

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

**PREFERENCIA DE PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE *Diatraea crambidoides* Grote (Lepidoptera: Crambidae).
DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN INGENIO SANTA ANA, ESCUINTLA, GUATEMALA, C.A.**

MARVIN MATEO PEC HERNÁNDEZ

GUATEMALA, MAYO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PREFERENCIA DE PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* Cameron
(Hymenoptera: Braconidae), **SOBRE DIFERENTES INSTARES DE *Diatraea***
cramboides Grote (Lepidoptera: Crambidae).
DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN INGENIO SANTA ANA, ESCUINTLA,
GUATEMALA, C.A.

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

MARVIN MATEO PEC HERNÁNDEZ

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRÓNOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA, MAYO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO EN FUNCIONES	Dr.	Ariel Abderramán Ortiz López
VOCAL PRIMERO	Dr.	Ariel Abderramán Ortiz López
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr.	César Linneo García
VOCAL TERCERO	Ing. Agr.	Erberto Raúl Alfaro Ortiz
VOCAL CUARTO	P. Agr.	Josué Benjamín Boche López
VOCAL QUINTO	Br.	Sergio Alexander Soto Estrada
SECRETARIO	Dr.	Mynor Raúl Otzoy Rosales

GUATEMALA MAYO DE 2015

Guatemala, Mayo de 2015

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración, el documento: **TRABAJO DE GRADUACIÓN PREFERENCIA DE PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE *Diatraea crambidoides* Grote (Lepidoptera: Crambidae), Diagnóstico y Servicios realizados en Ingenio Santa Ana, Escuintla, Guatemala, C.A. como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.**

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

MARVIN MATEO PEC HERNANDEZ

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por darme las siguientes palabras: El que vive al amparo del altísimo y habita a la sombra del poderoso di al Señor "Refugio mío y fortaleza mía". "Dios mío en ti confió". Te cubrirá con sus plumas y hallaras refugio en sus alas, su fidelidad será escudo y coraza Lo librare porque se aferró a mí, lo protegeré, pues conoce mi nombre, me llamara y yo le responderé, estaré a su lado en la desgracia, lo librare y acrecentare su fama. Ya que las cumplió a lo largo de mi carrera.

A MIS PADRES

Juana Hernández Sajche

Por ser la persona que más ha influenciado en mi vida gracias por traerme al mundo y darme siempre cátedras sobre la vida, gracias por tus cuidados, tus múltiples y acertados consejos y la luz de tus oraciones que siempre me acompañan Gracias por todo Te amo mama

Encarnación Pec Hernández.

Por darme los principios y valores que fueron formándome una persona de bien Por apoyarme, aconsejarme e instruirme en el transcurso de mi vida y mis estudios guiándome por el camino de Dios. Te amo papá.

A MIS HERMANOS

Francisco, Elvia, Marleny, Génesis, y David por brindarme su cariño y apoyo en todo los momentos de mi vida.

A MIS ABUELITOS:

Tomasa Hernández

Gracias por sus múltiples Consejos.

Nicolasa Sajche

(Q.E.P.D.) Flores en su tumba

Mateo Pec

(Q.E.P.D.) Flores en su tumba

Juan Francisco Hernández

(Q.E.P.D.) Flores en su tumba.

A MI FAMILIA EN GENERAL:

Por darme apoyo y consejos

A UNA PERSONA ESPECIAL:

Gracias por enseñarme que en la vida hay que luchar por lo que se quiere.

A MIS AMIGOS

Por brindarme su apoyo, amistad a lo largo de la carrera especialmente a; Mario, Edy, Michael, Molina, Cristian, Eliseo, Raúl y Rony con los cuales compartí momentos difíciles como de alegría.

A MIS AMIGAS

Por brindarme su apoyo, amistad a lo largo de la carrera especialmente a; Keyla, Marianna, Sayuri.

TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A DIOS:

Por permitirme culminar mi carrera.

A MI FAMILIA:

Por este triunfo, porque sin ellos no se llevaría a cabo.

A MI PATRIA GUATEMALA:

Tierra linda que me vio nacer y a mis compatriotas que gracias a sus impuestos se sustenta la educación superior en la USAC.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:

Por darme la oportunidad en la formación de mi carrera profesional.

A LA FAUSAC

Casa de estudios del área agrícola, gracias por abrir tus puertas y hacerme una profesional de bien.

A MI ALMA MATER:

Escuela Nacional Central de Agricultura por ser mi segundo hogar por 3 años y ser templo del saber en dónde me forje mis máximos ideales.

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCIÓN 2009

Recuerdos inolvidables y éxitos en su vida profesional.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS NUESTRO CREADOR:

Por haberme permitido alcanzar este triunfo, por ser siempre mi compañero inseparable, haber iluminado mi mente y por haberme guiado en el sendero de mi vida estudiantil. Por darme además consuelo, fortaleza cuando más lo necesitaba.

A MIS PADRES:

Por el esfuerzo que realizan por darme la oportunidad de completar mis estudios, por todo su sacrificio, su apoyo moral, espiritual y económico sin importar condiciones

A MIS ABUELITOS:

Gracias por sus múltiples Consejos.

MIS ASESORES:

Dr. Heisler Gómez, Por su asesoría y correcciones en la investigación además de su amistad.

Ing. Agr. Álvaro Gustavo Hernández Dávila por su asesoría y consejos para la elaboración de la investigación.

Ing. Agr. Fredy Hernández Ola por su supervisión y asesoría en el presente trabajo de graduación.

Ing. Agr. Edgar Franco por su asesoría en el presente trabajo de graduación.

Dr. Francisco Badilla por su asesoría en el presente trabajo de graduación

GRUPO CORPORATIVO SANTA ANA:

Por permitirme culminar mi vida como estudiante y darme la bienvenida a la vida profesional y permitirme ser parte de tan prestigiosa empresa.

DEPARTAMENTO TÉCNICO AGRÍCOLA:

Por ser un excelente equipo de trabajo y compartir conmigo esos conocimientos que me sirven de mucho para realizarme en el trabajo. A los técnicos de campo gracias por compartir sus experiencias, a Dr. Francisco Badilla, Lic. Luis Carlos Arroyo, Inga Raisa Peña, Ing. Henry Giménez, por compartir sus conocimientos en el manejo integrado de plagas. Por el compañerismo de Hansell Najarro, Jennifer Miranda, Mynor Garcia y Ada Aguilar gracias por darme un buen inicio de EPS.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN	viii
CAPÍTULO I DIAGNÓSTICO DEL DEPARTAMENTO TÉCNICO AGRÍCOLA, GRUPO CORPORATIVO SANTA ANA, ESCUINTLA, GUATEMALA.....	1
1.1 PRESENTACIÓN	2
1.2 MARCO REFERENCIAL.....	3
1.2.1 Agroindustria del Azúcar.....	3
1.2.2 Grupo Corporativo Santa Ana.....	3
A. Misión	3
B. Visión.....	3
C. Políticas de Organización	4
D. Actividades de Grupo Corporativo Santa Ana.....	4
E. Prestaciones y Servicios ofrecidos a los trabajadores.....	6
1.2.3 Ubicación Geográfica de la Empresa	6
1.2.4 Condiciones Climáticas.....	6
1.2.5 Suelos.....	7
1.2.6 Vías de acceso	7
1.2.7 Composición económica y social del lugar.....	8
1.2.8 Estructura organizacional Grupo Corporativo Santa Ana.....	8
F. Gerencia General.....	8
G. División de recursos Humanos.....	8
H. División administrativa.....	9
I. División Industrial.....	9
J. División de informática.....	9
K. División Financiera.....	9
L. División agrícola y servicios.....	9
1.3 OBJETIVOS	10
1.3.1 Generales	10
1.3.2 Específicos	10
1.4 METODOLOGÍA.....	11
1.4.1 Delimitación del sistema	11
1.4.2 Determinación de los problemas del Departamento	11
1.4.3 Herramientas utilizadas	11
A. Entrevistas	11
B. Observaciones.....	11
C. Sondeos	11
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
1.5.1 Estructura organizacional	12
1.5.2 Datos generales.....	12
1.5.3 Laboratorios.....	13
A. Laboratorio de producción de hongos entomopatógeno.....	13

B.	Laboratorio de producción de parasitoides	14
C.	Laboratorio de producción de cebos para roedores	15
D.	Planta de producción de trampas adhesivas para chinche salivosa	15
E.	Laboratorio de biotecnología	15
F.	Laboratorio de control de calidad y desarrollo de proyectos	16
1.5.4	Acompañamiento técnico en campo	18
A.	Manejo de información	18
1.5.5	Matriz de priorización de problemas	20
1.6	CONCLUSIONES.....	22
1.7	BIBLIOGRAFÍA	23
1.8	ANEXOS	24
CAPÍTULO II PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron		
(Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>		
Grote (Lepidoptera: Crambidae).....		
		27
2.1	INTRODUCCIÓN	28
2.2	MARCO CONCEPTUAL	31
2.2.1	Marco Conceptual.....	31
A.	Cultivo de la caña de azúcar (Importancia)	31
B.	Manejo Integrado de Plagas	31
C.	Plagas de caña de azúcar	33
D.	Plagas de importancia económica	33
E.	Plagas Potenciales	34
F.	Daño del barrenador (<i>Diatraea crambidoides</i>)	34
G.	Descripción de la plaga	34
H.	Biología de la plaga	37
I.	Control Biológico de plagas	38
J.	Parasitoide	38
K.	Hymenoptera	39
L.	Braconidae.....	39
M.	<i>Cotesia flavipes</i>	40
N.	Condiciones de parasitación de <i>Cotesia flavipes</i>	40
O.	Preferencia de parasitismo de entomófagos	41
P.	Inmunosupresión celular de <i>D. saccharalis</i> parasitadas por <i>C. flavipes</i>	42
Q.	Encapsulamiento	42
R.	Polidnavirus	42
S.	Ecología Química de Insectos	44
T.	Defensas del hospedero de parasitoides	45
2.2.2	Marco Referencial.....	47
A.	Ubicación.....	47
B.	Descripción del Área.....	47
C.	Localización del área de estudio (Laboratorio Control de Calidad)	47
2.3	OBJETIVOS	48
2.3.1	General.....	48

2.3.2	Específicos	48
2.4	HIPÓTESIS	48
2.5	METODOLOGÍA.....	49
2.5.1	Obtención de Material.....	49
A.	Parasitoide.....	49
B.	Larvas.....	49
2.5.2	Preferencia de parasitismo	50
A.	Tratamientos.....	50
B.	Unidad experimental.....	50
C.	Determinación del Instar Larval de <i>D. crambidoides</i>	51
D.	Metodología de preferencia de parasitación	52
2.5.3	Cuantificación del parasitismo	53
A.	Parasitismo confirmado	53
B.	Porcentaje de encapsulamiento.....	53
C.	Toma de datos	54
2.5.4	Diseño experimental	54
A.	VARIABLES DE RESPUESTA	55
2.5.5	Análisis de datos.....	55
2.5.6	Manejo del experimento	55
2.6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
2.6.1	Porcentaje de Selección (Preferencia de parasitismo)	56
2.6.2	Porcentaje de parasitismo	58
2.6.3	Porcentaje de encapsulamiento.....	60
2.7	CONCLUSIONES.....	62
2.8	RECOMENDACIONES	62
2.9	BIBLIOGRAFÍA	63
2.10	ANEXOS.....	67
2.10.1	Porcentaje de Selección (Preferencia de parasitismo).....	67
2.10.2	Porcentaje de parasitismo	67
2.10.3	Porcentaje de encapsulamiento	68
CAPÍTULO III PATOGENICIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO <i>Beauveria bassiana</i>		
(Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae) PARA EL CONTROL DEL		
BARRENADOR DEL TALLO (<i>Diatraea crambidoides</i>) Grote (Lepidóptera: Crambidae), A		
NIVEL DE LABORATORIO.....		
3.1	PRESENTACIÓN	70
3.2	MARCO CONCEPTUAL	71
3.2.1	Marco Conceptual.....	71
A.	Control Biológico.....	71
B.	Uso de patógenos en el control biológico	71
C.	Biología de la plaga	72
D.	Patógenos fungosos	73
E.	<i>Beauveria bassiana</i>	73
F.	<i>Beauveria bassiana</i> en <i>Diatraea sp.</i>	76

3.2.2	Marco Referencial.....	77
A.	Ubicación.....	77
B.	Descripción del Área.....	78
C.	Localización del área de estudio (Laboratorio Control de Calidad)	78
3.3	OBJETIVOS	78
3.3.1	General.....	78
3.3.2	Específicos	78
3.4	METODOLOGÍA.....	79
3.4.1	Obtención de Material.....	79
A.	Hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	79
B.	Larvas.....	79
3.4.2	Preparación del material.....	79
3.4.3	Unidad experimental.....	80
3.4.4	Tratamientos.....	80
3.4.5	Diseño experimental	80
3.4.6	Calibración del equipo	81
3.4.7	Aplicación del producto.....	82
3.4.8	Manejo del experimento	83
3.4.9	Análisis de resultados.....	83
A.	Variables de respuesta.	83
B.	Análisis de la información	84
3.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	84
3.6	CONCLUSIONES.....	89
3.7	RECOMENDACIONES	89
3.8	BIBLIOGRAFÍA	90
3.9	ANEXOS	92
3.9.1	MATERIALES.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS	PÁGINA
Figura 1 Ingenios Operando en Guatemala.	3
Figura 2 Organigrama Departamento Técnico Agrícola	12
Figura 3 Conformación del Departamento Técnico Agrícola	13
Figura 4 Metodología de producción de <i>Metarhizium anisopliae</i> utilizando como sustrato maíz quebrantado.	24
Figura 5 Metodología de producción de <i>Cotesia flavipes</i> utilizando como huésped <i>Diatraea saccharalis</i>	25
Figura 6 Metodología de producción de cebos para control de <i>Sigmodon hispidus</i> (rata cañera) ..	26
Figura 7 Metodología de producción de trampas verdes adhesivas para el control de chinche salivosa.....	26
Figura 8 Metodología de producción de plántulas a través de multiplicación in vitro.	26
Figura 9 Larva de <i>D. crambidoides</i> con tubérculo mesotorácico característico de esta especie. ...	36

Figura 10 Ciclo vital de los parasitoides de la familia Ichneumonidae y Braconidae y su polidnavirus (30).....	43
Figura 11 Diferentes edades de larvas del barrenador del tallo utilizadas como tratamiento para determinar cuál es la preferencia de parasitismo de <i>Cotesia flavipes</i>	51
Figura 12 Preferencia de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	56
Figura 13 Porcentaje de parasitismo y encapsulamiento de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	61
Figura 14 Desarrollo biológico del barrenador del tallo <i>D. crambidoides</i> que comprenden los estados: huevo, larva, pupa y adulto	72
Figura 15 Estructuras morfológicas principales del hongo <i>Beauveria bassiana</i> . A. Esporas esféricas levemente ovaladas. B. Hifas septadas. C. Conidióforo simple. D. Proliferación simpodial del conidióforo. E. Esquema del proceso de maduración de conidióforo a partir de un conidio (inferior) y vista de un conidióforo completo (superior izquierda). Figuras A-D modificadas de: Castillo, 2005. Figura E modificada de: Solter, 2004 (6).....	74
Figura 16 Estructura y composición de la cutícula del insecto y esquema de la penetración. Modificado de Duperchy, 2003 (7)	76
Figura 17 Calibración de equipo de simulación de aplicación aérea.	81
Figura 18 Resultados en porcentaje de larvas de <i>D. crambidoides</i> muertas confirmadas por la aplicación del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> cepa BISA 447	84
Figura 19 Mortalidad del barrenador del tallo <i>D. crambidoides</i> por la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> cepa BISA 447	85
Figura 20 Regresión Probit para la curva de mortalidad de larvas de <i>Diatraea crambidoides</i> inoculadas con 6 concentraciones de <i>Beauveria bassiana</i>	88

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
Cuadro 1 Plagas, enfermedades y hongos patógenos de cada una de ellas.	14
Cuadro 2 Matriz de priorización de problemas.	20
Cuadro 3 Jerarquización de problemas por frecuencia y rango	21
Cuadro 4 Priorización de problemas identificados en Departamento Técnico Agrícola	21
Cuadro 5 Factor de pérdida e índice de daño estimado para las principales plagas en Guatemala.	33
Cuadro 6 Diferentes instares utilizados como tratamientos para determinar la preferencia de <i>Cotesia flavipes</i> sobre <i>D. crambidoides</i> bajo condiciones de laboratorio, Ingenio Santa Ana.....	50
Cuadro 7 Tiempo generacional y estados de desarrollo de <i>D. crambidoides</i> Ingenio Santa Ana, Escuintla 2014	52
Cuadro 8 Análisis de varianza sobre la variable preferencia de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	57
Cuadro 9 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable preferencia de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	57

Cuadro 10 Análisis de varianza sobre la variable porcentaje de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	59
Cuadro 11 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable porcentaje de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	59
Cuadro 12 Análisis de varianza sobre variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> sobre <i>C. flavipes</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	60
Cuadro 13 Separación de medias por medio de tukey al 5% sobre la variable porcentaje de encapsulamiento delos instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> sobre <i>C. flavipes</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	61
Cuadro 14 Datos de porcentaje de selección del <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	67
Cuadro 15 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable preferencia de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	67
Cuadro 16 Datos de laboratorio sobre la variable porcentaje de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	67
Cuadro 17 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable porcentaje de parasitismo de <i>C. flavipes</i> sobre los instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	68
Cuadro 18 Análisis de varianza sobre variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> sobre <i>C. flavipes</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	68
Cuadro 19 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador <i>D. crambidoides</i> sobre <i>C. flavipes</i> , bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	68
Cuadro 20 Promedio de número de larvas vivas de <i>D. saccharalis</i> y entrenudos afectados en parcelas tratadas y no tratadas con <i>B. bassiana</i>	77
Cuadro 21 Dosis utilizadas como tratamientos del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> cepa BISA-447 para el control del barrenador del tallo (<i>Diatraea crambidoides</i>) a nivel de laboratorio a un volumen de aplicación de 30 litros/hectárea.	80
Cuadro 22 Análisis de varianza sobre la variable porcentaje de mortalidad del barrenador <i>D. crambidoides</i> , por la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	85
Cuadro 23 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable porcentaje de mortalidad del barrenador <i>D. crambidoides</i> , por la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana	86
Cuadro 24 Transformación a valores probit de las diferentes concentraciones de hongo entomopatógeno <i>B. bassiana</i> y porcentaje de mortalidad confirmada de larvas penetrantes de <i>D. crambidoides</i>	87

RESUMEN

El presente trabajo de graduación lo componen tres partes, los cuales son: el diagnóstico, el proyecto de investigación y los servicios. Se realizó en el Departamento Técnico Agrícola del Grupo Corporativo Santa Ana, ubicada en el municipio de Escuintla, Guatemala, Centro América.

El Diagnóstico fue la recopilación de información primaria y secundaria sobre la conformación y la estructura del Departamento Técnico Agrícola, la cual fue la base para determinar a través de una matriz de prioridades las necesidades del departamento y trabajar la investigación principal y los servicios ejecutados en el Ejercicio Profesional Supervisado.

Grupo Corporativo Santa Ana, tiene su sede en la finca Cerritos, el cual está ubicada en el kilómetro 64.5 de la ruta nacional CA-9, en el departamento de Escuintla. El Departamento Técnico Agrícola, pertenece a la División Agrícola y Servicios y se conforma por los siguientes laboratorios; Parasitoides, Hongos Entomopatógenos, Meristemas, Control de Calidad y Desarrollo de Proyectos, producción de trampas adhesivas para chinche salivosa y planta de maquiladora de cebos para roedores.

El presente trabajo de investigación se realizó, con el fin de determinar el efecto de la edad del hospedero *D. crambidoides* en la preferencia de parasitación de la micro avispa *C. flavipes*. Se sometió a estudio el III, IV y V instar del barrenador *D. crambidoides*, para determinar en cuál o cuáles de los instar se obtenía una mayor preferencia de parasitismo de *C. flavipes*. Se observó que las larvas del barrenador tienen defensas externas, para el caso de *D. crambidoides* es una larva muy agresiva. En las observaciones realizadas en un 30 por ciento de los intentos de parasitación de la avispa ésta fue eliminada por el huésped de dos formas. La primera emitía regurgitaciones de un líquido por la boca, que al caer sobre el parasitoide lo mata al dejarlo inmóvil. Otro mecanismo de defensa de *D. crambidoides* es que en la galería que forma por su alimentación, cuando el parasitoide se acerca las larvas, toma un comportamiento de movimientos bruscos y enérgicos, con tal de evitar ser parasitado eliminando de esta forma a la avispa.

El parasitoide *Cotesia flavipes* tiene preferencia de parasitismo sobre el instar IV con un 47 por ciento en las evaluaciones realizadas en condiciones de laboratorio. El máximo porcentaje de parasitismo se obtuvo en los instares IV y V con 61 y 49 por ciento respectivamente. El encapsulamiento se registró con el valor mayor en el instar III, con un 32 por ciento contrarios a otras especies.

En los servicios realizados se evaluó una alternativa biológica para el control del barrenador del tallo. Se evaluaron 6 dosis del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para determinar las dosis letales 50 y 90, y determinar el potencial del uso en el programa de manejo integrado de barrenadores.

La DL50 y la DL90 de *Beauveria bassiana* sobre larvas penetrantes (3 días de edad) fueron 3.14×10^{11} conidios/hectárea y 1.23×10^{13} conidios/hectárea respectivamente, por lo que se concluye su potencial como controlador biológico.

CAPÍTULO I DIAGNÓSTICO DEL DEPARTAMENTO TÉCNICO AGRÍCOLA, GRUPO CORPORATIVO SANTA ANA, ESCUINTLA, GUATEMALA

1.1 PRESENTACIÓN

Según el Banco de Guatemala en el año 2013 el Azúcar, con US\$ 941.9 millones (9.3%); ocupa el segundo lugar entre los productos de mayor exportación, esto refleja la importancia del cultivo de la caña de azúcar en la economía nacional (3).

El cultivo es importante debido a que genera diversos empleos tanto directos como indirectos durante la temporada de zafra, necesita de recurso humano para su operación y por lo tanto beneficia a la población de la región.

Grupo Corporativo Santa Ana S A es una empresa privada, dedicada a la producción y exportación de Azúcar Refinada tipo "A", Azúcar Cruda, Azúcar Blanca Standard, (sulfitadab), Azúcar Refina Local, Azúcar Superior, Azúcar Morena, Melaza, Torta de Cachaza, Energía Eléctrica. En los últimos años, los volúmenes de producción han sido alrededor de 7,000,000 quintales de azúcar zafra 2013-2014 (3).

