizar el arroz, debido al problema de bacterias mencionado, salvo que se encuentre una forma de eliminar el problema de esta contaminación, el maíz sería el medio más económico. Además, al cocer una libra de arroz, ésta aumenta en volumen de 3 a 4 veces; mientras que al cocer una libra de maíz quebrado, ésta incrementa en volumen la tercera parte de lo que incrementa el arroz.

Con respecto a los otros tres medios evaluados (sorgo, trigo y cebada), los precios promedio a que se les encuentra en el mercado local son de Q0.33, Q0.66 y Q0.88/Kg respectivamente; pero, como ya se mencionó, la esporulación presentada es muy baja comparada con la del arroz y maíz quebrado.

Estos resultados corroboran los reportes bibliográficos encontrados (3,5,6,8,9,10, 11,13), de que el arroz ha sido muy usado para la reproducción del entomopatógeno, debido a la alta esporulación obtenida.

En la determinación de la influencia de la luz y la temperatura en la esporulación del hongo, no se encontró diferencia significativa entre luz y oscuridad; y con temperaturas de 26 y 30°C se obtuvo la mayor producción de esporas. Estos resultados corroboran los establecidos por Walstad y asociados (4) y por otros investigadores (5,11,13,14,16), quienes señalan que la más rápida germinación de las esporas del hongo se lleva a cabo entre 25 y 30°C.

9. CONCLUSIONES

1. De las 23 especies plaga evaluadas se obtuvo un porcentaje de parasitismo mayor del 80o/o en áfidos del rosal (*Aphis* sp.), picudo de la vaina del frijol (*Apion godmani*), picudo del cardamomo (*Cholus* sp.), mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*) y zancudos (*Anopheles* sp.) en estado adulto y larvas del gusano falso medidor (*Trichoplusia nii*). En el caso de las larvas del picudo del chile (*Anthonomus eugeni*), picudo del algodón (*A. grandis*) y barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*), se obtuvo siempre un parasitismo del 100o/o.
2. El mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno es el arroz precocido a una temperatura de 26 a 30°C debido a la contaminación de una bacteria en maíz; luego en su orden le siguen el maíz quebrado, que presenta el problema ya descrito y luego indistintamente el sorgo, trigo y la cebada.
3. No se encontró diferencia significativa entre luz y oscuridad en la esporulación del entomopatógeno. En cuanto a la temperatura, se obtuvo una mayor esporulación a 26 y 30°C.

10. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas de campo para el control de áfidos (*Aphis* sp.), mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*), picudo del cardamomo (*Cholus* sp.), picudo de la vaina del frijol (*Apion godmani*), zancudos (*Anopheles* sp.), y gusano falso medidor (*Trichoplusia nii*). A la vez se recomienda hacer estudios más exhaustivos con los adultos de picudo del chile (*Anthonomus eugenii*) y picudo del algodón (*A. grandis*), que mostraron porcentajes de parasitismo bajos (32.5 y 47.5o/o respectivamente).
2. Realizar estudios de patogenicidad con otras plagas de insectos de importancia nacional con el hongo *Metarrhizium* sp.
3. Para la reproducción masiva del entomopatógeno, utilizar el arroz precocido comercial, a una temperatura de 26 a 30°C. En caso de no poderse utilizar el arroz, usar el maíz quebrado, siempre y cuando se encuentre la manera de evitar la contaminación por bacterias; o de no poderse usar ninguno de los dos medios anteriores, utilizar indistintamente el sorgo, trigo o la cebada.
4. Determinar en otras condiciones ambientales, el efecto de la luz incorporada en la esporulación del entomopatógeno *Metarrhizium* sp.
5. Determinar la sobrevivencia de *Metarrhizium* sp. a la luz solar a fin de saber la persistencia del patógeno en el campo.