Grupo Corporativo Santa Ana ubicadas en la finca Cerritos en el Km. 64.5 al sur de la Capital de Guatemala, en el departamento de Escuintla, a 220 mt sobre el nivel del mar. Localizado en las coordenadas siguientes: 14°14'36.5" Latitud norte y 90°50'21.44" Longitud oeste. Se organiza de la siguiente manera División de recursos Humanos, División agrícola y servicios, División administrativa, División Industrial, División de informática, División Financiera, el Departamento Técnico Agrícola está adscrito a la División Agrícola y Servicios (9).

El Departamento Técnico Agrícola, es la encargada del programa de manejo integrado de plagas del Grupo Corporativo Santa Ana, se divide en dos líneas, la parte de laboratorios en las cuales podemos mencionar laboratorio de Parasitoides, Hongos Entomopatógeno, Producción de Trampas Adhesivas para chinche Salivosa, Planta de maquiladora de cebos para roedores, laboratorio de Meristemas y laboratorio de Control de calidad y Desarrollo de Proyectos, la otra línea es la de campo que es la de dar acompañamiento a los programas de plagas en las distintas fincas que administra el Grupo Corporativo Santa Ana.

1.2 MARCO REFERENCIAL

1.2.1 Agroindustria del Azúcar.

En Guatemala operan actualmente 12 Ingenios, ubicados en 4 departamentos de la costa del Pacífico. En la zafra 2010-11, estas fábricas cultivaron un área de 235 mil hectáreas, en las que producen 20.8 millones de toneladas de caña molida (2).

Los 12 ingenios generan alrededor de 350,000 empleos directos e indirectos en época de Zafra. De esa suma, 35,000 empleos corresponden a cortadores de caña.



Figura 1 Ingenios Operando en Guatemala.

1.2.2 Grupo Corporativo Santa Ana

A. Misión

Ser el líder por excelencia en la administración estratégica de la agroindustria azucarera, competitivo en el contexto empresarial que nos demanda el siglo XXI, través de un alto grado de tecnificación en todas nuestras áreas y un equipo humano motivad, desarrollado y visionario que nos consolide como un grupo de clase mundial; superándonos permanentemente por medio del mejoramiento continuo, con participación activa a todo nivel, sirviendo de modelo a otras empresas de Guatemala y Centro América para proyectarse al mundo (8).

B. Visión

Somos un Grupo corporativo visionario, comprometido con el progreso y bienestar de Guatemala, dedicado a producir eficientemente bienes y servicios de óptima calidad, derivado de la caña de azúcar, por medio del desarrollo de los recursos humanos y tecnológicos para satisfacer las necesidades de nuestros clientes nacionales e internacionales (8).

C. Políticas de Organización

La política o filosofía de la organización hace mención de varios aspectos que contribuyen para que cada colaborado se pueda desempeñar con profesionalismo.

- Hacer uso de la iniciativa y creatividad.
- Si se tiene ideas nuevas, sugerirlas.
- Conocer las responsabilidades y cumplirlas.
- Trabajo analítico.
- Realice el trabajo cada día mejor.
- Amplié sus conocimientos.
- Piense y actúe en forma positiva.

D. Actividades de Grupo Corporativo Santa Ana.

El Grupo Corporativo Santa Ana tiene dos mercados hacia los cuales comercializa los diversos productos que son aceptados por su calidad.

a. Mercado de Exportación.

i. Azúcar Refinada tipo "A"

Es el azúcar de mayor calidad. Sus especificaciones técnicas son: color 0-45 grados ICUMSA (constituye el factor más importante para este tipo de azúcar), Pol 99.85 mínima y humedad 0.004 por ciento (9).

ii. Azúcar Cruda

Lo constituye el azúcar con un Pol mínimo de 97.9 por ciento.

b. Mercado Interno.

i. Azúcar Blanca Standard (o sulfitada)

Es el azúcar de mayor venta para el consumo nacional. Sus propiedades son Pol 99.4-99.6 por ciento. Color 180-400 ICUMSA, humedad 0.2 por ciento. Contiene vitamina A en una concentración de 12 a 20 ppm. En la Corporación Santa Ana se comercializa bajo la marca "Caña Real" (9).

ii. Azúcar Refina Local

Es un azúcar con 0 - 80 grados ICUMSA, Pol 99.6-99.8 por ciento, Humedad 0.04 por ciento. Este tipo de azúcar al igual que la anterior también está vitaminada. En Santa Ana se empaca bajo la marca Nevada (9).

iii. Azúcar Superior

Es un azúcar con 99.6-99.79 por ciento de Pol, Humedad 0.10 por ciento, olor 80 - 200 ICUMSA (9)

iv. Azúcar Morena:

Es un azúcar con 98-99.4 Pol, 0.40% Humedad y Color 400-800 (9).

v. Melaza:

Se le denomina así a la miel final que se obtiene en el último agotamiento en el ciclo de mazas. Sus especificaciones técnicas son: Brix 85% y pureza entre 30 y 35. Constituye la materia prima para hacer alcohol y rones; además se usa para alimento de ganado. Este producto se distribuye tanto para mercado nacional como para el internacional (9).

vi. Torta de Cachaza

Constituye el lodo filtrado y lavado, producido por la precipitación en el proceso de clarificación de jugo mezclado. Sirve como fuente primaria para abonos orgánicos en la producción agrícola (9).

vii. Energía Eléctrica:

Las especificaciones de este servicio es que la empresa cumpla con la cantidad de MW que se proyecte generar o cogenerar. Dicha generación se efectúa a 69,000 voltios, 60 Hz, trifásica y un factor de potencia de 0.85. Actualmente, estamos generando 40 MW y vendemos 32 MW a la EEGSA (9).

E. Prestaciones y Servicios ofrecidos a los trabajadores.

c. Servicio de Bus:

La empresa para sus distintos trabajadores tiene el servicio de transporte, para las distintas colonias del municipio de Escuintla como, Santa Lucia Cotz. y Masagua se tienen horarios establecidos en relación a los horarios de trabajo .

d. Servicio Médico laboral:

Atiende a los trabajadores que sufren de alguna enfermedad o han tenido algún accidente, así mismo se les proporciona un botiquín portátil, para que se utilice en casos de emergencia, además al personal se les instruye en como prestar primeros auxilios.

1.2.3 Ubicación Geográfica de la Empresa

El Grupo Corporativo Santa Ana está localizado en la finca Cerritos del municipio de Escuintla, del departamento del mismo nombre, las coordenadas son 14° 14´ 34.7“latitud norte y 90° 50´ 35.8“Longitud oeste (7).

Está situado a 4.5 km del municipio de Escuintla y una distancia de 65.6 km de la ciudad capital. Colinda al norte con las carreteras que conducen hacia el municipio de Santa Lucia Cotz, al sur y al este con el municipio de Masagua, Escuintla y al oeste con la finca Rancho María. Las instalaciones del ingenio tienen una extensión de 423.24 Hectáreas (9).

1.2.4 Condiciones Climáticas.

Las condiciones climáticas que imperan en Cerritos presentan una temperatura promedio anual de 25.65 °C, precipitación pluvia oscila entre 2,000 a 3,000 mm/año, distribuidos en 8 meses de los cuales, el mes de mayor precipitación pluvial es septiembre con 700 milímetros de lluvia; la unidad industrial de la corporación está asentada a una altitud de 158 metros sobre el nivel del mar (msnm), y la humedad relativa promedio anual es de 89 % (5).

1.2.5 Suelos

Los suelos se ubican en el ápice y cuerpo de los abanicos planicie fluviovolcanica de pie de monte, el relieve es ligeramente inclinado, con pendientes comprendidas entre el 1 el 3%. Los suelos de esta región fisiográfica son suelos bien drenados, en los cuales el movimiento del agua se facilita en forma superficial y a través de los horizontes que conforman el perfil del suelo; debido a la limitación de raíces son considerados, suelos profundos a pesar de que a los 120 cm. Aparece el lecho de gravilla y cascajo que pueden convertirse en características limitantes para el buen desarrollo radicular de las plantas.

Estos suelos se encuentran dentro la clasificación tierras como parte de la provincia fisiográfica “Llanura Costera del Pacifico”; como categoría de Uso Potencial según el Manual de Clasificación de Tierras del Instituto Nacional de Bosques -INAB- están clasificados como suelos de clase A que corresponde a un soporte de agricultura sin limitaciones, lo cual pueden soportar cultivos agrícolas altamente exigentes en nutrimentos, a la vez que no tienen limitaciones de pendiente, profundidad, pedregosidad o drenaje. Permite cultivos agrícolas en monocultivo o asociados en forma intensiva o extensiva y puede ser objeto de mecanización.

1.2.6 Vías de acceso

El departamento se ubica dentro de la finca Cerritos, se comunica a los municipios de Escuintla a 4.5 kilómetros y a Santa Lucia Cotzumalguapa a 23 kilómetros mediante la carretera al pacífico. Existe una red de calles de terracería, que funcionan para la circulación de vehículos dentro del casco de la finca.

Existen calles de terracería amplias para la comunicación vial en las fincas anexas, así como caminos y rondas para el acceso a los distintos cañales donde se realizan todas las actividades que le corresponde al departamento.

1.2.7 Composición económica y social del lugar.

Los trabajadores que laboran en el ingenio son procedentes de los municipios de Masagua, Santa Lucia Cotz. y Escuintla además de algunas personas que viven en la finca Cerritos. La cantidad de horas de trabajo lo constituyen 9 horas diarias, distribuidas de lunes a sábado; existen una variante para algunos trabajadores que son claves en época de zafra, estos trabajan durante toda la semana (Lunes- Domingo), se forman turnos para realizar un descanso que les permita reincorporarse de nuevo al trabajo.

1.2.8 Estructura organizacional Grupo Corporativo Santa Ana.

El Grupo Corporativo Santa Ana funciona con una estructura jerárquica, también conocida como “Departamentalización Vertical” cuya ventaja consiste en aumentar la calidad en la dirección aumentando los niveles jerárquicos, pero con la desventaja de disparar el costo e la operación. Es dirigida por una Junta directiva y se estructura en seis Divisiones y el Staff de la Gerencia General (8).

F. Gerencia General.

El gerente general es responsable de dirigir, planificar, coordinar, supervisar, controlar y evaluar las actividades de la gestión técnica y administrativa de las gerencias de división e impartir las instrucciones para la ejecución de las funciones correspondientes, además de definir e interpretar las políticas establecidas por la dirección. El correcto desempeño de estas obligaciones requiere de un conocimiento funcional de todas las fases de la operación de la empresa, y una buena comunicación con sus subordinados (9).

G. División de recursos Humanos.

Su misión es satisfacer en forma eficaz los requerimientos de los recursos humano adecuado mediante técnicas y procedimientos actualizados, propiciando las condiciones óptimas para su desarrollo personal y dentro de la empresa, con el propósito de lograr la mayor eficiencia del Grupo Corporativo (9).

H. División administrativa.

Es la división completamente de servicios, comprometida con todas las divisiones del corporativo, a quienes asisten en sus necesidades en forma eficiente y oportuna, a través de una organización adecuada, utilizando recurso humano capacitado y tecnología para satisfacer a sus clientes (9).

I. División Industrial

Es la parte que se encarga de la transformación de la caña de azúcar y otros derivados, administrando los recursos humanos, físicos y tecnológicos para satisfacer las necesidades de los clientes nacionales e internacionales (9).

J. División de informática

Organización encargada de proporcionar soluciones relacionadas con la planificación, comunicaciones, tecnología de la información, comunicaciones, automatizaciones industrial y control de proceso para optimizar la producción y administración (9).

K. División Financiera.

La adecuada administración de los recursos financieros, para la ejecución del proceso productivo, del funcionamiento e inversión generando información financiera confiable y oportuna, a través del desarrollo de recurso humano, de procedimientos u tecnología actualizada, para la adecuada toma de decisiones de la administración del Grupo Corporativo Santa Ana (9).

L. División agrícola y servicios

Es un equipo multidisciplinario, cuyo compromiso fundamental es el aprovechamiento integral sostenible de los recursos naturales, para producir caña de azúcar, otros productos agrícolas, servicios de cosecha, taller y transporte (9).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Generales

Conocer la situación actual del Departamento Técnico Agrícola e identificar los principales proyectos investigaciones del Laboratorio de Control de Calidad y Desarrollo de Proyectos, Departamento Técnico Agrícola, Grupo Corporativo Santa Ana, Escuintla

1.3.2 Específicos

- a) Conocer la estructura del Departamento Técnico Agrícola Grupo Corporativo Santa Ana.
- b) Identificar las diferentes actividades que realiza el Departamento Técnico Agrícola
- c) Identificar los diferentes problemas del Departamento Técnico Agrícola

1.4 METODOLOGÍA

1.4.1 Delimitación del sistema

El sistema sujeto a estudio del Ingenio Santa Ana fue el departamento Técnico Agrícola, en la cual se consideraron todos los elementos y factores relacionados con el funcionamiento del ingenio, Así como el rol del departamento en la productividad que se maneja, esta fase se realizó a través de información primaria de jefe del Departamento Técnico Agrícola.

1.4.2 Determinación de los problemas del Departamento

Los problemas del Departamento Técnico Agrícola, se establecieron a través de la observación, y diálogo con los encargados de cada laboratorio del departamento, siendo los problemas encontrados temas a estudiar para establecer las causas de los problemas.

1.4.3 Herramientas utilizadas

Las herramientas que se utilizaron para recolectar la información cualitativa fueron entrevistas personales (6 entrevistas; Jefe de Departamento y jefe de cada laboratorio), en la entrevista se preguntaron los roles del departamento y su historia, además observo los procesos que se realizan en cada uno de los laboratorios, ejecutándose tanto en el campo como en las instalaciones del departamento técnico agrícola.

A. Entrevistas

Este sistema se realizó con las distintas personas encargadas de los laboratorios.

B. Observaciones

Esto sirvió principalmente en la ampliación de las descripciones de las áreas, cuyo contenido es analizado mediante observaciones realizadas en cada una de las áreas de la empresa, así como de las áreas en donde se ejecutaran los proyectos.

C. Sondeos

Durante las dos primeras semanas del mes de Febrero de 2013 se realizaron recorridos por las fincas y laboratorios guiados por el encargado de las fincas. Durante las visitas fue posible observar y consultar aspectos relacionados al manejo del cultivo de caña, y el funcionamiento de los laboratorios.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del diagnóstico se presentan a continuación en el cual se analizó la información obtenida del Departamento Técnico Agrícola, Grupo Corporativo Santa Ana.

1.5.1 Estructura organizacional

El departamento Técnico Agrícola del Ingenio Santa Ana se encuentra conformado por el jefe de departamento, coordinador de laboratorio, jefe de sección y los diferentes jefes de laboratorio de las distintas unidades de producción, el jefe del departamento es el que se encarga de planificar y de coordinar las actividades de laboratorio y labores de campo.

A continuación se presenta el organigrama del Departamento Técnico Agrícola

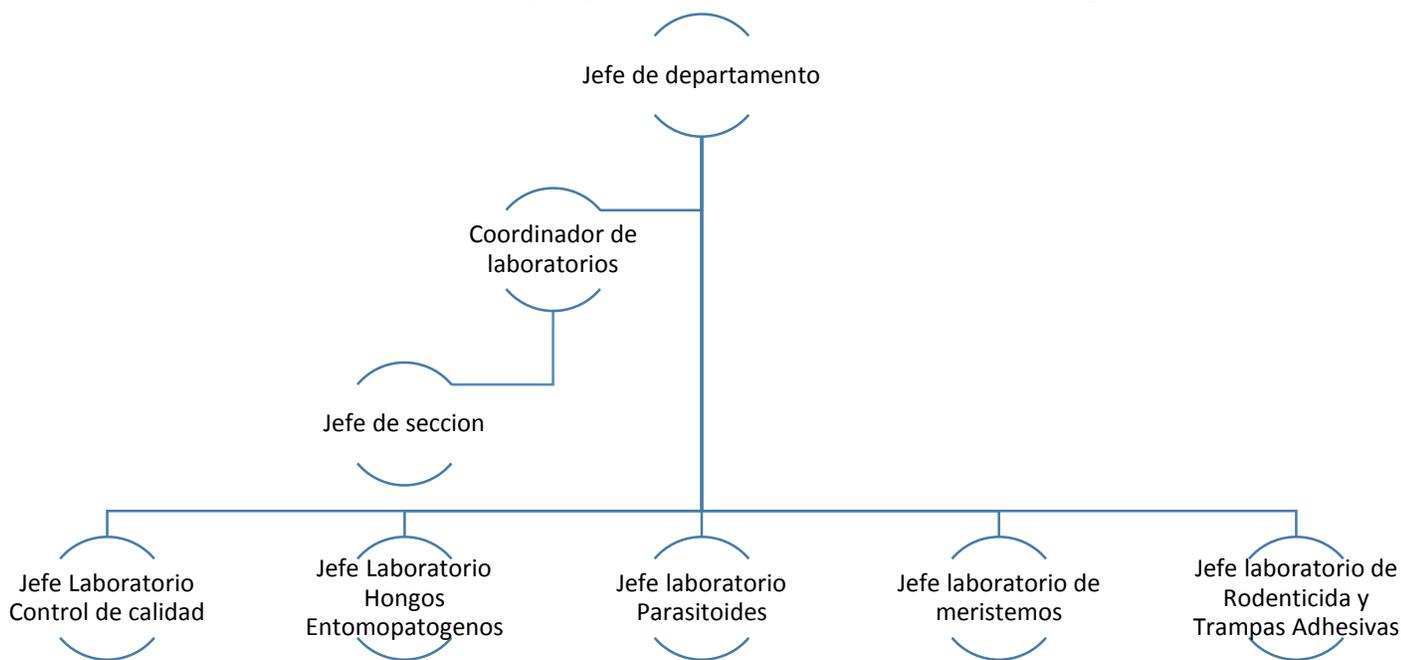


Figura 2 Organigrama Departamento Técnico Agrícola

1.5.2 Datos generales

El departamento Técnico agrícola, tiene a su cargo las aplicaciones, insecticidas así como el manejo y control de plagas; también es el responsable de la producción de parasitoides, producción de entomopatógeno, cebos para roedores, trampas adhesivas para chinche salivosa y producir semilla de calidad libre de plagas y enfermedades ver figura 3.

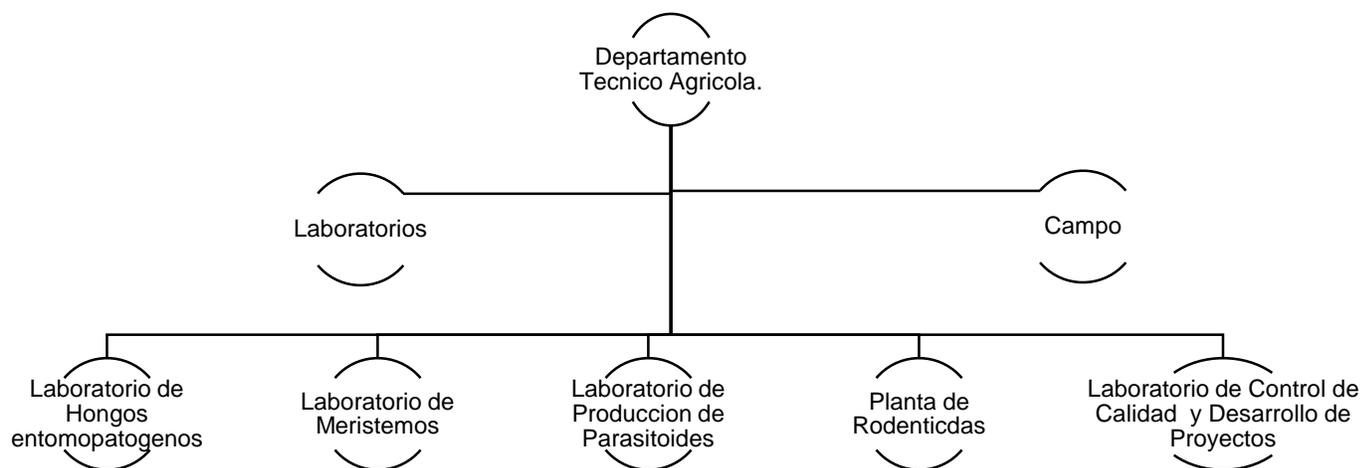


Figura 3 Conformación del Departamento Técnico Agrícola

1.5.3 Laboratorios

A. Laboratorio de producción de hongos entomopatógeno

El laboratorio de hongos entomopatógeno es la dependencia del Departamento Técnico Agrícola encargada de la producción microorganismos patógenos de insectos plaga y enfermedades.

En la caña de azúcar existe un insecto plaga del genero *Aeneolamia* (Hemiptera; Cercopidae), conocido como chinche salivosa; salivazo, alimentándose mayormente de gramíneas; en Guatemala ha sido considerada como una plaga primaria desde 1990 (6).

El adulto de esta plaga se alimenta de la savia de las hojas, inyectando una sustancia toxica que ocasiona necrosis de los tejidos.

Metarhizium anisopliae es un microorganismo patógeno de la familia de los cercopidos como por ejemplo el complejo de *Aeneolamia sp*, que ataca el cultivo de caña de azúcar. El cuadro 1 presenta lo que produce principalmente en el laboratorio de hongos entomopatógeno.

Cuadro 1 Plagas, enfermedades y hongos patógenos de cada una de ellas.

Plaga o enfermedad	Hongo promisorios
Chinche Salivosa (<i>Aeneolamia sp</i>)	<i>Metarhizium anisopliae</i>
	<i>Paecylomyces lilacinus</i>
Barrenador (<i>Diatraea sp</i>)	<i>Beauveria bassiana</i>
Chinche de encaje (<i>Leptodictya tabida</i>)	<i>Beauveria bassiana</i>
Saltón Coludo (<i>Saccharosydne saccharivora</i>)	<i>Metarhizium anisopliae</i>
	<i>Beauveria bassiana</i>
<i>Cephalosporium sacchari</i>	<i>Trichoderma sp.</i>

Para la producción de hongos patógenos hay que tomar en cuenta aspectos importantes, principalmente la asepsia, manejo, y las condiciones (temperatura, humedad y horas luz) para producirlos. En el Laboratorio de Producción de Hongos Entomopatógeno se dedica a producir diferentes tipos de hongos, así también la investigación de cepas y hongos nuevos.

B. Laboratorio de producción de parasitoides

Ingenio Santa Ana, como parte del control de *D. crambidoides* en el cultivo de caña de azúcar en las fincas que se encuentran bajo su administración, realiza la liberación del parasitoide *Cotesia flavipes*. El laboratorio de parasitoides se dedica a la producción de la micro avispa para el control de barrenador del tallo (*Diatraea sp*). Las avispas son producidas utilizando como huésped la especie *Diatraea saccharalis*.

Además de la producción de parasitoides el laboratorio de parasitoides del ingenio Santa Ana se encuentra actualmente con la producción de *Diatraea crambidoides*. Producción que será utilizada en un proyecto conjunto con el Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) por medio de Mosca del Mediterraneo (MOSCAMED) en Guatemala, para la liberación de adultos estériles en campo. Dicha investigación busca reducir la población de *D. crambidoides*.

Para el proyecto de adultos estériles el laboratorio se dedica a la producción de pupas de la especie *D. crambidoides* que luego son esterilizadas en la planta de irradiación del programa MOSCAMED, después las pupas se esperan que emerjan los adultos y se liberan en los campos para que copulan las especies de campo y la descendencia de estos serán estériles.

C. Laboratorio de producción de cebos para roedores

La rata de campo es de las plagas de importancia económica con amplia distribución en la zona cañera de Guatemala ya que al menos 109,475 hectáreas son monitoreadas en cosecha (4,5).

La planta de cebos para roedores se dedica a la producción de en masa de mezcla de maíz quebrantado, harina de maíz, esencia de vainilla y como ingrediente activo el coumatetralil para el control en campo de la plaga *Sigmodon hispidus*.

D. Planta de producción de trampas adhesivas para chinche salivosa

El uso de trampas es una de las técnicas más utilizadas en la detección, control y monitoreo de los insectos. En las trampas se puede utilizar insecticidas de cierta volatilidad u otros sustancias como liquido pegajoso o bien un recipiente con agua, aceite etc.

Actualmente se utiliza las trampas adhesivas o pegajosas para el control y monitoreo de la chinche salivosa (*Aeneolamia sp*), en el cultivo de caña de azúcar, que consiste en superficies cuadradas de 0.8 m por 0.6 m, las cuales son impregnadas con pegamento "Stickem" con el fin de que los insectos sean atrapados y retenidos. La eficiencia de este tipo de control radica exclusivamente en focos, procurando localizar estos rápidamente a manera que no se extiendan y causen daño foliar en los cultivos de caña de azúcar (6).

La planta de se dedica a la producción de trampas verdes con pegamento de las siguientes dimensiones 0.8m por 0.6 m.

E. Laboratorio de biotecnología

La palabra micropropagación ha sido utilizada para definir las distintas técnicas empleadas para la multiplicación de plantas in vitro y tiene como premisa que las plantas resultantes del proceso sean fenotípica y genotípicamente idénticas a la planta que les dio origen. Siendo la técnica de formación de yemas axilares el sistema de regeneración más empleado para la producción de vitroplantas con fines comerciales, debido a la estabilidad genética del material que se obtiene y la facilidad con que puede ser establecido el método en distintas especies.

En el caso de la caña de azúcar cobra especial importancia este método de propagación dados los problemas sanitarios relacionados con la producción de semilla por métodos tradicionales y los bajos coeficientes de multiplicación de esta especie que impide la rápida propagación de plantas libres de enfermedades y la introducción a la producción de variedades promisorias.

F. Laboratorio de control de calidad y desarrollo de proyectos

El laboratorio de control de calidad y desarrollo de proyectos tiene dos funciones, la primera es el control de calidad de los productos de los diferentes laboratorios que tiene adscrito el departamento técnico agrícola. Y la otra es la generación de nuevas tecnologías a través de la investigación y validación en campo.

Las actividades que se desarrollarán en esta unidad para cada laboratorio son:

a. Laboratorio de parasitoides

- i. Certificación de salas. (Monitoreo de contaminantes) Placas.
- ii. Monitoreo de contaminantes en cajas plásticas utilizadas en el proceso productivo.
- iii. Control de calidad de vasos de liberación.
- iv. Eficiencia de parasitación con larvas de campo.
- v. Auditar producción vrs Liberación.
- vi. Selección, mantenimiento y producción de biotipos de *Cotesia flavipes*.
- vii. Parasitismo de las liberaciones comerciales de *Cotesia flavipes*.
- viii. Certificación de crisálidas.

b. Laboratorio de hongos entomopatógeno (*Metarhizium anisopliae*)

- i. Concentración de conidios/gramo.
- ii. Viabilidad de hongo almacenado en cuartos fríos y de aplicaciones.
- iii. Pureza (determinación de presencia de contaminantes u otros hongos).
- iv. Patogenicidad (huevos, ninfas y adultos).
- v. Virulencia (TL₅₀ y TL₉₀).
- vi. Muestreos y análisis de UFC (unidades formadoras de colonia).
- vii. Parasitismo de campo.

c. Unidad de huevos de “chinche salivosa”

- i. Realización y certificación de los análisis de suelo para la determinación de huevos fértiles de la “chinche salivosa”

d. Líneas de investigación

- i. Producción de hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Paecylomyces lilacinus*.

- ✓ Colaborar en el desarrollo de investigaciones para la producción de estos hongos
- ✓ Concentración de conidios/gramo
- ✓ Viabilidad de laboratorio y de aplicaciones
- ✓ Pureza (determinación de presencia de contaminantes u otros hongos)
- ✓ Patogenicidad (huevos, ninfas y adultos)
- ✓ Virulencia (TL50 y TL90)
- ✓ Parasitismo de Campo

- ii. Proyecciones para aplicaciones de *Bacillus thuriangiensis* y reguladores de crecimiento.

- iii. Plagas de Suelo y otras plagas

Selección de cepas de hongos entomopatógenos para estudios con:

- ✓ *Phyllophaga* spp
- ✓ Termitas
- ✓ Ron-Ron

- iv. Estudios en otras plagas

- ✓ Chinche de encaje *Leptodyctia tabida*
- ✓ Coludo *Saccharosydne saccharivora*
- ✓ *Elasmopalpus lignoselus*
- ✓ Áfidos.

v. Producción de otros biocontroladores

- a) Hacer estudios de reproducción y eficiencia de otros parasitoides larvales y pupas del complejo de barrenadores presentes en diferentes fincas de la empresa.
- b) Mantenimiento del pie de cría y producción de crisálidas de *Diatraea crambidoides* para la ejecución del proyecto “esterilidad de adultos de *Diatraea* spp”.
- c) Obtención del pie de cría *Diatraea crambidoides* de larvas colectadas en la labor de entresaque de corazón muerto.

1.5.4 Acompañamiento técnico en campo

El departamento técnico además del manejo de los laboratorios, da acompañamiento y tiene la responsabilidad de que los programas de plagas (Barrenador, Chinche salivosa y roedores) se ejecuten en las distintas fincas que están bajo administración del Ingenio. Para esto el departamento tiene un técnico capacitado en cada una de las regiones en las que se divide el ingenio, este técnico coordina, da acompañamiento, supervisa que cada una de las labores de plagas se realicen de la mejor manera en cada finca.

A. Manejo de información

El manejo de la información es básica en cada programa para verificar las eficiencias e impactos que tienen los programas de plagas en campo, para esto el Departamento Técnico Agrícola tiene una unidad que se encarga del manejo de la información de los diferentes paquetes de plagas que se detallan continuación.

a. Roedores

Se lleva un control de las poblaciones de la plaga el cual se gráfica y se hacen mapas con escalas por daño para identificar las áreas con mayor infestación y poder hacerles el respectivo control, esta plaga es constante por lo cual esta información se maneja todo el año.

b. Chinche salivosa

El monitoreo de chinche salivosa comienza al presentarse las primeras lluvias de la temporada de invierno. Se recomienda el monitoreo de Precisión en el área endémica y con alto riesgo de daño; así como el monitoreo semi detallado en el resto del área para detectar la expansión de la plaga y migraciones.

Se hacen mapas semanales con escalas por daño para identificar las áreas con mayor intensidad y poder hacerles el respectivo control. Esta plaga se monitorea en los meses de mayo a octubre y se monitorea en estado de ninfa y adulto.

c. Daño foliar

El adulto de chinche salivosa se alimenta de la savia de las hojas, inyectando una sustancia toxica que ocasiona necrosis de los tejidos.

El daño foliar es un monitoreo el cual consiste de las hojas de caña de azúcar para el evaluar la intensidad de daño de la chinche salivosa.

Este se hace al finalizar la temporada (un único muestreo) de chinche salivosa, consiste en monitorear los focos en donde hubo mayor presencia de plaga. El daño foliar también se representa en mapas con escalas de daño que van de 0% , 0.1 – 20% 20.1 – 40%, 40.1 – 60%, 60.1 – 80%, 80.1 – 100%. Esta es una herramienta para medir el impacto de paquete de manejo integrado de chinche salivosa.

d. Muestro en los frentes de corte

El monitoreo de cosecha se realiza para los siguientes parámetros infestación e intensidad de infestación de barrenador, infestación e intensidad de infestación de roedor, muermo rojo, termita y ronrón en cosecha. Este muestreo mide el impacto de los diferentes paquetes de manejo integrado de plagas y sirve como parámetro para las medidas de control en los diferentes lotes para la siguiente temporada. Esta información se maneja en los meses de noviembre a mayo y también se presenta en mapas con escalas de daño y cuadros en donde los datos van representados por número de corte, variedad. Esta información se va comparando con la temporada anterior.

1.5.5 Matriz de priorización de problemas

La matriz se utiliza cuando se quiere jerarquizar los problemas encontrados en el diagnóstico y así poder corresponder a los problemas más importantes para encontrar una forma de solucionarlos.

Con la información primaria y secundaria que fue recopilada en los diferentes laboratorios se concluye que en el laboratorio de control de calidad y desarrollo de proyectos es donde se tienen más investigaciones pendientes (problemas) por lo que se decidió trabajar únicamente en este laboratorio.

En el cuadro 2, 3 y 4 se observa la matriz de prioridades de investigaciones del Departamento Técnico Agrícola, primero la investigación sobre la preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes* sobre el barrenador del tallo *Diatraea crambidoides* para conocer más sobre los factores que inciden en la relación parasitoide-huésped y además se desea conocer las dosis letales del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre larvas penetrantes del barrenador del tallo.

Cuadro 2 Matriz de priorización de problemas.

Problema	PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>	Evaluación de seis dosis del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> para barrenador
PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>		PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>
Evaluación de seis dosis del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> para barrenador	PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>	

Cuadro 3 Jerarquización de problemas por frecuencia y rango

No.	Problema	Frecuencia	Rango
1	PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>	2	1
2	Evaluación de seis dosis del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> para barrenador	0	2

Cuadro 4 Priorización de problemas identificados en Departamento Técnico Agrícola

No.	Problemas identificados
1	PREFERENCIA DE PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> Cameron (Hymenoptera: Braconidae), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE <i>Diatraea crambidoides</i>
2	Evaluación de seis dosis del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> para barrenador

1.6 CONCLUSIONES

El Departamento Técnico Agrícola se conforma del jefe de departamento, coordinador de laboratorios, jefe de sección, los jefes de cada laboratorio y técnicos de plagas, por lo que se concluye que está bien conformado el Departamento Técnico Agrícola.

El Departamento Técnico Agrícola tiene dos líneas de trabajo, acompañamiento en campo y laboratorios. En la parte de campo se da acompañamiento y verificación que los paquetes de manejo de plagas se realicen como se han diseñado. En laboratorio se tiene un laboratorio específico para cada una de las plagas de importancia económica, para chinche salivosa laboratorio de hongos entomopatógenos y trampas adhesivas, barrenador (*Diatraea sp*) laboratorio de producción de parasitoides, para el control de roedores esta planta de producción de cebos.

Dentro de las prioridades del departamento está la generación de nuevas opciones de control de las distintas plagas y optimizar los paquetes de manejo de plagas que se están utilizando actualmente. Debido a eso se propusieron las siguientes investigaciones en la línea de control de barrenador del tallo (*Diatraea sp*) la primera es la generación de más información sobre la relación entre el parasitoide *C. flavipes* y el barrenador del tallo determinar la preferencia de parasitismo. Además se necesita determinar las dosis letales del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre el barrenador del tallo (*Diatraea sp*).

1.7 BIBLIOGRAFÍA

1. Arroyo, L. 2013. Informe programa manejo integrado de barrenadores, zafra 2013-2014. Escuintla, Guatemala, Grupo Corporativo Santa Ana. 3 p.
2. ASAZGUA (Asociación de Azucareros de Guatemala, GT). 2013. Informe anual. Guatemala. 36 p.
3. BANGUAT (Banco de Guatemala, GT). 2014. Exportaciones totales (en línea). Guatemala. Consultado 14 oct 2014. Disponible en www.bancodeguatemala.com.gt/exportaciones
4. Márquez, J. 2012. Manejo integrado de plagas. *In* Cultivo de la caña de azúcar en Guatemala. Guatemala, CENGICAÑA. p. 203-231.
5. Márquez, J; López, E. 2002. Nivel de daño económico para las plagas de importancia en caña de azúcar y su estimación con base en un programa diseñado por CENGICAÑA. Guatemala, CENGICAÑA. 9 p.
6. Morales Massella, MA. 1998. Evaluación de trampas adhesivas sobre la captura de insectos dañinos e insectos benéficos en la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en la finca California, Escuintla. Tesis Ing Agro. Guatemala, USAC. 120 p.
7. Paz Fong, PD. 2010. Determinación del coeficiente de uniformidad en los sistemas de riego por pivotes en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y servicios prestados en la finca Bolivia del Ingenio Santa Ana, Escuintla. Tesis Ing Agr. Guatemala, USAC. 139 p.
8. Pérez Solares, GA. 2008. Elaboración de la documentación previa a la certificación ISO 9001:2000, del laboratorio de parasitoides *Cotesia flavipes*, Ingenio Santa Ana. Tesis Ing. Mecánico Industrial. Guatemala, USAC. 322 p.
9. SantaAna, GT. 2014. Descripción generales de Ingenio Santa Ana (en línea). Guatemala. Consultado 25 feb 2013. Disponible en <http://www.santaana.com.gt/>

1.8 ANEXOS

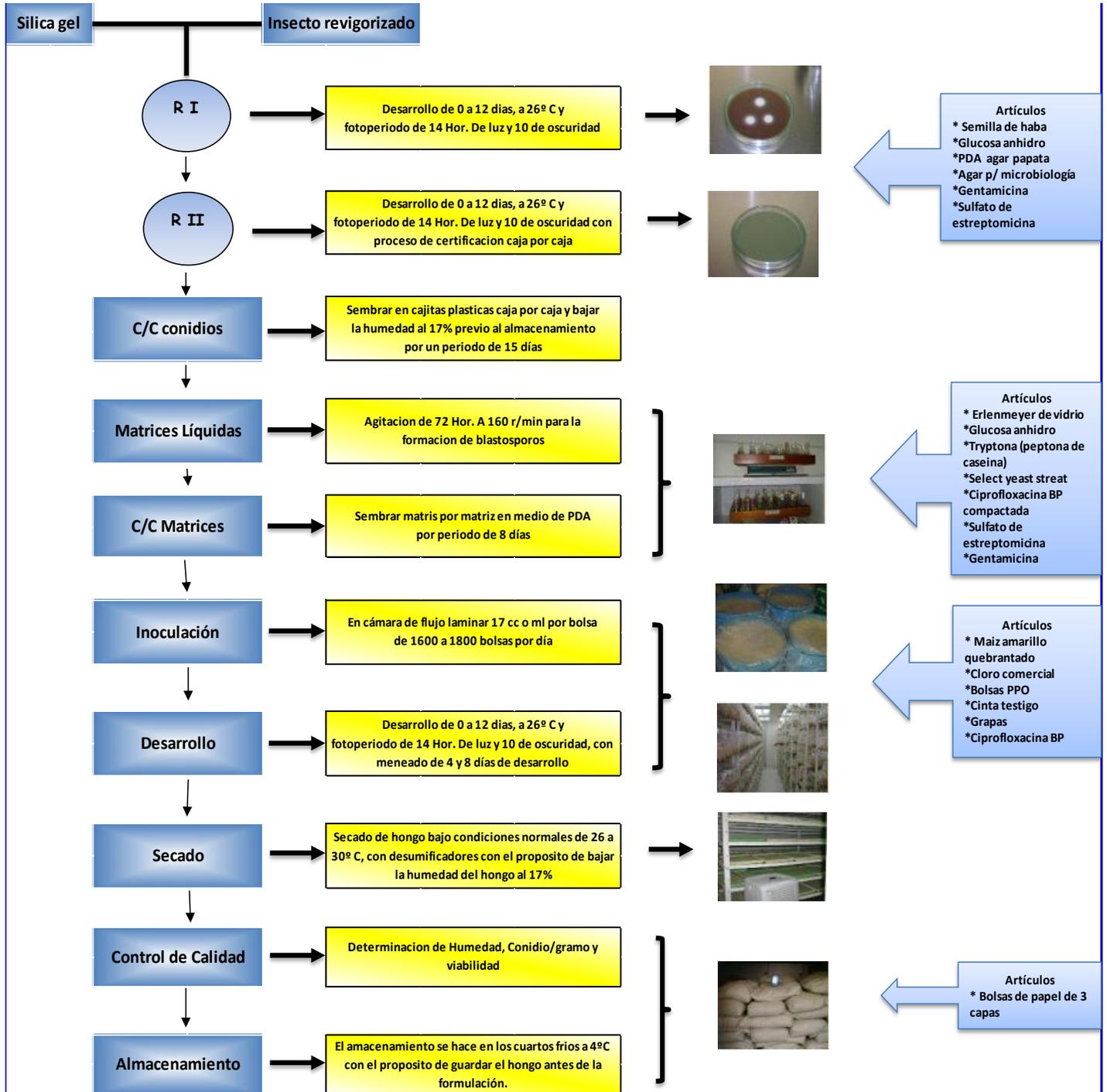


Figura 4 Metodología de producción de *Metarhizium anisopliae* utilizando como sustrato maíz quebrantado.

Fuente: Ingenio Santa Ana.

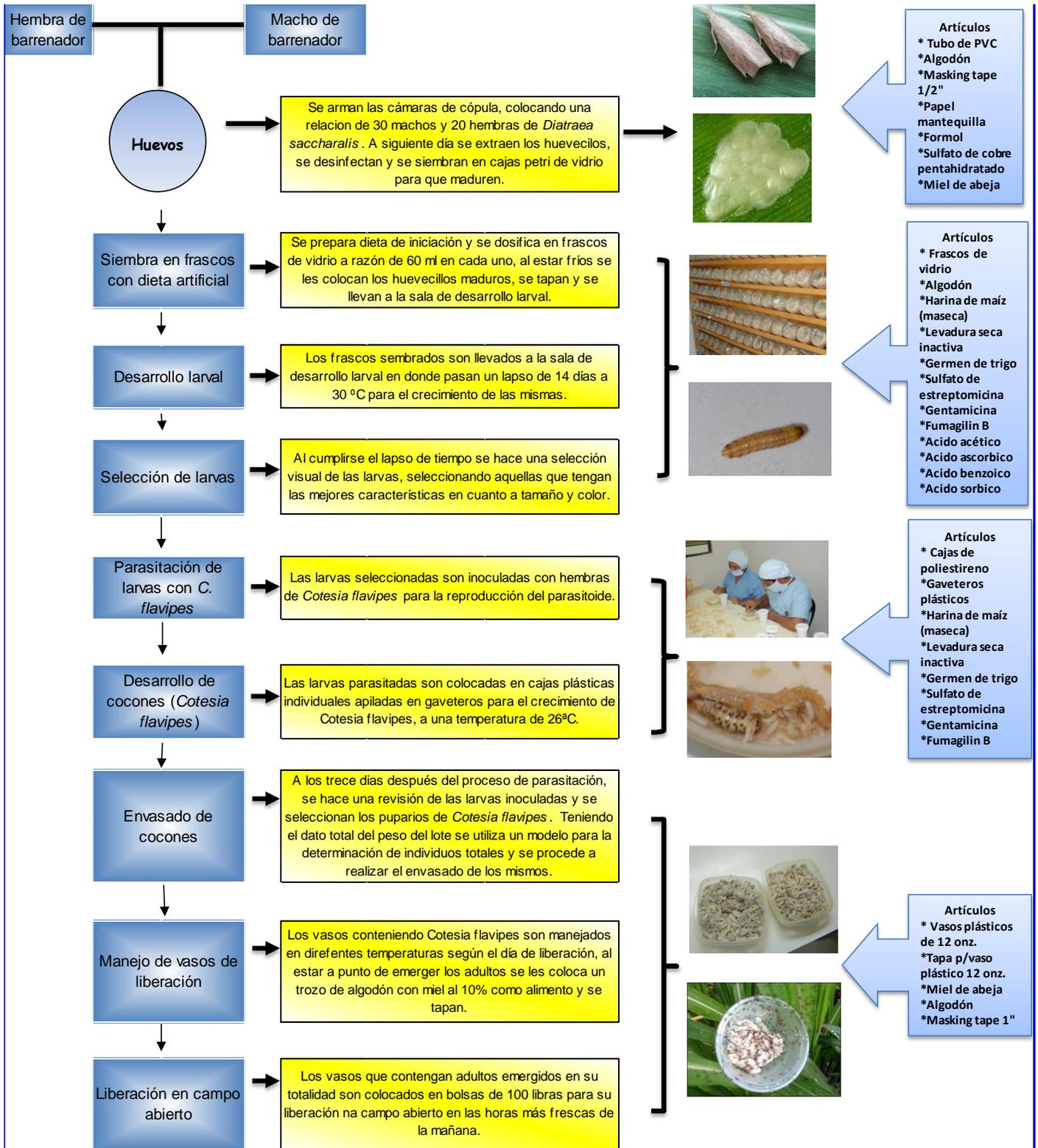


Figura 5 Metodología de producción de *Cotesia flavipes* utilizando como huésped *Diatraea saccharalis*
 Fuente: Ingenio Santa Ana.