11. BIBLIOGRAFIA

1. AINSWORTH, G.C. and SUSSMAN, A.S. *The fungi: an advanced treatise*. USA, Academic Press. *The Fungal Population* v. 3. 1968. pp. 227-236.
2. ALLEN, G.C., IGNOFFO, C.M. and JAQUES, R.P. *Microbial control of insects pests; future strategies in pest management systems*. USA, USDA, University of Florida, 1978. pp. 63-64, 229-230.
3. AQUINO, M.L.N. et al. *Cultura da "Metarrhizium anisopliae (Metsch) Sorokin" em sacos de polipropileno*. Sao Paulo, Brasil, Boletim Técnico da CODECAP, no. 5. 1977. 11 p.
4. BACH, P. DE. *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. Traducido por Carlos Manuel Castaños. México, Continental, 1979. pp. 34, 105, 648-737.
5. BERRIOS ESCORIA, F. *Estudio de la susceptibilidad del barrenador de las meliáceas Hypsipyla grandella Zeller al hongo Metarrhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin*. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Universidad Nacional de Costa Rica/IICA, 1972. 76 p.
6. BRASIL. MINISTERIO DA INDUSTRIA E DO COMERCIO. *Orientacoes técnicas para a producao do fungo entomógeno Metarrhizium anisopliae (Metschn) em laboratórios setoriais*. Boletim Técnico Planalsucar (Brasil) 3(2):1-23. 1981.
7. BURGESS, H.D. and HUSSEY, N.W. *Microbial control of insects and mites*. Great Britain, Academic Press, 1971. pp. 125-149, 496-503, 542-547.
8. COSTA, M.D. y MAGALHAES, C.D. *Um novo meio de cultura para o fungo entomógeno Metarrhizium anisopliae (Metschn) Sorok, parasito da "Cigarrinha" das pastagens*. Boletim do Instituto Biológico da Bahia (Brasil) 13(1) 57-60. 1974.

9. _____ ; et al. Nova técnica para producao em larga escala do fungo *Metarrhizium anisopliae* (Metschn) Sorok. em laboratório. *Boletim do Instituto Biológico da Bahia (Brasil)* 13(1).85-89. 1974.
10. GALLO, D. et al. *Manual de entomología aplicada*. Sao Paulo, Editora Agronómica Ceres, 1978. pp. 169-170.
11. GUAGLIUMI, P., MARQUES, E.J. y VILAS BOAS, A.M. Contribucao ao estudo da cultura e aplicacao de *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle da "Cigarrinha da Folha" *Mahanarva posticata* (Stal) no Nordeste do Brasil. Brasil, CODECAP. *Boletim Técnico* no. 3. 1974. 57 p.
12. LILLY, V.G. and BARNET, H.L. *Physiology of the fungi*. New York, McGraw-Hill, 1951. p. 103.
13. MARRUFO E, R.C. y ENKERLIN S, D. Cultivo del hongo entomófago *Metarrhizium anisopliae* (Metschn) Sor. y ensayos preliminares de su efecto contra el complejo mosca pinta de los pastos y otros insectos. *Folia Entomológica Mexicana* no. 29:45-46. 1974.
14. POZO VALDEZ, J. DEL. Efecto de la radiación ultravioleta y determinación de la patogenicidad para larvas de *Hypsipyla grandella* (Zeller) en mutantes de *Metarrhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokim. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Universidad Nacional de Costa Rica/IICA, 1973. 64 pp.
15. RODAS CASTAÑEDA, E. La evaluación de medios de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1981. 53 p.
16. STEINHAUS, E.A. *Principles of insect pathology*. USA, McGraw-Hill, 1949. pp. 6, 388-398, 678-679.
17. THOMAS, G.M. and POINAR, G.C. Jr. Report of diagnoses of diseased insects 1962-1972. *Hilgardia (USA)* 42(8) 263-287. 1973.

18. U.S. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manejo y control de plagas de insectos. Traducido por Modesto Rodríguez de la Torre. México, Limusa, 1982. v. 3, pp. 189-217, 451-495.
19. ————. Microbial processes. Washington, 1979. pp. 98-103.
20. VALDES, T. Patogenicidad del hongo *Metarrhizium anisopliae* en larvas de *Galleria mellonella*. CIARCO (Venezuela) 4(3-4). 5-6. 1974.
21. VARGAS, A.A.T. y FURTADO, L.R. Um metodo simples para a estimativa do fungo entomógeno *Metarrhizium anisopliae* no solo. In Congreso Brasileiro de Fitopatología; 12a., Itabuna, Brasil, 5-9 de Feb. 1979. Resumo. Brasil, Associação Brasileira de Fitopatología, 1980. s.p.

Vo. Bo.

Patruelle

12. APENDICE

CUADRO 1: PRINCIPALES REPORTES DE INSECTOS CONTROLADOS CON METARRHIZIUM SP. GUATEMALA, 1984.