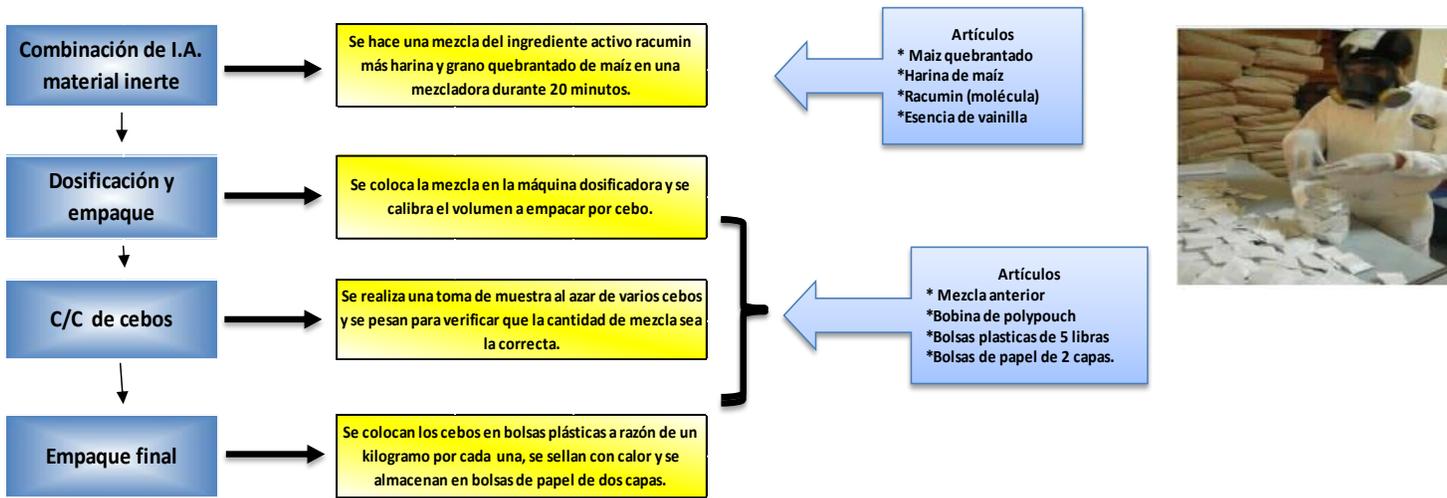


Figura 6 Metodología de producción de cebos para control de *Sigmodon hispidus* (rata cañera)

Fuente: Ingenio Santa Ana.



Figura 7 Metodología de producción de trampas verdes adhesivas para el control de chinche salivosa.

Fuente: Ingenio Santa Ana.

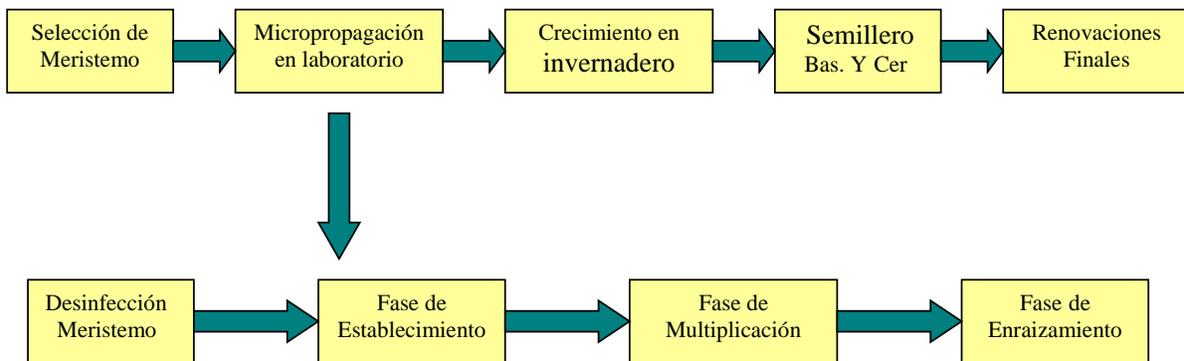


Figura 8 Metodología de producción de plántulas a través de multiplicación in vitro.

Fuente: Ingenio Santa Ana.

**CAPÍTULO II PREFERENCIA DE PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* CAMERON
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE), SOBRE DIFERENTES INSTARES DE *Diatraea
cramboides* GROTE (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).**

2.1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de la caña de azúcar es de importancia para la agroindustria nacional ocupa el segundo lugar en exportaciones y genera divisas para Guatemala (7). En los últimos años la caña de azúcar se ha extendido en toda la zona sur de la república de Guatemala convirtiéndose en un monocultivo a gran escala, debido a esto la incidencia de plaga también aumenta.

Entre las plagas que afectan al cultivo de la caña de azúcar, se mencionan principalmente, los barrenadores *Diatraea crambidoides* y *Diatraea saccharalis* (Lepidóptera: Crambidae) (24,13), causan pérdidas de 32.4 kg de azúcar/hectárea por cada unidad porcentual de intensidad de infestación en la caña (entrenudos barrenados/entrenudos evaluados x100) para una producción de promedio de 90 t/ha (19).

Según El Comité de Manejo Integrado de Plagas (CAÑAMIP) (19) las especies del género *Diatraea* que tienen mayor distribución geográfica en Guatemala son *D. crambidoides* (Grote), tiene una abundancia relativa del 73 por ciento y *D. saccharalis* (Fabricius) la cual tiene una abundancia relativa del 27 por ciento, están presentes en el estrato bajo y litoral (19), Garzona (14) reporta que *D. crambidoides* tiene una mayor presencia en el estrato alto y bajo en relación con *D. saccharalis*, siendo el estrato medio en donde la presencia de ambas especies son similares, aunque predomina siempre *D. crambidoides* (14).

Según reportes del Programa Manejo Integrado de Barrenadores del Ingenio Santa Ana en el año 2006 la abundancia relativa de barrenadores era de 60 por ciento para *D. crambidoides* y 40 por ciento para *D. saccharalis*. En el año 2012 la abundancia relativa de estas especies era de 95 y 5 por ciento respectivamente; por lo que se concluye el desplazamiento de especies en el estrato litoral (3).

El barrenador del tallo *D. crambidoides*, en la zafra 2013-2014 de las 24 ,974 Hectáreas bajo administración de Grupo Corporativo Santa Ana, 4,918.26 Hectáreas presentaron una intensidad de infestación mayor al 2% (3).

En Ingenio Santa Ana, como parte del control de *D. crambidoides* en el cultivo de caña de azúcar en las fincas que se encuentran bajo su administración, realiza la liberación del parasitoide *Cotesia flavipes*.

Cotesia flavipes es un parasitoide de los barrenadores del tallo de las familias Pyralidae y Noctuidae. Para la especie *D. saccharalis* puede alcanzar parasitismos en un 74 por ciento en condiciones de laboratorio (15, 25) y un 53.4 por ciento a nivel de campo (28); para *D. crambidoides* según Morales (25) el parasitismo es de 34 por ciento. Gómez (15) reporta parasitismo de 63 por ciento, en ambos estudios realizados no se tomó como variable el instar larval. Según información del programa de Manejo Integrado de Barrenadores del Departamento Técnico Agrícola del Ingenio Santa Ana el parasitismo de *C. flavipes* sobre *D. crambidoides* en campo no supera el 10 % (3).

El bajo parasitismo en campo de *Cotesia flavipes* sobre *D. crambidoides* es influenciado por varios factores, entre ellos podemos mencionar; el momento de la liberación del parasitoide en campo, la densidad de parasitoides a liberar, la distribución del parasitoide en campo. Como factores bióticos se señala principalmente la edad del hospedero (15,31); según Hernández (16) no encontró diferencia en diferentes edades (16, 17 y 18 días) del hospedero (*D. saccharalis*) parasitados con *C. flavipes* pero no evaluó los instares larvales. Para la especie *D. crambidoides* no existe documentación detallada de la preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes* sobre los instares III, IV y V de larvas del barrenador de la caña de azúcar.

Por la importancia de *C. flavipes* utilizado para control biológico en la industria azucarera es necesario la generación de información sobre el manejo de este parasitoide sobre la especie *D. crambidoides* que ha desplazado a *D. saccharalis* ya que antes de la aparición de *D. crambidoides* el control con este parasitoide sobre *D. saccharalis* era exitoso hasta un 60 por ciento de parasitismo (3). Determinar el instar larval de *D. crambidoides* en el cual *C. flavipes* logra el mayor parasitismo ayuda a determinar el momento adecuado para la liberación del parasitoide en campo y de esta manera ser más eficientes en el manejo de la regulación de las poblaciones de barrenador del tallo.

Se realizó este trabajo de investigación, con el fin de determinar el efecto de la edad del hospedero *D. crambidoides* en la preferencia de parasitación de la micro avispa *C.*

flavipes. Se sometió a estudio el III, IV y V instar del barrenador *D. crambidoides*, para determinar en cual o cuales de los instar se obtenía una mayor preferencia de parasitismo de *C. flavipes*. Las variables de respuesta que se midieron en el ensayo fueron; la preferencia de parasitismo, el porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* sobre larvas de *D. crambidoides* en los instares III, IV y V. La tercera variable respuesta que se evaluó fue el porcentaje de encapsulamiento.

Luego de realizar el ensayo en laboratorio y someter los datos obtenidos al análisis estadístico se determinó que el instar de preferencia es el IV, según el análisis de varianza y separación de medias por Tukey,

El porcentaje de parasitismo en cada instar es estadísticamente diferente, siendo el instar V en el que se desarrolla de mejor forma el parasitoide, para la variable porcentaje de encapsulamiento son estadísticamente diferentes, siendo el instar III el que provoca más encapsulamiento.

Por lo que se concluye que el instar larval que presenta una mayor preferencia de parasitación es el instar IV, no obstante el mejor desarrollo del parasitoide *Cotesia flavipes* se logra en el instar V.

2.2 MARCO CONCEPTUAL

2.2.1 Marco Conceptual

A. Cultivo de la caña de azúcar (Importancia)

Según el Banco de Guatemala en el año 2013 el Azúcar, con US\$ 941.9 millones (9.3% del ingreso de las exportaciones), ocupa el segundo lugar entre los productos de mayor exportación, esto refleja la importancia del cultivo de la caña de azúcar en la economía nacional (7).

El cultivo es importante debido a que genera diversos empleos tanto directos como indirectos durante la temporada de zafra, necesita de recurso humano para su operación y por lo tanto beneficia a la población de la región.

La agroindustria azucarera guatemalteca representa el 31 % del valor total de la exportación agrícola guatemalteca y 9.3 % de las exportaciones totales del País. Es el sector económico que más divisas genera en nuestro país. Durante el año 2013, el azúcar y la melaza produjeron un ingreso de US\$978.1 millones. La agroindustria azucarera guatemalteca, que representa alrededor del 3% del PIB nacional, genera 425,000 empleos directos e indirectos, 32,000 corresponden a cortadores de caña (4).

Guatemala es el segundo lugar en volumen de exportación y cuarto productor en América Latina y el Caribe, a nivel mundial es el cuarto exportador y tercer productor por hectárea; produce el 51% del total de azúcar en Centroamérica, asimismo consume el 48% de su producción (4).

B. Manejo Integrado de Plagas

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) es un concepto amplio que se refiere a un sistema de manejo de poblaciones plagas, que utiliza todas las técnicas adecuadas en una forma compatible, para reducir dichas poblaciones y mantenerlas por debajo de aquellos niveles capaces de causar daño económico (20). Combina e integra los métodos químicos, culturales, físicos, etológicos, genéticos y biológicos, con el propósito de reducir las pérdidas económicas.

a. Nivel de Daño Económico

El nivel de daño económico se interpreta como la densidad poblacional de la plaga en la cual el costo de la medida de control iguala al beneficio económico esperado por la acción de la misma. Es decir, que la acción de control “salva” una parte del rendimiento, el cual se hubiera perdido si no se toma la decisión de hacer el control. Esta condición se expresa por la ecuación siguiente (20)

$$C = ID \times D \times P \times K$$

De donde:

C = Costo económico asociado a la medida o plan de manejo de la plaga

ID = El índice de daño determinado para la plaga

D = Densidad poblacional de la plaga

P = Precio unitario de venta del producto

K = El grado de supresión de la plaga, efectuado por la medida de control

El rendimiento salvado o protegido tiene un valor monetario, el cual se estima utilizando parámetros biológicos y económicos que se encuentran representados por (ID, D, P, K) y que en total debe ser igual al valor monetario que invertimos en la acción de control (C), es decir, que el NDE es la densidad poblacional de la plaga donde el valor del rendimiento salvado o protegido cubre exactamente los gastos del control invertidos. Esto indica que si la densidad de la plaga es menor a este valor establecido, no sería rentable, por ahora, implementar dicha práctica de control (20).

b. El umbral económico (UE) o umbral de acción

El umbral económico se define como la densidad poblacional de la plaga en donde el productor debe iniciar la acción de control para evitar que la población sobrepase el Nivel de Daño Económico, en el futuro. Esto se plantea así porque se supone que hay un tiempo que transcurre entre la estimación de la densidad (monitoreo) y el control de la plaga. Es por ello, que el umbral de acción (UE) es una densidad menor que el NDE para permitir el tiempo en que actúa el método de control. Es muy difícil de

estimar porque depende de la dinámica poblacional de la plaga, pero en forma práctica se determina como el 50 por ciento del NDE, es decir la mitad. El programa estima este umbral, el cual debe servir para orientar las medidas de control. Salvo aquellos casos en donde el manejo de la plaga se realiza con énfasis en las medidas preventivas, el uso del NDE y el umbral técnico de control no tendrán necesariamente una utilidad práctica ya que predomina el primer criterio (20).

C. Plagas de caña de azúcar

Las plagas en el cultivo de caña de azúcar, tiene dos grupos; la primera son las de importancia económica que son las que pueden repercutir en una baja cuantiosa en la producción final de un ciclo del cultivo y las plagas potenciales que se dan esporádicamente o por cambios de condiciones climáticas favorables para que se presenten pero el impacto económico es bajo (19).

D. Plagas de importancia económica

En Ingenio Santa Ana las plagas de importancia económica son los barrenadores del tallo (*Diatraea crambidoides* y *Diatraea saccharalis*), Chiche salivosa de la caña de azúcar (*Aeneolamia postica* y *Aeneolamia varia*), y Rata (*Sigmodon hispidus*) (19). El Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar por medio del Comité de Manejo Integrado de Plagas CAÑAMIP reportan los siguientes factores de pérdida para cada una de las plagas en mención.

Cuadro 5 Factor de pérdida e índice de daño estimado para las principales plagas en Guatemala.

Plaga	Factor de perdida	Índice de daño	Umbral económico
Barrenador del tallo	0.36 kg Az/t/1% intensidad de infestación	32.4 kg Az/ha/1% intensidad de infestación	7 % de intensidad de infestación
Chinche salivosa	8.21 TCH/1 ad/tallo 5.83 Kg Az/t/ 1 ad/tallo	1465 kg Az/ha/1 adulto/tallo	0.05-0.1 ninfas y adultos/tallo
Rata de campo	0.5 TCH/1 % infestación. 2.19 kg Az/t/1% i.i	65 kg Az/ha/1% infestación	6 % de tallos dañados
Gallina ciega	0.62 TCH/larva/m2	70.9 kg Az/ha/1 larva/m2	10 larvas/m2

Fuente: CENGICAÑA-CAÑAMIP.

E. Plagas Potenciales

Las plagas potenciales de la caña de azúcar son chinche de encaje (*Leptodyctia tabida*), Coludo (*Saccharosydne saccharivora*), Pulgón dorado de la caña (*Sipha flava*), complejo de plagas de suelo (*Phyllophaga* sp) y Salta hojas hawaiano (*Perkinsiella saccharicida*) (19).

F. Daño del barrenador (*Diatraea crambidoides*)

Cuando el barrenador afecta antes de los 45 después de la siembra, en las plantas de caña se produce el síntoma denominado corazones muertos, el cual se da por la muerte del meristemo. Después sus larvas hacen galerías comenzando en el nudo para luego pasar al entrenudo. El daño tiempo después adquiere una coloración roja oscura (muermo rojo) debido a la presencia del hongo *Colletotrichum falcatum*. (11,4).

Los efectos en la producción de los barrenadores del género *Diatraea* son muy importantes en la agroindustria azucarera debido al daño que causan a la caña de azúcar. Estudios de CAÑAMIP-CENGICAÑA indican que las pérdidas económicas por *Diatraea* spp. Son de 32.4 kg de azúcar/hectárea por cada unidad porcentual de intensidad de infestación en la caña (entrenudos barrenados/entrenudos evaluados x100) para una producción de promedio de 90 t/ha (19).

G. Descripción de la plaga

Diatraea crambidoides es un insecto barrenador que en estado de larva hacen galerías en los tallos de la caña, primero en los nudos y luego en los entrenudos. Cuando afecta la caña en germinación producen el síntoma de corazones muertos debido a la muerte de las hojas del cogollo en desarrollo (11).

a. Origen y distribución

El barrenador del tallo del maíz del sur *Diatraea crambidoides* (Grote), como su nombre lo indica, es una plaga económica de maíz, *Zea mays* L., en todo el sur de EE.UU. a partir de Maryland y Kansas en el norte así como en los estados del suroeste. Esta plaga también se encuentra en México y en América del Sur (31).

El primer reporte de *Diatraea crambidoides* en caña de azúcar lo hizo Ainslie en 1919 citado por Springer (31), informó que afecta las especies *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Sorghum halepense* (L.) Pers, y la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), y el maicillo oriental.

CAÑAMIP-CENGICAÑA (19) reporta que las especies del género *Diatraea* que son de importancia económica y que tiene mayor abundancia relativa son *D. crambidoides* Grote tiene una abundancia relativa del 73 por ciento en el estrato bajo y litoral, comparado con un 27 por ciento de *D. saccharalis* Fabricius. Otras especies como *Xubida dentilineatella* (Lepidóptera: Crambidae), *Phassus phalerus* Druce (Lepidóptera: Hepialidae) y otras aún no determinadas, ocurren a altitudes mayores de 300 msnm en un ambiente templado y húmedo de la zona cañera.

b. Determinación de especies de *D. crambidoides* en Guatemala

En el año 1992 según estudios realizados por Garzona (14), en Ingenio La Unión, determinó que solo existe dos especies de barrenadores del tallo del género *Diatraea* en Guatemala. Una de ellas es *Diatraea saccharalis* Fabricius, Las características morfológicas de esta especie son las siguientes, posee una capsula cefálica y escudo cervical color marrón muy oscuro, cuerpo (torax y abdomen) color blanco sucio con un conjunto de lunares bien definidos durante todo su periodo de desarrollo y de color marrón claro con cierta tonalidad violeta. Tubérculo mesotorácico dorsal alargado, redondeado anteriormente y con una ligera incisión anterior media (MES), semejante a una media luna. Dorsolateralmente presenta dos franjas angostas e irregulares color violeta pálido que conjuntamente con los tubérculos semejan un par de bandas continuas. La otra especie de barrenador, *Diatraea* spp (Actualmente *Diatraea crambidoides*), presenta capsula cefálica color café y CER de color marrón claro. Cuerpo color blanco crema. Conjunto de lunares de color más oscuro que la cabeza y el CER. Cada lunar rodeado de un área de color violeta poco definida. Tuberculo mesotorácico (MES) en forma de B alargada de ancho uniforme y con una incisión media anterior bien definida (14).

También concluye que *Diatraea* spp (*D. crambidoides*) tiene una mayor presencia en el estrato alto y bajo en relación con *D. saccharalis*, siendo el estrato medio en donde la presencia de ambas especies son similares, aunque predomina siempre *D. crambidoides* (14).

En 1998 el Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, envió unas muestras, tomadas en distintas fincas de la costa sur de Guatemala, al Instituto Cab. Internacional, de Inglaterra, para su evaluación. Ahí confirmaron que las muestras recolectadas no pertenecían a la especie *D. saccharalis*, que es reconocida por su presencia en todo el continente americano, sino que estas muestras pertenecían a *D. crambidoides* (9,14). La diferencia entre las larvas de *Diatraea* spp. Se muestra con detalle en el tubérculo mesotorácico



Figura 9 Larva de *D. crambidoides* con tubérculo mesotorácico característico de esta especie.

Fuente: Revista CAÑAMIP, 2010

c. Clasificación Taxonómica

Myers, P, Espinosa, C; Parr, T. Jones, G; Hammond, y Dewey,T (24). Reportan la clasificación de *Diatraea crambidoides*, además se mencionan como sinónimos *Chilo crambidoides* Grote, *Diatraea zeacolella* Dyar 1880.

Clase: Insecta
 Orden: Lepidóptera
 Familia: Pyralidae o Crambidae
 Género: *Diatraea*
 Especies: *D. crambidoides* (24)

H. Biología de la plaga

Los barrenadores del tallo de la caña de azúcar del género *Diatraea*, tienen metamorfosis holometábola o completa, caracterizada por presentar su desarrollo biológico en etapas diferenciadas que comprenden los estados: huevo, larva, pupa y adulto (17)

a. Huevo

El huevo es ovalado y aplanado en su base, mide 1.15 mm de largo por 0.05 mm de ancho; recién puestos son de color blanco cremoso y cuando están próximos a la eclosión se tornan rojizos o anaranjados, con una puntuación negra. El periodo de incubación tarda de 4 a 5 días (5).

b. Larva

Las larvas son del tipo eruciforme, con tres pares de patas torácicas, cuatro pares de pseudopatas abdominales y un par anal. Recién emergidas del huevo miden 1.5 a 2.0 mm de largo y son de color amarillento (8).

Las larvas completamente desarrolladas tienen una longitud aproximada de 26 mm, poseen una cabeza marrón que se torna negra hacia las partes bucales. La cubierta cervical es marrón claro, con tiznes de negro en la parte ventral. El cuerpo es blanco con pináculos y setas de color marrón. El estado larval pasa por cinco instares, con una duración entre 28 y 30 días (8).

c. Pupa

Es del tipo obtecta, mide cerca de 22 mm de largo y su color es marrón oscuro. Presenta dos protuberancias en forma de cuernos cortos en la cabeza, y en los segmentos abdominales relieves en forma de dientes. Este estado dura 10 a 14 días, al final del cual emerge la polilla. Generalmente el ciclo de vida de *D. crambidoides*, de huevo a emergencia del adulto demora entre 43 a 47 días, esto puede variar según el clima (8).

d. Adulto

Es una polilla que mide entre 25 y 30 mm de expansión alar, es de color amarillo pálido. Las alas anteriores son de color pajizo, con dos rayas oblicuas más destacadas, siendo en los machos más oscuras; las alas posteriores son blanquecinas, también algo oscuras en los machos. Los palpos labiales son muy desarrollados y están proyectados hacia adelante. Los adultos, puede durar de 3 a 5 días (15).

I. Control Biológico de plagas

Sin duda, el control biológico ocurre en la naturaleza desde siempre al tratarse de una ley natural para la regulación de las poblaciones de organismos; sin embargo, cuando se hace una aplicación de los conocimientos bioecológicos con el propósito de combatir plagas, nos referimos al control biológico aplicado concepto que se ha definido como “el estudio y la utilización por parte del hombre, de parásitos, depredadores y patógenos, para regular la población de una plaga, manteniendo a ésta en niveles más bajos de lo que se observaría en su ausencia” (6 y 32).

En la agroindustria azucarera guatemalteca la acción más importante para reducir las poblaciones de los barrenadores *D. saccharalis* y *D. crambidoides*, es el control biológico con parasitoides como *Cotesia flavipes* otras especies utilizadas son *Lydella. minense* y *Billaea. claripalpis*, dirigidos a los estados de larva. La liberación de estos benéficos se debe hacer al menos una vez por ciclo del cultivo, en todas las áreas del cultivo infestadas con *Diatraea*, lo que evitará que las poblaciones de ésta plaga se incrementen a niveles que causen daño económico. También se ha utilizado parasitoide de huevos *T. exiguum* (5,13)

J. Parasitoide

El parasitoide es un insecto “parasítico” que en su estado inmaduro se alimenta y desarrolla dentro o sobre el cuerpo de un solo insecto hospedante al cual mata lentamente, o bien, se desarrolla dentro de los huevecillos de éste. Normalmente son más pequeños que el hospedante. No siendo parasitoide, el estado adulto vive libre. Su hospedante pertenece a la misma clase taxonómica o una clase estrechamente relacionada (12).

Los parasitoides se diferencian de los verdaderos parásitos, los cuales dependen de un hospedante vivo para su supervivencia y no necesariamente le causan la muerte, tienen un tamaño menor que el de su hospedante, y son de otra clase taxonómica (39).

Por su localización en el hospedante, se clasifican en ectoparasitoides, aquellos que se ubican y alimentan en el exterior del hospedante, como por ejemplo *Diglyphus spp.* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de Liriomyza; y endoparasitoides, que son los que se ubican y alimentan en el interior de su hospedante, como *Cotesia flavipes*, parasitoide de *Diatraea saccharalis* en caña de azúcar (12).

K. Hymenoptera

El Orden Hymenoptera es uno de los más importantes en la naturaleza por su contribución al control natural de las poblaciones de otros insectos. La familia Braconidae, junto con Ichneumonidae, forma parte de la superfamilia Ichneumonoidea. A nivel mundial se reconocen 45 subfamilias de Braconidae y se estima que existen al menos 40,000 especies (12).

Los adultos generalmente se alimentan de néctar o polen pero también pueden comportarse como depredadores, que se alimentan de fluidos del cuerpo del huésped. Los parasitoides más importantes del orden se encuentran en las tres superfamilias: Ichneumonoidea, Chalcidoidea y Platygastroidea (familia Scelionidae). Los adultos de Ichneumonoidea son de aspecto delgado, muchas veces con ovipositor largo, patas relativamente largas y cabeza y abdomen móviles. Son ecto o endoparasitoides, solitarios o gregarios (12).

Estos insectos se dividen en dos grandes familias: Braconidae, que la mayoría es parasitoides de Hemíptera, larvas de Coleóptera, Lepidóptera y Díptera; y Ichneumonidae, que en mayoría son parasitoides de larvas o pupas de Lepidóptera y Díptera e Hymenoptera fitófagos. Unas pocas especies parasitan otros parasitoides, o sea que son hiperparasitoides (6, 10 y 12).

L. Braconidae

Los Braconidae forman una familia muy amplia de parasitoides de insectos de muchos grupos. Son de tamaño pequeño a mediano, alargados, con antenas y patas largas, el ovipositor puede ser corto o largo (38).

La familia Braconidae tiene una gran importancia en control biológico en el mundo. Se encuentra en los climas cálidos y húmedos, razón por la cual estos parasitoides han sido utilizados con frecuencia en programas de control biológico de grandes cultivos en los trópicos. La mayor parte de los bracónidos son benéficos. Especies de hiperparasitoides en esta familia son poco frecuentes (38).

La subfamilia más numerosa es Microgatrinae de la cual forma parte el género *Cotesia*. *Cotesia flavipes* (Cameron) ha sido considerada tradicionalmente como uno de los enemigos naturales más importantes, usado para control o complemento en programas de manejo biológico del barrenador *Diatraea* spp. en cultivos de caña de azúcar (12).

M. *Cotesia flavipes*

Es un parasitoide larval usado para control o complemento en programas de manejo biológico de taladradores en cultivos de importancia económica a nivel mundial entre los cuales se encuentra la caña de azúcar, arroz, sorgo y maíz (31).

a. Descripción y Biología

El macho se diferencia de la hembra principalmente por su tamaño, el número de segmentos antenales y por la forma del último segmento abdominal. El macho es más pequeño (2.5 mm) que la hembra (2,78 mm), y presenta de 17 a 19 segmentos antenales mientras que la hembra presenta de 14 a 16 y un abdomen fusiforme, puntiagudo en su extremo caudal.

Las avispas a través de sus antenas logran buscar al barrenador del tallo iniciando su búsqueda en los tallos y buscando perforaciones o puntos de alimentación, siendo altamente atraídos por la fermentación de los tejidos dañados, alimentándose del jugo que se encuentra en los túneles (39).

Se considera que la temperatura influye en la longevidad, así en el verano se registró 2,4 días para los machos y 2,2 para las hembras; en tanto que en invierno se registra 4,04 días para los machos y 3,93 días en las hembras. La longevidad de los adultos es mayor cuando el régimen de alimentación es a base de miel y agua (15).

N. Condiciones de parasitación de *Cotesia flavipes*

Según Hernandez (16), menciona que debido al alto costo que tiene la producción comercial de *C. flavipes* es necesario la optimización del parasitoide por ello se debe conocer los factores que afectan el parasitismo entre los cuales está la temperatura y la humedad relativa son los factores abióticos responsables de que haya un parasitismo exitoso en campo.

Entre los factores bióticos Scaglia et al, Lva et al. (17,28) mencionan que la edad del hospedero es clave en la relación parasitoide-hospedero en su investigación mencionan que *C. flavipes* al momento de introducir sus huevos dentro del hemocele de la larva hospedera, tiene la capacidad de manipular el estadio fisiológico de la larva a modo que se desarrolle bien los huevos y larvas del parasitoide; el hospedero también tiene su sistema de defensa que impide al parasitoide se desarrolle, y esta depende de la edad del hospedero y su estado nutricional, la primera es una defensa externa, la larva regurgita un líquido por la boca que mata al parasitoide, también tiene sistema de defensa interna que depende del sistema inmunológico, según Takasu and Overholt citados por Hernandez (16), las larvas del hospedero de estados más avanzados (últimos instares) matan un mayor porcentaje de parasitoides con el sistema de defensa externa, también se ha señalado en otras especies que la proporción de huevos encapsulados aumenta con la edad de la larva (instares más avanzados) (16).

O. Preferencia de parasitismo de entomófagos

Para un parasitismo exitoso la edad del hospedero es el principal factor biótico. Hernandez (16), reporto que no hay diferencia entre diferentes edades (16, 17 y 18 días) del hospedero (*D. saccharalis*) parasitados con *C. flavipes* pero no evaluó los instares larvales.

La edad de los hospedero de parasitoides es de importancia según reporta Suarez (32) evaluó la preferencia de parasitismo de *Encarsia sp* sobre diferentes instares de ninfas de mosca blanca se encontró que la preferencia de oviposición, fue en ninfas del tercer instar mostrado diferencia significativa con ninfas del cuarto instar ($p=0,00701$).

Albergaria, N; Doria, H; Ferreira, R; Bortoli, S (1), realizaron una investigación para determinar la preferencia de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre huevos de diferentes edades y especies de crisópidos en la que determinaron que prefieren aquellos de 0-24 horas de edad para el parasitismo.

P. Inmunosupresión celular de *D. saccharalis* parasitadas por *C. flavipes*

Ali Mahmoud (2), en su investigación “El Parasitismo De *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) Induce Inmunosupresión E Incrementa La Susceptibilidad De *Diatraea saccharalis* A *Bacillus thuringiensis* Berliner” describe que el sistema inmune de los insectos puede ser clasificado en inmunidad humoral y celular. La respuesta inmune celular se refiere a la respuesta llevada a cabo por los hemocitos como la fagocitosis, la nodulación y la encapsulación.

Q. Encapsulamiento

La encapsulación es la respuesta inmune más importante llevada a cabo en contra de los huevecillos de los parasitoides, el cual es un proceso complejo en el cual los hemocitos encierran los cuerpos extraños que no pueden ser digeridos mediante el proceso de fagocitosis (2).

En esta reacción inmunológica, los hemocitos rodean los cuerpos extraños mediante múltiples capas celulares originando la muerte o eliminación del cuerpo extraño para de esta manera evitar la nutrición del cuerpo extraño mediante la liberación de agentes químicos citotóxicos. Algunas avispas de himenópteros de las familias Braconidae e Ichneumonidae, reconocidas como endoparasitoides, completan el desarrollo de los huevecillos y las larvas en el hemocele de otro insecto (2).

R. Polidnavirus

Según Wyler y Lanzrein, Shelby, Schmidt et al, Beckage y Gelman, Asgari et al, Stoltz y Webb citados Ali Mahmoud (2) señalan que los PDVs son virus únicos de ADN circular de doble cadena y segmentado. Los PDVs persisten como provirus integrados en el genoma de las avispas asociadas y se replican en los ovarios de las hembras, donde los viriones se acumulan en concentraciones elevadas. Los hospederos de las avispas que llevan consigo los polidnavirus son los estadios larvarios de los lepidópteros. Cuando una avispa hembra ovoposita sobre su hospedero, esta inyecta uno o más huevecillos y viriones que infectan al hospedero afectando el sistema inmune celular del insecto. Los polidnavirus no se replican en el lepidóptero hospedero, solo llevan a cabo la expresión viral de sus genes, los cuales atacan el sistema inmune del hospedero con la finalidad de evitar la muerte o la

inactivación de los huevecillos del parasitoide y además originan otras alteraciones fisiológicas que finalmente causan la muerte del hospedero. Así, el mutualismo que existe entre los polidnavirus y las avispas parasitoides, consiste en llevar a cabo la transmisión viral con la finalidad de asegurar la sobrevivencia del parasitoide, y la sobrevivencia del parasitoide dependerá de igual manera de la infección viral sobre el lepidóptero hospedero. Recíprocamente, los polidnavirus son patógenos de los hospederos de las avispas. El objetivo principal de estos virus parece ser el sistema inmune del huésped. Por lo tanto, vale la pena dar más detalles aquí sobre el sistema inmunológico de los insectos (2).

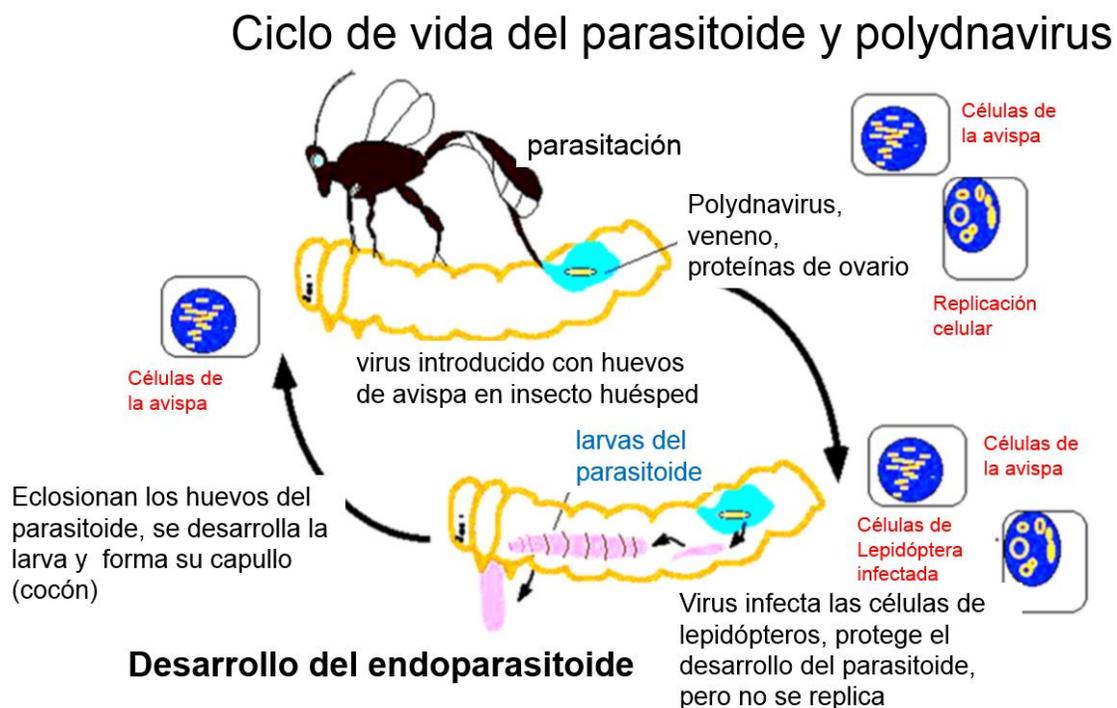


Figura 10 Ciclo vital de los parasitoides de la familia Ichneumonidae y Braconidae y su polidnavirus (30)

En la figura 10 se muestra el ciclo vital de los parasitoides de la familia Ichneumonidae y Braconidae y del polidnavirus. El PDV se replica y se ensambla sólo en las células del cáliz de los oviductos de las avispas hembras. Los PDVs se inyectan en conjunto con los huevecillos, el veneno y las proteínas del ovario en el momento de la ovoposición sobre las larvas huésped. Los PDVs inhabilitan las respuestas de defensa celular y humoral dirigidas contra los huevecillos. Después de la eclosión, las larvas de la avispa endoparásita se desarrollan en el hemocele del lepidóptero huésped, y antes de emerger las larvas tejen un capullo y se convierten en crisálidas o pupas (2).

Según Krell et al, citado por Ali Mahmaud (2), menciona que la asociación mutua entre el polidnavirus y las avispas parasíticas pertenecientes a las familias Braconidae e Ichneumonidae (Hymenoptera) representan una de las relaciones más singulares de este tipo entre los eucariontes y los virus. Desde su descubrimiento, los polidnavirus representan un área interesante para los entomólogos, debido a la capacidad para inducir la inmunosupresión del hospedero.

S. Ecología Química de Insectos

La ecología química estudia las interacciones dentro y entre especies desde el punto de vista de los compuestos químicos que intervienen (36).

Las kairomonas provocan respuestas positivas en el insecto favoreciendo la localización del huésped, la ovoposición y la alimentación. Estas incluyen excitantes y estimulantes (27).

Debido a esta complejidad y a la gran cantidad de químicos que median las interacciones, se ha desarrollado una nomenclatura que define a los químicos que confieren algún tipo de información basada en dos características (36). Estos compuestos, llamados semioquímicos, por un lado se describen con base a las identidades de los organismos intervinientes (un emisor y un receptor) y por el otro, con base al resultado de la interacción (Beneficiados vs. Perjudicados). Mediante esta nomenclatura, se pueden reconocer las feromonas, que son compuestos que median interacciones entre organismos de una misma especie y la interacción en general resulta beneficiosa tanto para el emisor como para el receptor. Por otro lado, los compuestos que median interacciones entre especies diferentes son denominados aleloquímicos. Dentro de este grupo están las kairomonas, que son los compuestos que favorecen al receptor pero no al emisor, las alomonas que son favorables al emisor pero no al receptor y por último las sinomonas, que son favorables a ambos (36).

En el caso particular de los insectos, las antenas están especializadas en detectar pequeñas cantidades de compuestos químicos (a veces un par de moléculas pueden disparar una respuesta) y a pesar del gran número de compuestos que puede encontrar un insecto mientras busca pareja o comida, normalmente sólo una pequeña fracción de éstos desencadena un cambio comportamental. Los insectos muchas veces responden

a determinadas mezclas de compuestos químicos y pequeñas variaciones en las concentraciones pueden determinar que exista o no una respuesta (36)

La hembra de *C. flavipes* entra en el túnel del hospedero para parasitar la larva del tercer al sexto instar de *Diatraea spp.* Existen sustancias químicas (kairomonas) que el parasitoide identifica, las cuales son una guía para encontrar la larva (27)

Esto es debido a que los atrayentes de corto alcance, los cuales atraen al parasitoide hacia su hospedante por medio de sustancias menos volátiles producidas por el insecto hospedante cuando se alimentan u oviposita, las cuales son percibidas por las antes (27).

Mesquita (23), menciona que *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) tuvo mayor respuesta de control en los campos en los que había mayor nivel de infestación de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae), esto debido a que la cantidad de kariomonas es mayor en los campos con mayor nivel de infestación.

T. Defensas del hospedero de parasitoides

Algunas larvas frecuentemente cambian de posición durante la alimentación o depositan el excremento lejos de los sitios de alimentación. Para los que se alimentan ocultos (minadores de hojas, barrenadores, etc.), las vibraciones pueden ser una señal crítica que revela la localización del hospedero, por lo que la cesación periódica de la alimentación o del movimiento, pueden reducir su detección por los parasitoides (33).

Pasteels et al y Sime Citados por Van (33), mencionan que algunos herbívoros montan una defensa química si son encontrados por un parasitoide. Algunas especies rocían energicamente a sus atacantes con compuestos químicos nocivos. Otras concentran compuestos defensivos en sus tejidos externos y tienen un sabor repugnante.

La avispa *Trogus pennator* Fabricius (Hymenoptera: Ichneumonidae) no parasita larvas de la mariposa *Battus philenor* (L.), aun cuando deja excremento atractivo, porque el integumento de la larva contiene ácidos aristolóquidos desagradables que fueron tomados de la planta hospedera.

Weseloh, Shaw citados por Van (33) define que estructuras defensivas pueden ser tan simples como agrupar huevos en un montón. Por ejemplo, el parasitismo de los huevos de la polilla gitana *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) por *Ooencyrtus kuwanae* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae) es mayor en masas pequeñas de huevos, presumiblemente porque una fracción mayor es físicamente accesible. Las cutículas más gruesas también pueden ser estructuras defensivas, por lo que es posible que contribuyan a la ausencia general de parasitismo en insectos adultos. Los braconidos euforinos son uno de los pocos grupos que atacan eficientemente insectos adultos y lo hacen ovipositando específicamente en regiones ligeramente esclerotizadas (33).

Gerling et al, Stamp, Hays y Vinson citados por Van (33) encontraron que el comportamiento también ayuda a los hospederos a evadir el parasitismo. Las ninfas más viejas de áfidos impiden parcialmente el parasitismo pateando al parasitoide. Las larvas de *Euphydryas phaeton* (Drury) (Lepidoptera: Nymphalidae) sacuden la cabeza para golpear a un lado al ichneumónido *Benjaminia euphydryadis* Veereck (Hymenoptera: Ichneumonidae). Las larvas de *Heliothis virescens* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) ensucian el cuerpo del parasitoide *Toxoneuron nigriceps* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae), embistiendo y vomitando.

2.2.2 Marco Referencial

El Grupo Corporativo Santa Ana está localizado en la finca Cerritos del municipio de Escuintla, del departamento del mismo nombre, las coordenadas son 14° 14' 34.7" latitud norte y 90° 50' 35.8" Longitud oeste.

A. Ubicación

Está situado a 4.5 km del municipio de Escuintla y una distancia de 65.6 km de la ciudad capital. Colinda al norte con las carreteras que conducen hacia el municipio de Santa Lucía Cotz, al sur y al este con el municipio de Masagua, Escuintla y al oeste con la finca Rancho María. Las instalaciones del ingenio tienen una extensión de 423.24 Hectáreas.

B. Descripción del Área

Las condiciones climáticas del lugar presentan una temperatura promedio anual de 25.65 °C, precipitación pluvial oscila entre 2,000 a 3,000 mm/año, distribuidos en 8 meses de los cuales, el mes de mayor precipitación pluvial es septiembre con 700 milímetros de lluvia; la unidad industrial de la corporación está asentada a una altitud de 158 metros sobre el nivel del mar (msnm), y la humedad relativa promedio anual es de 89 % (16)

C. Localización del área de estudio (Laboratorio Control de Calidad)

El ensayo se realizó en el laboratorio de Control de Calidad del Departamento Técnico Agrícola, Grupo Corporativo Santa Ana, se ubica dentro de las instalaciones del Ingenio. Las condiciones ambientales son las siguientes: temperatura a 24 grados centígrados y una Humedad relativa de 85%.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 General

Evaluar la preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), sobre diferentes instares de *Diatraea crambidoides* Grote (Lepidoptera: Crambidae) para un mayor porcentaje de parasitismo en campo.

2.3.2 Específicos

- a) Determinar la preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes* sobre diferentes instares de *Diatraea crambidoides*.
- b) Determinar el instar larval (III, IV y V) de *Diatraea crambidoides* que presenta mayor parasitismo del parasitoide *Cotesia flavipes*.
- c) Determinar el instar larval (III, IV y V) de *Diatraea crambidoides* que presenta mayor encapsulamiento del parasitoide *Cotesia flavipes*.

2.4 HIPÓTESIS

El parasitoide *Cotesia flavipes* tiene preferencia por los hospederos de los últimos instares (IV y V) del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea crambidoides*

El parasitoide *Cotesia flavipes* presenta mayor porcentaje de parasitismo en los últimos instares de larvas de *Diatraea crambidoides*.

2.5 METODOLOGÍA

La investigación se realizó en tres etapas, la primera fue la obtención de las larvas (*Diatraea crambidoides*) de plantas de caña de azúcar que se encuentran dañadas por esta plaga y los parasitoides (*Cotesia flavipes*) del laboratorio de producción de parasitoides de Ingenio Santa Ana, la segunda etapa consistió en la evaluación de la preferencia de parasitismo de las avispas de *C. flavipes* sobre larvas de *D. crambidoides* en los instares III, IV y V y por último la tercera etapa que consistió en la cuantificación de porcentaje de parasitismo.

2.5.1 Obtención de Material

A. Parasitoide

Se obtuvieron pupas de *Cotesia flavipes* producidas en el laboratorio de parasitoides de Ingenio Santa Ana, el manejo que se le proporcionó, consistió en colocar pupas de la misma edad y de diferente sexo (machos y hembras) dentro de un vaso plástico de 16 onzas, dentro del vaso también se colocó un algodón humedecido con una solución de miel con agua al 10%, esto para poder proporcionarle alimento a los adultos que emerjan de las pupas colocadas dentro del vaso, luego se colocó una tapa al vaso para evitar el escape de las avispas cuando estas emerjan.