1. *Metschnikoff (1879) conduce el primer experimento significativo en destrucción de larvas del insecto Anisoplia austriaca (6,9,16,17).*
2. *Krassiltschik (1886 y 1888) indicó mortalidad del 50 al 80o/o en el control del curculiónico Cleonus punctiventris (4,9,16,17).*
3. *Gough, Rorer 1910 a 1913) en Trinidad lo reportan contra Tomaspis saccharina (Aeneolamia varia saccharina).*
4. *Williams (1921) lo reporta contra Tomaspis saccharina en Trinidad. Además menciona Coleópteros, Lepidópteros Diatraea sp.), Ortópteros, Dípteros (Stomoxis sp.) y Hemípteros.*
5. *Pestana (1923), Moreira (1925) en Brasil y Pickles 1932) en Trinidad lo reportan contra Tomaspis saccharina (12).*
6. *Rorer (1910) indujo aproximadamente 184,000 insectos/acre muertos de Tomaspis varia con una concentración de 2-3 lb.acre (4).*
7. *Lepage y Monte (1942) en Brasil lo encontraron parasitando Tomaspis flavopicta y T. humeralis.*
8. *Costa Lima (1942), Melo (1944) y Franco (1951) lo reportaron parasitando Tomaspis liturata en Brasil (12).*
9. *Notini y Mathlein 1944) reportaron que la capa de lípidos de Cossus cossus estimula la germinación de esporas (9).*
10. *James (1946) lo reporta atacando Aeneolamia flavilatera en Indias Inglesas.*
11. *Guagliumi (1953, 1955 y 1957) lo cita atacando a Saccharosydne saccharivora y Aeneolamia varia sontica en Venezuela, Brasil, Granada, Trinidad y Guayana (12).*

12. Radha et al. (1956) lo reporta contra *Oryctes rhinocerus* (9).
13. Shaerffenberg (1959 y 1964) lo usó en la cuarta fase del escarabajo de la papa, *Leptinotarsa decemlineata*, vió que las larvas morían de 7–10 días a 22–26°C y entre 10 y 14 días a 18–20°C (4,6).
14. Thomas (1962) lo reporta contra *Pericoptes truncatus* en Nva. Zelanda.
15. Thomas (1963) lo reporta contra *Costelytra zealandica* en Nva. Zelanda.
16. Thomas (1963) lo reporta contra *Rhabdoscelus asperipennis*.
17. Thomas (1964) lo reporta contra *Holotrichia* sp. en India (17).
18. Wolcott (1955) en Trinidad y Tobago, Albert y Ferreira Lima (1964) lo reportan contra *Mahanarva posticata* en Brasil (12).
19. Thomas (1964) lo reporta contra *Psilopholis vestita* en Malasia.
20. Thomas (1964) lo reporta contra *Anomala expansa* en Taiwán.
21. H.K atayama et. al. (1967) lo reportan contra *Cylas formicalis* en Japón.
22. Thomas (1968) lo reporta contra un insecto no identificado en Jamaica (17).
23. Veen (1968) reporta 204 especies de insectos susceptibles, con distribución en todo el mundo (6,12).
24. A. Catley (1969) lo reporta contra *Nechryopus savagel* en Nigeria.
25. Thomas (1969) lo reporta contra *Bothynus gibbosus* en Texas (17).
26. En Brasil (1969) lo reportan contra *Mahanarva posticata*, *Diatraea* sp., *Metamasius hemipterus*, *Spodoptera frugiperda*, *Cirphis* sp. (5).
27. Ferron y Diamandé (1969) lo aislaron de *Oryctes Rhinocerus* (6,9).
28. Thomas (1970) lo reporta contra *Tetanops myopaeformis* en Idaho (17).
29. Gualiumi (1970, 1972 y 1973) lo reporta atacando por lo menos 13 especies de insectos en Venezuela y Brasil (12).