Luego de observar que emergió el cien por ciento de adultos, se procedió a tomar un tiempo de 36 horas antes de su uso para la parasitación de las larvas de *Diatraea crambidoides*, esto para asegurar que los adultos emergidos se hayan apareado y de esta manera obtener una parasitación segura y eficaz.

B. Larvas

Las larvas que se utilizaron en la presente investigación, fueron extraídas de tallos que se obtuvieron del método de control manual llamado entresaque¹, esta labor se realizó en la Finca California, la cual es administrada por Ingenio Santa Ana y se encuentra ubicada en el municipio de Itzapa, departamento de Escuintla.

¹ Remoción manual de plantas de caña de azúcar (25-45 después del corte) con el síntoma “corazón muerto” que es un secamiento de la planta debido al ataque de al barrenador.

Para la extracción de las larvas, los tallos obtenidos del entresaque fueron trasladados a las instalaciones del Laboratorio de Control de Calidad y Desarrollo de Proyectos del Departamento de Plagas de Ingenio Santa Ana, en donde fueron extraídas de la siguiente forma se tomaron los tallos de caña y se dividieron en dos partes buscando la larva, tratando de no dañarla.

El manejo de las larvas obtenidas, consistió en identificarlas y colocarlas en cajas de poliestireno, dentro de las cajas también se colocaron cubos de 3 cm³ de caña de azúcar, esto para poder proporcionarles alimento a las larvas. Por último se colocó una tapa a la caja para evitar que las larvas escaparan. Las cajas fueron colocadas en una sala del laboratorio con una temperatura de 25 ± 2 C°, ya que esta temperatura estimula el buen desarrollo de la larva de *Diatraea crambidoides*.

2.5.2 Preferencia de parasitismo

A. Tratamientos

Las diferentes edades del hospedero *D. crambidoides* fueron utilizados como tratamientos para la preferencia de parasitismo del endoparasitoide gregario y koinobionte de larvas *C. flavipes*. A continuación en el cuadro 6, se describe cada uno de los tratamientos que se evaluaron en la presente investigación:

Cuadro 6 Diferentes instares utilizados como tratamientos para determinar la preferencia de *Cotesia flavipes* sobre *D. crambidoides* bajo condiciones de laboratorio, Ingenio Santa Ana.

Tratamiento	Instares de larva <i>D. crambidoides</i>
1	III Instar
2	IV Instar
3	V Instar

B. Unidad experimental

La unidad experimental consistió de 75 larvas, en cada uno de los instares evaluados y se realizaron 5 repeticiones.

$$t * r = 3 * 5 = 15 \text{ unidades experimentales}$$

En total se tuvieron 15 unidades experimentales, por lo que se utilizaron 225 larvas por cada uno de los tratamientos, en total se utilizaron 1,125 larvas para realizar la evaluación.

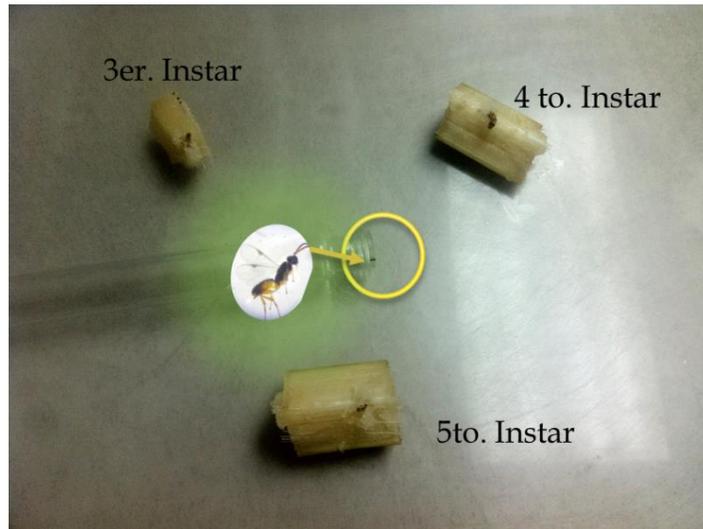


Figura 11 Diferentes edades de larvas del barrenador del tallo utilizadas como tratamiento para determinar cuál es la preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes*

C. Determinación del Instar Larval de *D. crambidoides*

Las larvas se clasificaron con base a su longitud y su peso en 3 tamaños (Pequeño, mediano y grande).

Dos días después de haber realizado la clasificación (para descartar posible mortalidad de larvas por daño mecánico), se tomó una muestra 12 larvas de cada grupo y se decapitaron, posteriormente se procedió a medir el ancho de la capsula cefálica utilizando una cinta milimétrica colocada en una caja petri con cera para evitar movimiento, la visualización se realizó con un estereoscopio Leica EZ4 a 400x. Esto se realizó como medición para utilizarlas como comparativo con las larvas vivas utilizadas para la investigación.

Después de obtener el ancho de capsula cefálica de cada instar larval se utilizó el siguiente modelo matemático para estimar la edad de la larva.

$$f(d) = 0.0636d + 0.2803$$

Fuente: Ingenio Santa Ana (2)

Dónde:

$f(d)$ = Milímetros de ancho de la capsula cefálica.

d = Edad de la larva en días.

Se ingresaron los datos de ancho de capsula cefálica dada en milímetros y se obtuvo la edad de la larva en días.

Posteriormente la edad de la larva se utilizó para establecer el instar larval, con base a la información que se presenta en el cuadro 7.

Cuadro 7 Tiempo generacional y estados de desarrollo de *D. crambidoides* Ingenio Santa Ana, Escuintla 2014

Días de Desarrollo	Instares larvales															Pupa	Adulto
	Huevo	I		II		III		IV		V							
6	1	-	6	7	-	12	13	-	18	19	-	24	25	-	30	9	2

Fuente: Ingenio Santa Ana (6)

Al obtener la clasificación de los instares se procedió a realizar el ensayo utilizando cada instar larval como un tratamiento.

D. Metodología de preferencia de parasitación

Con las tres larvas a una distancia similar (10 cm) en el centro se liberó una hembra de *Cotesia flavipes* y se observó hasta la primera selección de parasitación el tiempo máximo de espera fue de 20 minutos en caso no ocurrió parasitación se seleccionó otra hembra de *C. flavipes*. Las observaciones se llevaron a cabo de forma directa, y se tomaron los datos en las boletas respectivas.

La confirmación de selección de parasitismo se tomó como referencia cuando *C. flavipes* levantó sus alas posteriores e insertó su ovopositor en los últimos segmentos de *D. crambidoides*

Para la cuantificación de selección se utilizó el siguiente modelo (dado en porcentaje)

$$P_s = \frac{L I s}{L t} * 100$$

Donde:

P s= Porcentaje de larva de instar seleccionado.

L I s= Larvas de instar seleccionado.

L t= Larvas total

2.5.3 Cuantificación del parasitismo

A. Parasitismo confirmado

Se realizó una revisión cada dos días para determinar el parasitismo y además de ello cambiar el alimento por la degradación de los trozos de caña, en cada unidad experimental se revisaron hasta la fase de crisálida o el parasitismo confirmando la presencia del parasitoide eclosionado de la larva.

Para la cuantificación del parasitismo se utilizó el modelo matemático

$$P_p = \frac{L p}{L t} * 100$$

Donde:

P p= Porcentaje de larva con parasitismo confirmado

L p= Larvas con parasitismo confirmado

L t= Larvas total

B. Porcentaje de encapsulamiento

El encapsulamiento se cuantificó después de la muerte de larvas de cada tratamiento y que no presentaron pupas del parasitoide, esta revisión se realizó cada dos días a partir de la inoculación de la larva por el parasitoide.

La disección se realizó a las larvas muertas, pero sin presencia de un parasitoide (larva o pupas) para determinar el encapsulamiento. Se separaron las larvas con mortalidad pero sin ninguna presencia interna de parasitoide; el porcentaje de encapsulamiento, se obtuvo a partir del siguiente modelo matemático:

$$P e = \frac{L e}{L t} * 100$$

Donde:

P e= Porcentaje de larva con encapsulamiento

L e= Larvas con encapsulamiento

L t= Larvas total

C. Toma de datos

Se realizó el proceso de parasitismo teniendo en cuenta la preferencia del parasitoide sobre los diferentes instares de *D. crambidoides* el número de larvas parasitadas en cada tratamiento no fue el mismo, debido a que no se tomaron en cuenta las larvas que no presentaron parasitismo y las que murieron por contaminación durante el ciclo de evaluación, por lo que fue necesario establecer el promedio de larvas de cada tratamiento para proyectar el parasitismo y el encapsulamiento.

2.5.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, debido a que la evaluación se realizó bajo condiciones de laboratorio, el modelo estadístico se muestra a continuación

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Siendo:

Y_{ij} = Preferencia de parasitismo de *C. flavipes* sobre las larvas de *D. crambidoides*

μ = media general de la variable del porcentaje preferencia de parasitismo

τ_i = efecto del i - ésimo instar larval.

A. Variables de Respuesta

- a) Porcentaje de Selección (Preferencia de parasitismo) de *Cotesia flavipes*, sobre las larvas de *D. crambidoides* en los instar III, IV y V.
- b) Porcentaje de parasitismo de *Cotesia flavipes*, sobre las larvas de *D. crambidoides* en los instar III, IV y V.
- c) Porcentaje de encapsulamiento sobre las larvas de *D. crambidoides* en los instar III, IV y V.

2.5.5 Análisis de datos

Los promedios de porcentaje de selección, parasitismo confirmado y encapsulamiento, fueron sometidos a prueba de normalidad para ver el comportamiento de los datos luego a un análisis de varianza (ANDEVA) para establecer la existencia de la diferencia estadística entre los tratamientos, debido a la diferencia estadística que presento en análisis de varianza, se realizó una prueba de separación de medias por Tukey para determinar los tratamientos que tienen los mayores porcentajes de selección, parasitismos confirmado y encapsulamiento sobre larvas de *D. crambidoides* a través del software estadístico InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (26)

2.5.6 Manejo del experimento

Luego que las larvas fueran parasitadas por *Cotesia flavipes*, fueron colocadas de forma individual dentro de cajas Petri de plástico con un diámetro de 6cm. Así mismo se colocaron dentro de las cajas Petri cubos de 3 cm³ de caña de azúcar, esto para poder proporcionarles alimento a las larvas. La temperatura que se manejo fue de 25 ± 2 C°, y la humedad relativa de 85 por ciento.

La toma de los datos se realizó a los 13 días después de haber realizado la parasitación de las larvas de *Diatraea crambidoides* con *Cotesia flavipes*.

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta investigación se realizó para determinar la preferencia del parasitoide *C. flavipes* a diferentes edades del barrenador del tallo *D. crambidoides*, se analizaron los datos de las variables en estudio; porcentaje de selección (preferencia de parasitismo), porcentaje de parasitismo y porcentaje de encapsulamiento los datos no fueron transformados porque tienen tendencia normal (ver cuadro 11,13 y 15). Los resultados se muestran a continuación.

2.6.1 Porcentaje de Selección (Preferencia de parasitismo)

La preferencia de parasitismo de *Cotesia flavipes* (Himenóptera: Braconidae), que es un endoparasitoide gregario importante de *D. crambidoides* (Lepidóptera: Crambidae), la tiene sobre el instar IV (figura 12)

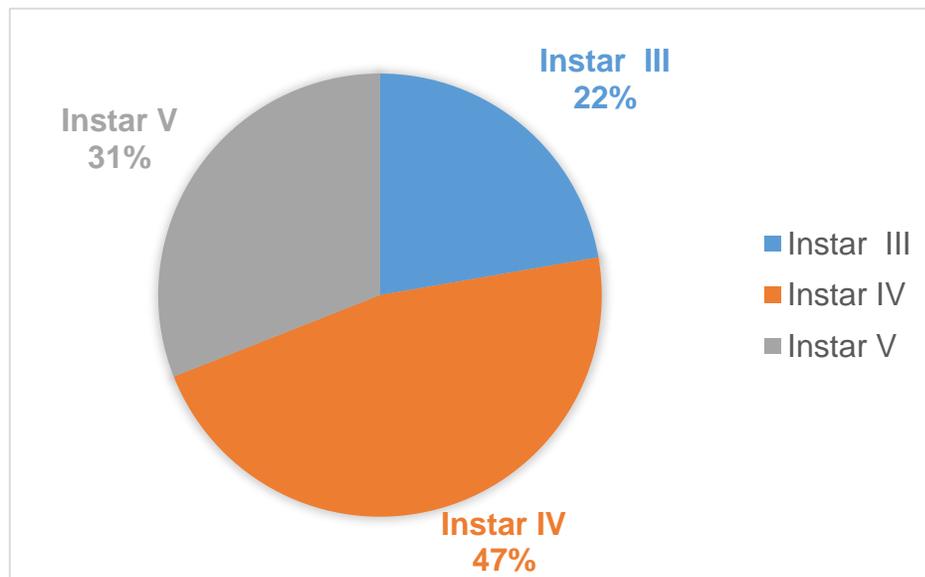


Figura 12 Preferencia de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

El análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa entre los instares, hay por lo menos un instar que fue seleccionado más veces por el parasitoide (cuadro 8), el cuadro 9 muestra la agrupación del análisis Tukey al 95 por ciento de confianza, el Instar IV es el más seleccionado por parasitoide. *C. flavipes*, con un 47 % seguido por los instares V y III respectivamente con un 31 % y 22 %.

Cuadro 8 Análisis de varianza sobre la variable preferencia de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	N	R ²	CV
% Ps	15	89%	11.9

Cuadro de Análisis de la Varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.15	2	0.08	48.39	<0.0001
Instar	0.15	2	0.08	48.39	<0.0001
Error	0.02	12	1.60E-03		
Total	0.17	14			

Cuadro 9 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable preferencia de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Medias	n	E.E.		
IV	47%	5	0.02	A	
V	31%	5	0.02		B
III	22%	5	0.02		C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)					

La avispa para la preferencia según observaciones, toma en cuenta dos parámetros, inicialmente trata de localizar a su huésped según Vinson; Tumlin-son et al; Kidd, citados por Van (33), mencionan que los habitats del hospedero son encontrados usualmente detectando señales perceptibles a cierta distancia, no por una búsqueda al azar. La visión juega posiblemente un papel importante en la localización del hábitat, en el sentido más amplio (bosque vs pastizal, etc.) pero la localización del micro hábitat es frecuentemente una respuesta a compuestos químicos volátiles como (1) los olores de plantas hospederas no infestadas, (2) los materiales (feromonas, heces) producidos por el hospedero o (3) los

compuestos volátiles de las plantas inducidos y liberados en respuesta al ataque de un herbívoro. Los parasitoides pueden usar olores para localizar hospederos ya sea moviéndose a favor del viento al percibir el olor en el aire, esto concuerda con lo observado debido que la avispa con sus antenas tenía movimientos circulares tratando de localizar a su hospedero, en el ensayo de preferencia se utilizó pedazos de caña con larvas dentro, dos días antes para que estos tuvieran heces y restos de tejidos digeridos que se presume que es lo que le sirve al parasitoide para localizarla.

Otro punto importante son las defensas externas que tiene el huésped, para el caso de *D. crambidoides* es una larva muy agresiva, en las observaciones realizadas en un 30 por ciento de los intentos de parasitación de la avispa esta fue asesinada por el huésped de dos formas, la primera emitía regurgitaciones de un líquido por la boca que al caer sobre el parasitoide lo mata al dejarlo inmóvil, similar condición documenta Scaglia et al.(28). Pasteels et al, Sime Citados por Van (33) mencionan especies rocían enérgicamente a sus atacantes con compuestos químicos nocivos. Otras concentran compuestos defensivos en sus tejidos externos y tienen un sabor repugnante. Otro mecanismo de defensa de *D. crambidoides* es que dentro de la galería que forma por su alimentación cuando el parasitoide se acerca las larvas toma un comportamiento de movimientos bruscos y enérgicos, con tal de evitar ser parasitado, se presume que la preferencia se inclinó al instar IV debido a que la cutícula de la larva es menos gruesa que el instar V. Weseloh, Shaw citados por Van (33) mencionan que las cutículas más gruesas también pueden ser estructuras defensivas, esto debido que en el instar V los intentos de insertar el ovopositor de *C. flavipes* fue mayor que el instar IV, y en varias observaciones el parasitoide opto por cambiar de instar.

2.6.2 Porcentaje de parasitismo

Se realizó un análisis de varianza para la variable porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* en los instares III, IV y V del barrenador de la caña de azúcar, existe diferencia significativa entre los instares (cuadro 10), la prueba de Tukey al 95 % de confianza muestra que el Instar V tiene el mayor porcentaje de parasitismo con un 61 %, seguido por los instares IV y III respectivamente con un 49 % y 23 % (cuadro 11)

El mayor parasitismo se encontró en el instar V debido a que estas larvas tienen las mejores condiciones de tamaño y peso y esto asegura una reproducción exitosa, Lva et al (18), menciona que en trabajos de investigación *C. flavipes* escogió para su ovoposición hospederos de últimos instares (IV y V instar), se considera que a pesar del riesgo de una mayor mortalidad por el sistema de defensa del hospedero, el parasitoide lo compensa al lograr parasitar la larva con un gran éxito reproductivo, ya que las larvas de los parasitoides dispondrán de suficiente alimento con estas larvas de mayor tamaño y de mayor peso.

Cuadro 10 Análisis de varianza sobre la variable porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	N	R ²	CV
%Parasitismo	15	76%	14.33

Cuadro de Análisis de la Varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.42	2	0.21	19.43	0.0002
Instar	0.42	2	0.21	19.43	0.0002
Error	0.13	12	0.01		
Total	0.55	14			

Cuadro 11 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Medias	n	E.E.	
V	61%	5	0.05	A
IV	49%	5	0.05	A
III	23%	5	0.05	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)				

2.6.3 Porcentaje de encapsulamiento

En el presente ensayo se analizó la capacidad del sistema inmune celular del hospedero *D. crambidoides* a través del proceso de encapsulación. La encapsulación se verificó en las larvas que no llegaron a pupar, las larvas se disectaron y se observó la hemolinfa y se encontraron larvas del parasitoide y en algunos casos pupas que no llegaron a completar su desarrollo. Para la variable porcentaje de encapsulamiento del huésped *D. crambidoides* sobre el parasitoide *C. flavipes* el análisis de varianzas indica que existe diferencia entre los instares en estudio (cuadro 12).

Cuadro 12 Análisis de varianza sobre variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides* sobre *C. flavipes*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	N	R ²	CV
% Encapsulamiento	15	51%	15.93

Cuadro de Análisis de la Varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.08	2	0.04	6.35	0.0131
Instar	0.08	2	0.04	6.35	0.0131
Error	0.08	12	0.01		
Total	0.16	14			

Glatz et al citado por Ali Mahmoud (2) menciona que la parasitación de las larvas de lepidópteros mediante el empleo de endoparasitoides generalmente se asocia con la supresión de la inmunidad celular y humoral del insecto hospedero. La encapsulación es la principal reacción celular del huésped frente a los insectos endoparasitoides (2). Según la prueba múltiple de medias de Tukey al 95 % de confianza se tiene que el Instar III tiene el mayor porcentaje de encapsulamiento con un 32 %, seguido por los instares V y IV respectivamente con un 20 % y 19 % (cuadro 13).

Cuadro 13 Separación de medias por medio de tukey al 5% sobre la variable porcentaje de encapsulamiento de los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides* sobre *C. flavipes*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Medias Origi	n	E.E.		
III	32%	5	0.04	A	
V	20%	5	0.04		B
IV	19%	5	0.04		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)					

Para un parasitismo exitoso se deben tomar en cuenta los factores abiótico y factores bióticos del hospedero (18), entre los factores bióticos del hospedero se mencionan los externos y los interno, La defensa interna que son los sistemas inmunológicos de los hospederos, esta investigación difiere con lo mencionado por Bauer et al. citado por Hernández (16) debido a que los mayores encapsulamiento se encontraron en el instar III, posiblemente a que son diferentes especies, diferentes reacciones de defensa internas (hemocitos). En la figura 13 se observa que a medida que aumenta los instares el porcentaje de encapsulamiento se reduce y a su vez el porcentaje de parasitismo aumenta.

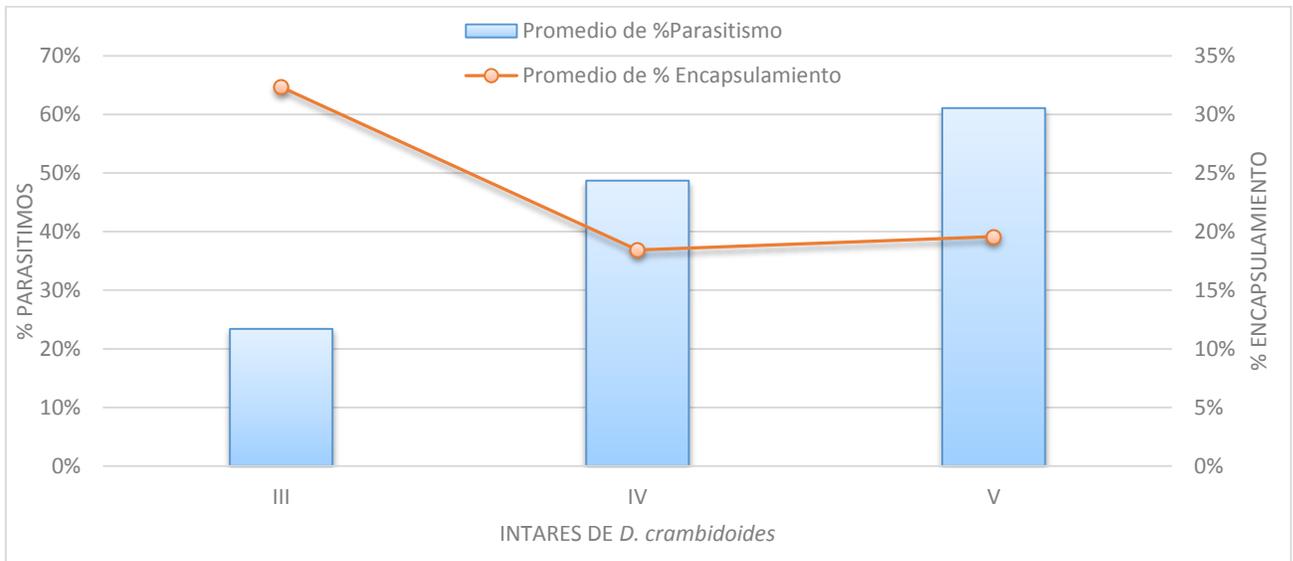


Figura 13 Porcentaje de parasitismo y encapsulamiento de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

2.7 CONCLUSIONES

El parasitoide *Cotesia flavipes* tiene preferencia de parasitismo sobre el instar IV con un 47 por ciento en las evaluaciones realizadas en condiciones de laboratorio.

El máximo porcentaje de parasitismo se obtuvo en los instares IV y V con 61 y 49 por ciento respectivamente.

El encapsulamiento se registró con el valor mayor en el instar III con un 32 por ciento contrario a otras especies.

2.8 RECOMENDACIONES

Realizar más observaciones sobre el comportamiento de *Cotesia flavipes* sobre *Diatraea crambidoides*.

Evaluar otras especies de parasitoides para *Diatraea crambidoides*.

2.9 BIBLIOGRAFÍA

1. Albergaria, N; Doria, H; Ferreira, R; Bortoli, S. 2005. Seleção de diferentes espécies e idades de ovos de crisopídeos por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (en línea). Brasil, UNESP, Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias, Dept. de Fitossanidade, Consultado 18 oct 2014. Disponible en http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas%2FBSV-P-31-01-033-038.pdf
2. Ali Mahmoud, AM. 2011. El parasitismo de *Cotesia flavipes* induce inmunosupresión e incrementa la susceptibilidad de *Diatraea saccharalis* a *Bacillus thuriangiensis* (en línea). Tesis PhD. Reynosa, Tamaulipas, México, Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. 147 p. Consultado 15 oct 2014. Disponible en <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8121/Ali%20Correc%20ted%20thesis%209.11.pdf?sequence=1>
3. Arroyo, L. 2013. Informe programa manejo integrado de barrenadores, zafra 2013-2014. Escuintla, Guatemala, Grupo Corporativo Santa Ana. 3 p.
4. ASAZGUA (Asociación de Azucareros de Guatemala, GT). 2013. Informe anual 2012 / 2013. Guatemala. 36 p.
5. Badilla, F. 1991. Control biológico del taladrador de la caña de azúcar *Diatraea* spp. In Congreso de Tecnología Azucarera de Centro América y Panamá (9, 1991, Costa Rica). Memorias. Costa Rica, Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica. 52 p.
6. Bach, P. 1971. Lucha biológica contra los enemigos de las plantas. Madrid, España, Mundi-Prensa. 399 p.
7. BANGUAT (Banco de Guatemala, GT). 2014. Exportaciones totales (en línea). Guatemala. Consultado 14 oct 2014. Disponible en www.bancodeguatemala.com.gt/exportaciones
8. Bustillo, A. 2011. Parasitoides, predadores y entomopatógenos que afectan las plagas de la caña de azúcar en Colombia (en línea). Bogota, Colombia, CENICANA. 4 p. Consultado 14 mar 2013. Disponible en http://www.cenicana.org/pdf/no_clasificacion/6481.pdf
9. CABI, UK; IIEISR (International Institute of Entomological Identification Services Report, UK). 1998. Informe de identificación solicitada por CENGICAÑA. UK. 2 p.
10. CENGICAÑA (Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, GT). 2012. Informe anual 2011-2012. Guatemala. 75 p.

11. CENICANA (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, CO). 2012. Plagas de la caña de azúcar (en línea). Colombia. Consultado 12 mar 2013. Disponible en http://www.cenicana.org/investigacion/variedades/sanidad_vegetal.php?opcion=2
12. Coronado Blanco, J. 2013. Diversidad de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonidae) en el matorral espinoso del Cañón del Novillo, Victoria, Tamaulipas, México (en línea). México. Consultado 16 mar 2013. Disponible en http://www.academia.edu/2100668/Diversidad_de_Braconidae_Hymenoptera_Ichneumonidae_en_el_matorral_espinoso_del_Ca%C3%B1%C3%B3n_del_Novillo_Victoria_Tamaulipas_M%C3%A9xico
13. Flores, S. 1976. Manual de caña de azúcar. Guatemala, INTECAP. 172 p.
14. Garzona Hernández, MR. 1992. Diferenciación morfológica de las especies de barrenadores del género *Diatraea* (Lepidoptera: Pyralidae) que atacan la caña de azúcar y sus parasitoides nativos en tres diferentes estratos altitudinales en el ingenio La Unión, Santa Lucía Cotzumalguapa. EPSA Investigación Inferencial. Tesis Ing. Agro. Guatemala, USAC. 36 p.
15. Gómez Pereira, PM. 2006. Evaluación del parasitismo, encapsulamiento, preferencia y dosificación de los parasitoides *Cotesia flavipes*, *Paratheresia claripalpis* y *Metagonistylum minense*, sobre larvas de barrenadores *Diatraea saccharalis*, *D. cramboides* y *Phassus phallerus*, de la caña de azúcar bajo condiciones de laboratorio, en Siquinalá, Escuintla. Tesis Ing. Agro. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 35 p.
16. Hernández, D. 2010. Estudio de algunos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). *Entomotropica* 25(2):69-81. Disponible en <http://www.entomotropica.org/index.php/entomotropica/article/viewFile/283/303>
17. Hernández, O. 1994. Evaluación de dos ingredientes de la dieta para reproducción artificial del gusano barrenador de la caña de azúcar / *Diatraea saccharalis* (F) y el parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron) en Escuintla. Tesis Ing. Agro. Guatemala, USAC. 67 p.
18. Lva, J; Wilsona, LT; Beuzelim, JM; White, WH; Reagan, TE. 2010. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. *Biological Control* 56(2):159-169.
19. Márquez, J. 2012. Manejo integrado de plagas. *In* El cultivo de la caña de azúcar en Guatemala. Guatemala, CENGICANA. p. 203-231.
20. Márquez, J; López, E. 2002. Nivel de daño económico para las plagas de importancia en caña de azúcar y su estimación con base en un programa diseñado por CENGICANA. *Boletín CañaMIP* no. 19, 9 p.

21. Metcalf, CL; Flint, Went, P. 1985. Insectos destructivos e insectos útiles; sus costumbres y su control. México, Continental. 1206 p.
22. Metcalf, J; Montgomery, R; Mahtes, R. 1969. Pest of sugar cane. New York, US, Elsevier p 11- 12 .
23. Mesquita, F *et al.* 2011. Influencia de *Saccharum officinarum* (Poales: Poaceae) variedad en el comportamiento reproductivo de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) y en la atracción de los parasitoides *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) (en línea). Brasil, Rede Nordeste de Biotecnología, Universidad Federal de Alagoas. Consultado 16 oct 2014. Disponible en <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1653/024.094.0306>
24. Myers, P; Espinosa, C; Parr, T; Jones, G; Hammond, G; Dewey, A. 2014. Clasificación taxonómica de *Diatraea crambidoides* (en línea). California, US, Animal Diversity Web. Consultado 12 oct 2014. Disponible en http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Diatraea_crambidoides/classificatio
[n/](#)
25. Morales Molina, M. 2008. Evaluación de cuatro parasitoides para el control de dos especies de barrenadores *Diatraea saccharalis* Fabricius y *Diatraea crambidoides* Grote en caña de azúcar a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agro. Guatemala, USAC. 35 p.
26. Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, MG; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2013. InfoStat versión 2013 (en línea). Argentina, Universidad Nacional de Córdoba, Grupo InfoStat, FCA. Consultado 14 oct 2014. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
27. Salazar, J; Oviedo, C; Sáenz, E. 2005. Descripción, manejo y control del barrenador común del tallo de la caña de azúcar en Costa Rica (en línea). Costa Rica, Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar. Consultado 18 oct 2014. Disponible en <http://www.laica.co.cr/biblioteca/servlet/DownloadServlet?c=443&s=1774&d=9707>
28. Scaglia, M; Chau-Netto, J; Brochetto-Braga, M; Ceregato, S; Gobbi, N; Rodríguez, A. 2005. Oviposition sequence and offspring of mated and virgin females of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 11(3):283-298.
29. Sing, P. 1974. Artificial diets for insects: a compilation of references with abstracts (1970-72). Bull. New Zealand Depart. Scientific. Indust. Res. 214:96.
30. Shelby, KS; Webb, BA. 1999. Polydnavirus-mediated suppression of insect immunity (en línea). Journal of Insect Physiology 45(5):507-514. Consultado 15 oct de 2014. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022191098001449>

31. Springer, T; Puterka, G; Maas, D; Thacker, E. 2011 The southern cornstalk borer (*Diatraea crambidoides* (Grote), Lepidoptera: Crambidae) a new pest of eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides* (L.) L., Poaceae) (en línea). Journal of the Kansas Entomological Society 84(3):209-216. Consultado 16 oct 2014. Disponible en: [http://www.researchgate.net/profile/Thacker_Eric/publication/234076362_The_Southern_Cornstalk_Borer_\(Diatraea_crambidoides_\(Grote\)Lepidoptera_Crambidae\)_a_New_Pest_of_Eastern_Gamagrass\(Tripsacum_dactyloides_\(L.\)_L._Poaceae\)/links/02bfe50edc6707944d000000](http://www.researchgate.net/profile/Thacker_Eric/publication/234076362_The_Southern_Cornstalk_Borer_(Diatraea_crambidoides_(Grote)Lepidoptera_Crambidae)_a_New_Pest_of_Eastern_Gamagrass(Tripsacum_dactyloides_(L.)_L._Poaceae)/links/02bfe50edc6707944d000000).
32. Suarez, L; Pérez, D; Bustos Rodríguez, A; Cantor Rincón, R. 2010. Compared biology of two species of the genus *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoids of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) (en línea). Revista de la Facultad de Ciencias Básicas 6(2):152-161. Consultado 16 2014. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3661744>
33. Van, R; Hoddle, M; Center, T. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales (en línea). California, US, University of California Riverside / University of Massachusetts Amherst. Consultado 16 oct 2014. Disponible en http://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/VANDRIESCHE_CONTROL_Y_PLAGAS_WEB.pdf
34. Van Lenteren, JC. 1995. Basis of biological control of arthropod pests in protected crops. In Integrated Pest and Disease Management in Protected Crops. Zaragoza, Spain, CIHEAM. 21 p.
35. Vargas, G; Gómez, L. 2005. Evaluación del daño causado por *Diatraea* spp. en caña de azúcar y su manejo en el valle del río Cauca (en línea). Bogotá, Colombia, CENICAÑA. Consultado 12 mar 2013. Disponible en http://www.cenicana.org/investigacion/variedades/sanidad_vegetal.php?opcion=2
36. Villacide, J; Corley, J. 2013. Introducción a la ecología química y su uso en el manejo de insectos plaga en sistemas forestales. Serie Técnica: Cuadernillo no. 17.
37. Walker, DW; Alemany, A; Quintana, V; Padovan, F; Hagen, KS. 1966. Improved xenic diets for rearing the sugarcane borer in Puerto Rico. J. Econ. Entomol. 59(1):1-4.
38. Wiedenmann, R; Smith, J. 1993. Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. Environmental Entomology 21(5):1160-1167.
39. Young, S; Pérez, M; Rodríguez, M; Rodríguez, F. 2006. Efectos de la parasitación de *Cotesia flavipes* el sistema inmune y desarrollo de un hospedero no habitual del parasitoide. Antioquía, Colombia, Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agraria / Fondo Editorial BIOGÉNESIS. 23 p.

2.10 ANEXOS

2.10.1 Porcentaje de Selección (Preferencia de parasitismo)

Cuadro 14 Datos de porcentaje de selección del *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Repeticiones					Promedio	Desvet	CV
	1	2	3	4	5			
III	27%	24%	21%	22%	17%	22.3%	3.50%	15.71%
IV	42%	47%	51%	49%	44%	46.7%	3.53%	7.55%
V	31%	29%	28%	29%	39%	31.0%	4.41%	14.24%

Se verifico que los datos del ensayo tuviera un comportamiento normal por lo que se sometió al análisis de Shapiro-Wilks (modificado) y se determinó que tienen un comportamiento normal ($p > 0.05$) Según Cuadro 15. Por lo que se concluye que no es necesario transformación de los datos originales.

Cuadro 15 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable preferencia de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	n	media	D. E.	W	p (unilateral D)
% Ps	15	0.33	0.11	0.9	0.1652

2.10.2 Porcentaje de parasitismo

Cuadro 16 Datos de laboratorio sobre la variable porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Repeticiones					Promedio	Desvet	CV
	1	2	3	4	5			
III	12%	20%	38%	27%	20%	23.4%	9.95%	42.6%
IV	38%	48%	39%	58%	61%	48.7%	10.34%	21.2%
V	64%	47%	61%	63%	70%	61.1%	8.44%	13.8%

Se verifico que los datos del ensayo tuviera un comportamiento normal por lo que se sometió al análisis de Shapiro-Wilks (modificado) y se determinó que tienen un comportamiento normal ($p > 0.05$) Según Cuadro 17. Por lo que se concluye que no es necesario transformación de los datos originales.

Cuadro 17 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* sobre los instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	n	media	D. E.	W	p (unilateral D)
% Parasitismo	15	0.44	0.19	0.9	0.1915

2.10.3 Porcentaje de encapsulamiento

Cuadro 18 Análisis de varianza sobre variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides* sobre *C. flavipes*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Instar	Repeticiones					Promedio	Desvet	CV
	1	2	3	4	5			
III	35%	27%	23%	47%	30%	32.3%	9.18%	28.40%
IV	15%	19%	26%	18%	14%	18.4%	4.50%	24.40%
V	23%	21%	17%	26%	11%	19.6%	5.87%	29.97%

Se verifico que los datos del ensayo tuviera un comportamiento normal por lo que se sometió al análisis de Shapiro-Wilks (modificado) y se determinó que tienen un comportamiento normal ($p > 0.05$) Según Cuadro 19. Por lo que se concluye que no es necesario transformación de los datos originales.

Cuadro 19 Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) variable porcentaje de encapsulamiento de instares III, IV y V del barrenador *D. crambidoides* sobre *C. flavipes*, bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Variable	n	media	D. E.	W	p (unilateral D)
% Encapsulamiento	15	0.23	0.09	0.93	0.4508

**CAPÍTULO III PATOGENICIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana*
(BALSAMO) VUILLEMIN (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) PARA EL CONTROL
DEL BARRENADOR DEL TALLO (*Diatraea crambidoides*) GROTE (LEPIDÓPTERA:
CRAMBIDAE), A NIVEL DE LABORATORIO**

3.1 PRESENTACIÓN

El control biológico es uno de los componentes del Manejo Integrado de Plagas (MIP) por lo que es importante, los hongos entomopatógenos forman parte de las alternativas en el manejo integrado del barrenador del tallo *Diatraea crambidoides*. Los primeros microorganismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, porque es visible cuando estos colonizan a los insectos.

Los barrenadores *Diatraea crambidoides* y *Diatraea saccharalis* (Lepidóptera: Crambidae) (24,13), causan pérdidas de 32.4 kg de azúcar por hectárea, por cada uno por ciento de entrenudos dañados para una producción de promedio de 90 t/ha (11, 12).

Luego de realizar el ensayo en laboratorio y someter los datos obtenidos al análisis estadístico se determinó que la concentración de 1×10^{14} conidios/hectárea es la que logra mayor mortalidad con un 99% según el análisis de varianza y separación de medias por tukey,

La DL50 y la DL90 de *Beauveria bassiana* sobre larvas penetrantes (3 días de edad) fueron 3.14×10^{11} conidios/hectárea (1.047×10^7 conidios/ml) y 1.23×10^{13} conidios/hectárea (4.1×10^8 conidios/ml) respectivamente, por lo que se concluye el potencial como controlador biológico del hongo entomopatógeno.

3.2 MARCO CONCEPTUAL

3.2.1 Marco Conceptual

A. Control Biológico

El control biológico se enfoca de distintas maneras para diferentes propósitos. Cuando la meta es la supresión permanente de una plaga (usualmente una especie invasora no nativa) en un área grande, el único método factible es el control biológico clásico. Con este enfoque se busca causar un cambio ecológico permanente en el complejo de enemigos naturales (es decir, parasitoides, depredadores, patógenos, herbívoros) que atacan a la plaga, introduciendo nuevas especies desde el sitio de origen de la plaga (o, en el caso de plagas nativas o exóticas de origen desconocido, a partir de especies emparentadas o ecológicamente similares) (1)

B. Uso de patógenos en el control biológico

Brady; Miller et al; Maramorosch y Sherman; Moore et al; Burge; Tanada y Kaya Citados por Van (16), mencionan que los patógenos de artrópodos incluyen bacterias, virus, hongos, nemátodos y protozoarios

Los patógenos son una parte importante del control natural. Epizootias espontáneas de patógenos ocurren a veces en las poblaciones de plagas (16) como, por ejemplo, las epidemias virales y fungosas que periódicamente diezman las larvas de la polilla gitana *Lymatria dispar* (L.). El uso de patógenos en control biológico clásico o aumentativo inoculativo ha incluido programas contra el escarabajo rinoceronte *Oryctes rhinoceros* (L.)

La mayoría de la investigación sobre el uso de patógenos para control biológico, sin embargo, se ha enfocado en formular microorganismos para aplicación específica del sitio como bioplaguicidas (16).

b. Clasificación Taxonómica

Myers, P, Espinosa, C; Parr, T. Jones, G; Hammond, y Dewey,T (13), reportan la clasificación de *Diatraea crambidoides*, además se mencionan como sinónimos *Chilo crambidoides* Grote, *Diatraea zeacolella* Dyar 1880.

Clase: Insecta
 Orden: Lepidóptera
 Familia: Pyralidae o Crambidae
 Género: *Diatraea*
 Especies: *D. crambidoides* (13,3,5)

C. Biología de la plaga

Los barrenadores del tallo de la caña de azúcar del género *Diatraea*, tienen metamorfosis holometábola o completa, caracterizada por presentar su desarrollo biológico en etapas diferenciadas que comprenden los estados: huevo, larva, pupa y adulto (2) ver figura 14

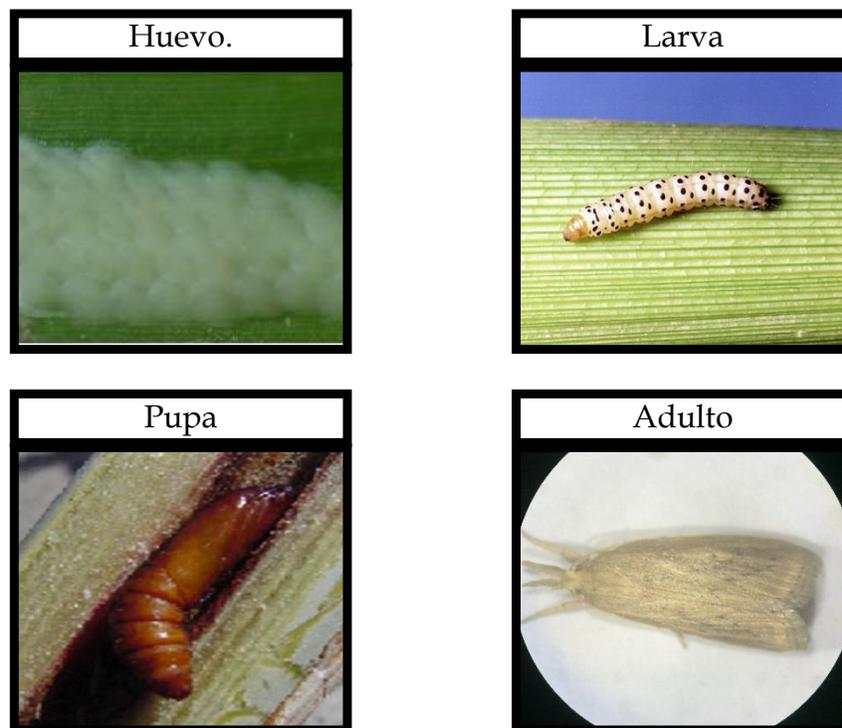


Figura 14 Desarrollo biológico del barrenador del tallo *D. crambidoides* que comprenden los estados: huevo, larva, pupa y adulto

D. Patógenos fungosos

Goh et al; Carruthers y Hural citados por Van (16) Los hongos pueden ser agentes del control biológico clásico, bioplaguicidas o parte del control natural a través de las epidemias que periódicamente causan en algunos artrópodos. Los hongos tienen poca importancia en el control biológico por conservación porque las manipulaciones para crear epidemias por hongos, con demanda en localidades específicas, generalmente no son prácticas o no están disponibles.

Según la literatura consultada en algunos casos, los micoplaguicidas aplicados actúan como agentes de control biológico clásico, reproduciéndose a niveles suficientemente altos para continuar causando mortalidad a niveles significativos por varios años, sin tener que repetir la aplicación. Enkerli et al. Menciona que *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch, el cual fue aplicado en pastizales y huertos de Suiza para controlar al escarabajo *Melolontha melolontha* L. Este hongo ha sido detectado en el suelo 14 años después de la aplicación por lo que se creyó que contribuyó al éxito del producto en el control de la plaga (9)

E. *Beauveria bassiana*

B. bassiana es un hongo del grupo de los deuteromicetes que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscardina. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número de parásitos de las plantas como larvas, las termitas, las moscas blancas, los áfidos, los escarabajos (2)

a) Morfología y Ciclo de Vida

El hongo entomopatógeno *B. bassiana* es filamentoso de la clase Hyphomycete, división Deuteromicetes (Fungi imperfecti o Fungi asexual). Al igual que los demás hongos entomopatógenos, *B. bassiana* es un organismo eucariótico heterótrofo que posee células quitinizadas y parasita otros insectos, gracias a sus mecanismos físicos y químicos de infección (6)

Tools, 2004; Viaud et al., 1998; Kouassi, 2001 citados por Echeverria (6). Fue descrita por primera vez por Jean Beauverie en 1911 con el nombre de *Botrytis bassiana*. Un año más tarde, Vuillemin la clasificó en su clase actual. Ensayos enzimáticos posteriores, determinaron el género como *Beauveria sp*, y diferenciaron seis especies, a saber: *B. alba*, *B. amorpha* (Von Höhnelt) Samson & Evans, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. velata* Samson & Evans, *B. vermiconia* (Hoog & Rao), y *B. caledonica* (Bissett & Widden). Además se reporta en la literatura la existencia de otras especies, como *B. densa*, *B. stephanoderis*, *B. vermiconia* y *B. sulfurescens*.

Morfológicamente, *B. bassiana* está conformada por hifas septadas de 2,5 a 25 μm de diámetro, de donde se forman conidióforos simples raramente agrupados, con apariencia de jarrón (más ancho en el centro que en los extremos), los cuales sostienen los conidios, originados de forma simpodial o acrópeta, dando una apariencia en zigzag al raquis (6)

Las esporas son esféricas y levemente ovaladas en medios aerobios, pero más ovaladas en medios anaerobios, llamadas blastósporas (6). Sin embargo, indiferentemente de su morfología, presentan igual capacidad de infección. Tanto las esporas como las hifas, no son pigmentadas (hialinas), por lo que su apariencia es blancuzca para el ojo humano (6).