30. *Berrios Escoria (4) y Del Pozo Valdés (14) en 1971 reportan su uso como insecticida biológico contra Hypsipyla grandella Zeller en Costa Riva.*
31. *En Venezuela reportan buen control contra Tenebrio molitor y Galleria mellonella en 1974 (20).*
32. *Marrufo y Enkerlin obtuvieron infección y alto grado de control de Aeneolamia occidentales en México 1974 (14).*
33. *Müller-K ögler (1976) lo reportan contra Sitona lineatus en el suelo (2).*
34. *Vargas y Furtado (1979) lo reportan contra Zulia entrerriana y Deois sp. en suelos de Brasil (21).*
35. *Rodas Castañeda (1981) lo encontró parasitando la chinche salivosa (Aenolamia sp.) en Guatemala (15).*
36. *Brook y Raum lo reportan contra el taladrador europeo del maíz, Ostrinia nubilalis.*
37. *Getzin y Shanks encontraron del 60 al 90o/o de mortalidad de Scutigrella immaculata, moría de 4 a 6 días a 25°C.*
38. *Larvis lo encontró atacando la tercera fase de Phyllophaga auxia.*
39. *Jaques et. al encontraron que a una concentración de 1.8×10^8 a 3×10^8 esporas/cc redujo la sobrevivencia de Pseudoxentera mali y Operophtera brumata (Linnaeus).*
40. *Bell y Hamale encontraron 100o/o de efectividad cuando infectaron al curculiónido del frijol de vaca, Chalcodermus aeneus (4).*
41. *Fox encontró que producía alta mortalidad en Agriotes obscurus antes, durante y después del período pupal (4,6).*
42. *Bünzly y Büttiker vieron que se desarrolló en Anomala existialis y Schizonucha protuga (4,9).*
43. *Getzin vió que la mayoría de larvas de Trichoplusia nii atacadas estaban en su primera fase (4).*

44. *La penetración de la higa del hongo alrededor de las piezas bucales y esófago de **Ephestia hünniella**, en ningas del segundo estado de **Schistocerca gergaria** ha sido observado.*
45. *Gabriel vió que cuando las conidias de **M. anisoplias** eran suministradas oralmente a larvas de **Galleria mellonella**, **Bombyx mori** y **Tenebrio molitor** causaban menor infección que cuando eran aplicadas exteriormente sobre el integumento (10).*
46. *La NAS lo reporta contra el gusano alambre, **Agriotes** sp. y contra larvas de lepidópteros del suelo (18).*
47. *La NAS lo reporta contra mosquitos, saltadores de hojas y del follaje y escabaraños acuáticos (19).*
48. *Ataca muchos insectos y probablemente fué el primer hongo usado en el control de plagas (4).*
49. *Sólo en Norteamérica se considera que hay hasta 75 especies de insectos susceptibles (9).*
50. *Esta distribuído en todo el mundo y ha sido aislado en por lo menos 46 países, incluyendo Brasil (12).*

FOTOGRAFIAS

Foto 1 : Esporas del hongo Metarrhizium sp.

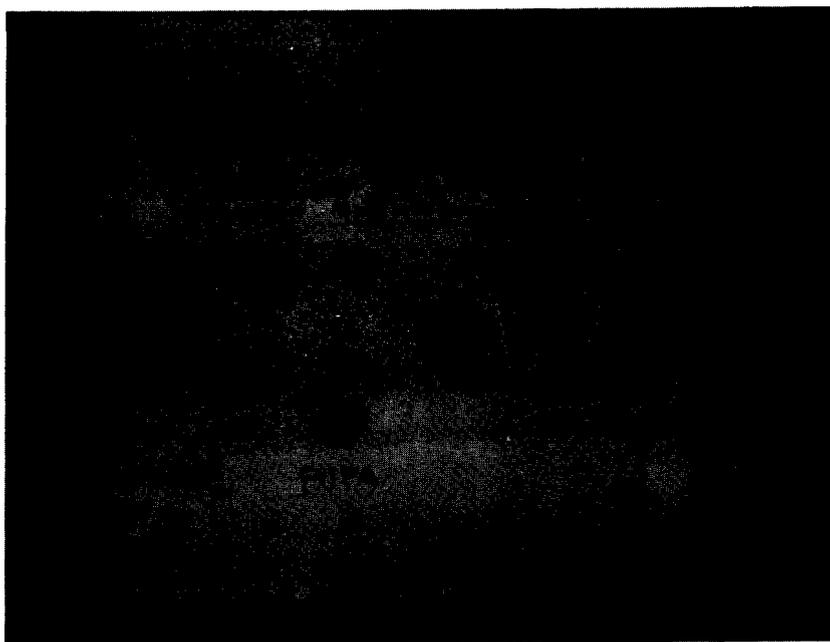


Foto 2 : Trichoplusia nii, en sus estados de larva, pupa y adulto parasitados por el hongo Metarrhizium sp.



Foto 3 : *Metarrhizium* sp. parasitando *Cholus* sp. en estado adulto.



Foto 4 : *Metarrhizium* sp. parasitando *Apion godmani* en estado adulto.



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia
Asunto
.....

"IMPRIMASE"

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read 'C. A. Castañeda S.'.



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