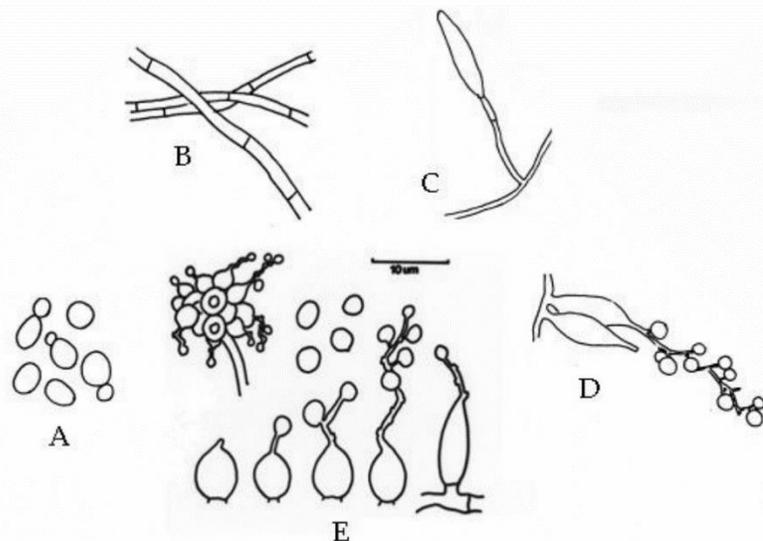


Figura 15 Estructuras morfológicas principales del hongo *Beauveria bassiana*. A. Esporas esféricas levemente ovaladas. B. Hifas septadas. C. Conidióforo simple. D. Proliferación simpodial del conidióforo. E. Esquema del proceso de maduración de conidióforo a partir de un conidio (inferior) y vista de un conidióforo completo (superior izquierda). Figuras A-D modificadas de: Castillo, 2005. Figura E modificada de: Solter, 2004 (6)

En cuanto a su reproducción, se sabe que los hongos que pertenecen a esta clase no les han sido posible determinar la fase sexual, limitándose únicamente al estado vegetativo. Sin embargo, Viaud y colaboradores (1998), reportan que existe recombinación parasexual en el género *Beauveria sp*, así como en otros como *Aspergillus sp* y en las clases Ascomicete, Basidiomicete y Deuteromicete. Este tipo de proceso genético, consiste en primera instancia, en la formación de un heterocarión (una célula con dos o más núcleos genéticamente diferentes), donde se produce la fusión de dos núcleos haploides diferentes para formar un núcleo diploide heterocigoto. Luego se produce una recombinación mitótica, reduciendo la información genética por núcleo al nivel original del haploide. Este tipo de proceso genera grandes variaciones genéticas, debido a cruces intercromosómicos, pero se ve limitado muchas veces por incompatibilidad vegetativa (6).

b) Forma de acción

El propágulo infectivo del hongo (conidia) se deposita en la superficie del insecto (exoesqueleto) adhiriéndose a la misma (fase de adhesión), a continuación aparece el tubo germinativo (fase de germinación) y a partir de él, se desarrolla el apresorio, una estructura celular que ejerce presión contra las capas cerosas del exoesqueleto, al mismo tiempo que libera varios tipos de enzimas (quitinasas, cutinasas) las cuales producen la histólisis de los tejidos ablandándolos y permitiendo la infección del hongo (fase de infección). Dentro del hemocele el hongo coloniza y se dispersa en la hemolinfa, emitiendo al medio metabolitos secundarios del tipo micotóxico (beauvericina) los cuales afectan diferentes actividades fisiológicas y órganos vitales del insecto hasta producirle la parálisis y posteriormente, su muerte en un lapso variable de entre 4 y 8 días. Finalmente el hongo concluye su ciclo al colonizar externamente al cadáver del insecto y producir y liberar al medio millones de conidias infectivas, que funcionarán como inóculo secundario para infectar a otros individuos (10).

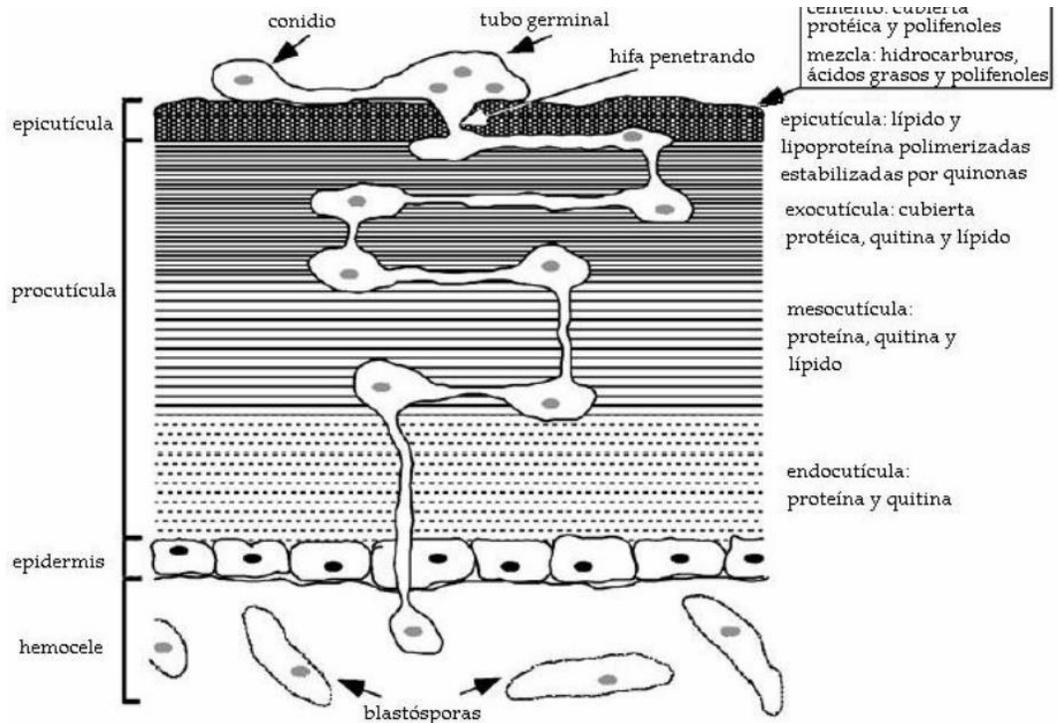


Figura 16 Estructura y composición de la cutícula del insecto y esquema de la penetración. Modificado de Duperchy, 2003 (7)

F. *Beauveria bassiana* en *Diatraea* sp.

Estrada (7) reporta que la aplicación de *Beauveria bassiana* (Bals.- Criv.) Vuill., en condiciones de campo, según un diseño en bloques de azar, para el control de las larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius). Al aplicar el hongo a una dosis de 1×10^{12} conidios/ha, en una población homogénea de la plaga, se evidenciaron diferencias significativas en los niveles poblacionales del insecto, así como en los daños y en los rendimientos del cultivo. Los resultados obtenidos demuestran que *B. bassiana* puede constituir un método alternativo de lucha biológica contra el talador de la caña de azúcar (7).

El cuadro 20 muestra los resultados obtenidos por Estrada (7), se observa que hay diferencia en cuanto a la población de larvas vivas de *D. saccharalis* por parcela y el daño de entrenudos es menor en las parcelas aplicadas con el hongo entomopatógeno. Por lo que se evidencia que *B. bassiana* disminuye las poblaciones larvales de *D. saccharalis* y por lo consiguiente reduce los niveles de daño producidos por el lepidóptero en el cultivo.

Similares resultados obtuvo Alves mencionado por Estrada (7) al aplicar suspensiones acuosas de *B. bassiana* contra la misma plaga en la caña de azúcar.

Cuadro 20 Promedio de número de larvas vivas de *D. saccharalis* y entrenudos afectados en parcelas tratadas y no tratadas con *B. bassiana*.

Muestras (días)	Numero de larvas vivas		Entrenudos afectados	
	Área tratada	Área no tratada	Área tratada	Área no tratada
7	175 a	250 b	075 a	375 b
15	200 a	225 b	275 a	5,50 b
30	2,50 a	3,50 b	6,00 a	9,00 b
40	4,75 a	6,75 b	11,50 a	15,75 b
60	3,25 a	5,00 b	9,50 a	16,25 b
101	0,56 a	1,70 b	4,25 a	11,50 b

Letras diferentes indican significación (P< 005)

Fuente: Estrada, M; Romero, M. 1997. Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*.

3.2.2 Marco Referencial

El Grupo Corporativo Santa Ana está localizado en la finca Cerritos del municipio de Escuintla, del departamento del mismo nombre, las coordenadas son 14° 14' 34.7" latitud norte y 90° 50' 35.8" Longitud oeste.

A. Ubicación

Está situado a 4.5 km del municipio de Escuintla y una distancia de 65.6 km de la ciudad capital. Colinda al norte con las carreteras que conducen hacia el municipio de Santa Lucía Cotz, al sur y al este con el municipio de Masagua, Escuintla y al oeste con la finca Rancho María. Las instalaciones del ingenio tienen una extensión de 423.24 Hectáreas.

B. Descripción del Área

Las condiciones climáticas del lugar presentan una temperatura promedio anual de 25.65 °C, precipitación pluvia oscila entre 2,000 a 3,000 mm/año, distribuidos en 8 meses de los cuales, el mes de mayor precipitación pluvial es septiembre con 700 milímetros de lluvia; la unidad industrial de la corporación está asentada a una altitud de 158 metros sobre el nivel del mar (msnm), y la humedad relativa promedio anual es de 89 %.

C. Localización del área de estudio (Laboratorio Control de Calidad)

El ensayo se realizó en el laboratorio de Control de Calidad del departamento Técnico agrícola, Grupo Corporativo Santa Ana, se ubica dentro de las instalaciones del Ingenio. Las condiciones ambientales óptimas son las siguientes: temperatura a 28 y 29 grados centígrados y una humedad relativa de 85%.

3.3 OBJETIVOS

3.3.1 General

- Evaluar la eficiencia seis dosis del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae) cepa BISA-447 para el control (% parasitismo) en larvas del barrenador del tallo (*Diatraea crambidoides*) Grote (Lepidoptera: Crambidae) a nivel de laboratorio.

3.3.2 Específicos

- a) Determinar el porcentaje de mortalidad de larvas penetrantes de *D. crambidoides* por la aplicación del hongo entomopatógeno *B. bassiana*.
- b) Determinar DL₅₀ y DL₉₀ de *Beauveria bassiana* cepa BISA-447 en larvas penetrantes de *D. crambidoides* en condiciones de laboratorio.

3.4 METODOLOGÍA

La investigación se realizó en dos etapas, la primera fue la obtención de las larvas de instar 1 (1-5 días de edad) (*Diatraea crambidoides*) del laboratorio de producción de parasitoides de Ingenio Santa Ana, la segunda etapa consistió en la evaluación de la mortalidad de larvas penetrantes de *D. crambidoides* por la aplicación del hongo entomopatógeno *B. bassiana*.

3.4.1 Obtención de Material

A. Hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*

El hongo *B. bassiana* se obtuvo del laboratorio de producción de hongos entomopatógenos del ingenio Santa Ana, el volumen de aplicación 30 litros por hectárea.

Se procedió a la preparación del inóculo. Primero se determinó el rendimiento de conidios por gramo del lote a utilizar, seguidamente se extrajo una porción del hongo en una solución de agua desmineralizada + Tween 20® (5 gotas/l) para poder extraer los conidios. Se tomó una muestra de la solución y se hizo un montaje en la cámara de Neubauer para hacer el conteo respectivo según el protocolo de determinación de conidios/ml. Para el cálculo de gramos/volumen se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Gramos/Litro} = \frac{(\text{Conidios X ml dosis mayor}) * (1000)}{(\text{Conidios/gramo}) * (\text{Viabilidad})}$$

Al tener la información de conidios/ml de la solución madre se procedió a hacer cada una de las concentraciones correspondientes a cada tratamiento (14)

B. Larvas

Las larvas se obtuvieron del laboratorio de producción de parasitoides, se utilizaron larvas de instar 1,

3.4.2 Preparación del material

El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones de la unidad de control de calidad y desarrollo de proyectos a una temperatura entre 28 y 29°C.

Las larvas utilizadas se extrajeron de la dieta artificial, y se colocaron dentro de cajas plásticas esterilizadas con hojas de caña de azúcar para simular a las larvas penetrantes en campo. Esto se realizó 24 horas antes de la aplicación para descartar a larvas con posibles daños de manipulación durante la extracción en cada caja. Se colocaron de 20-25 larvas, después se tomaron 20 larvas y se individualizaron en cajas de poliestireno estéril con hoja de caña de 2 cm x 4 cm.

3.4.3 Unidad experimental

La unidad experimental fue de 20 larvas de 3 días de edad.

3.4.4 Tratamientos

Cuadro 21 Dosis utilizadas como tratamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* cepa BISA-447 para el control del barrenador del tallo (*Diatraea crambidoides*) a nivel de laboratorio a un volumen de aplicación de 30 litros/hectárea.

Tratamiento	Dosis
T1	Testigo (Agua + Tween)
T2	3.20x10 ¹⁰ Conidios/ha (1.07E+06 conidios/ml)
T3	1.60x10 ¹¹ Conidios/ha (5.33E+06 conidios/ml)
T4	8.00x10 ¹¹ Conidios/ha (2.67E+07 conidios/ml)
T5	4.00x10 ¹² Conidios/ha (1.33E+08 conidios/ml)
T6	2.00x10 ¹³ Conidios/ha (6.67E+08 conidios/ml)
T7	1.00x10 ¹⁴ Conidios/ha (3.33E+09 conidios/ml)

3.4.5 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 7 tratamientos y 5 repeticiones, para un total de 35 unidades experimentales, cada unidad experimental consto de 20 larvas de barrenador (*Diatraea crambidoides*) de 3 días de edad utilizándose un total de 700 larvas para todo el ensayo.

Se etiquetaron con el tratamiento y repetición correspondiente, luego se colocó una tapa a la caja para evitar que las larvas escaparan. Las cajas fueron colocadas en una sala del laboratorio con una temperatura de 25± 2 C°, ya que esta temperatura estimula el buen desarrollo de la larva de *Diatraea crambidoides*.

3.4.6 Calibración del equipo

Luego se procedió a preparar las cámaras de aplicación que constaron de 20 cajas de poliestireno, estas fueron colocadas en bandejas plásticas (ver figura 17). Se preparó el área de calibración (Limpieza y desinfección). El primero paso fue determinar la calidad de aplicación (gotas/cm²), en una bandeja plástica se colocaron 4 cm² de papel hidrosensible en cada esquina y pedazos de 1 cm² en cada caja de poliestireno para verificar la calidad de las gotas, se tomó como altura de aplicación 0.9 metros. Luego se determinó el ancho de banda de aplicación del aerógrafo; se cortaron pedazos de papel hidrosensible de 0.5 cm X 6 cm y se colocaron a lo ancho de la bandeja de plástico, colocando en total 3 tiras de papel hidrosensible como se muestra en la figura. Se aplicó con el aerógrafo y se determinó el ancho de aplicación utilizando 0.9 metros de altura de aplicación. Para la descarga del aerógrafo; se tomó una probeta de 10 ml y se determinó la descarga del aerógrafo durante un minuto esto se repitió 10 veces y se utilizó el promedio. Con los datos de volumen y descarga se calculara el caudal del aerógrafo (2)

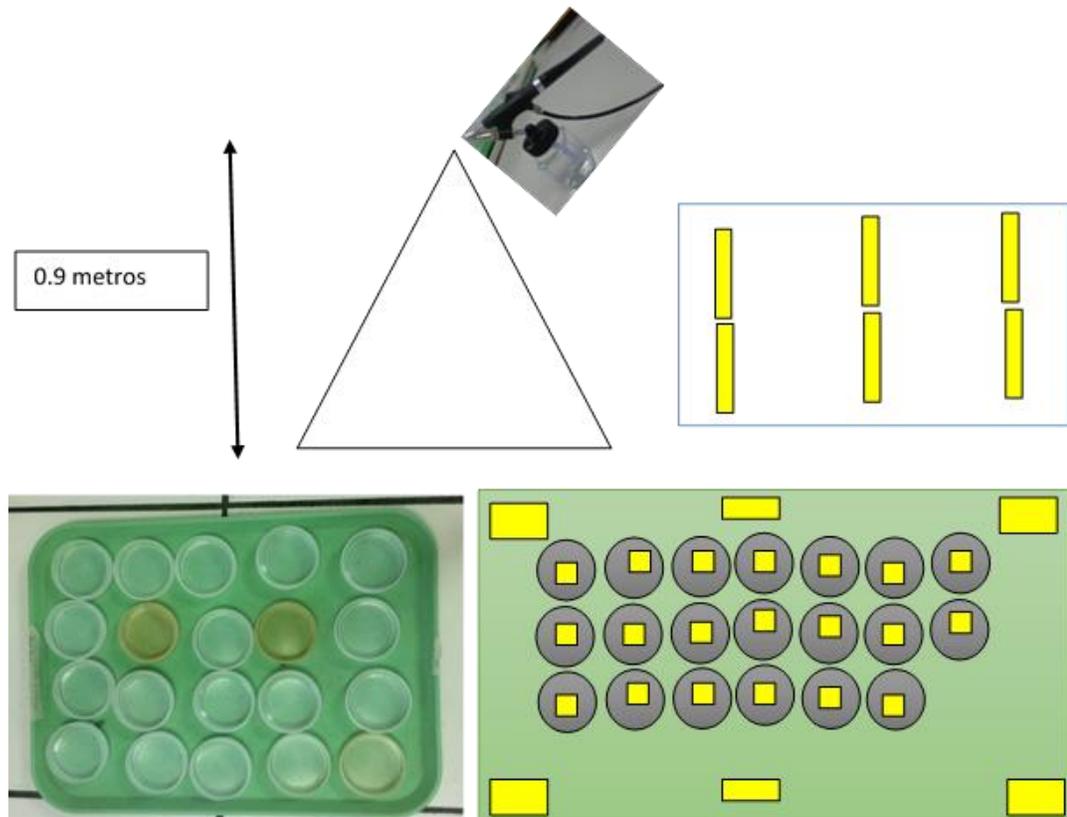


Figura 17 Calibración de equipo de simulación de aplicación aérea.

A. Calculo de área de aplicación

Área de aplicación= = (0.44m)*(0.19m)=0.0836 m² (Área aplicación 20 cajas de poliéster),
teniendo los datos de caudal del aerógrafo y área de aplicación se calculó el tiempo de
aspersión sobre el área de aplicación (velocidad de aplicación).

$$10,000m^2 - - - - - \rightarrow 30,000 \text{ ml}$$

$$0.0836m^2 - - - - - \rightarrow x \text{ ml}$$

$$x = 0.2508 \text{ ml}$$

Que es equivalente a una aplicación de 30 litros/hectárea a 30 PSI

$$2.6 \text{ ml} - - - - - \rightarrow 60 \text{ segundos}$$

$$0.2508\text{ml} - - - - - \rightarrow x \text{ segundos}$$

$$x = 5.78 \approx 6 \text{ segundos}$$

B. Datos de calibración:

Altura de aplicación:	0.9 metro
Caudal de aplicación aerógrafo:	0.043 cc/segundo
Ancho de banda de aplicación aerógrafo:	0.24 metros.
Largo de aplicación	0.44 metros
Tiempo de aplicación	6 segundos
Velocidad de aplicación	0.0733m/s

3.4.7 Aplicación del producto.

Se hizo la aplicación de la solución de conidios con ayuda del aerógrafo calibrado. Se tomaron las 20 cajas de poliestireno y se aplicaron conteniendo las larvas únicamente, se cubrieron en su totalidad según el tiempo calibrado (6 segundos por unidad experimental). Se inició con el testigo hasta finalizar los siete tratamientos. Al cambiar cada uno se lavó cuidadosamente el equipo con agua estéril.

Al finalizar la aplicación, las cajas se colocaron pedazos de hojas de caña y se cerraron para que las larvas se alimentaran naturalmente.

3.4.8 Manejo del experimento

Del primer al cuarto día las larvas se alimentaron con hojas de caña y al quinto día se alimentaron con cubos de dieta de iniciación, procedentes del laboratorio de parasitoides.

Se realizó la toma de datos diarios, revisando cada una de las repeticiones y se extrajeron todas las larvas muertas. Estos datos preliminares servirán para poder corregir la mortalidad por medio de ABOTT si esta supera el 10 % en el testigo. Se hizo una revisión del material diariamente teniendo el cuidado de colocar hojas de caña fresca.

Las larvas muertas fueron colectadas y se colocaron en cámaras húmedas individuales, estas constaron de una caja de poliestireno identificada y desinfectada, con un trozo de papel toalla en su interior, sobre el un cubreobjetos en el cuál se colocó el insecto con el abdomen hacia arriba y un trozo de algodón embebido de agua desmineralizada estéril. Se dejaron en observación hasta que se observó el micelio y se confirme la muerte por parasitismo de la cepa. Todas las cámaras húmedas fueron colocadas a una temperatura entre 28 a 29°C y un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad.

Para la cuantificación de mortalidad se utilizó el siguiente modelo (dado en porcentaje)

$$P_s = \frac{L I s}{L t} * 100$$

Donde:

P s= Porcentaje de larva con mortalidad confirmada

L I s= Larvas de parasitadas (mortalidad confirmada)

L t= Larvas total

3.4.9 Análisis de resultados.

A. Variables de respuesta.

- a) Porcentaje de mortalidad de larvas del barrenador *D. crambidoides* por *Beauveria bassiana* cepa BISA-447.
- b) DL₅₀ y DL₉₀ de *Beauveria bassiana* cepa BISA-447.

B. Análisis de la información

La mortalidad se corrigió por medio de ABOTT. Se llevaron registro de los datos de mortalidad acumulada (curvas) y el parasitismo confirmado por *Beauveria bassiana*. Los datos fueron transformados por $P_{C_{ij}} = \sin^{-1}(P_{C_{ij}})^{1/2}$ para poder hacer el ANDEVA respectivo y la prueba múltiple de medias (TUKEY) al 5 % se empleó el software estadístico InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (15)

Además se elaboraron las Curvas Probit para determinar la DL50 y la DL90

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 18 se presentan los resultados del uso de *B. bassiana* en larvas penetrantes (larvas 1-5 días de edad) de barrenador del tallo *D. crambidoides* se evaluaron 6 concentraciones del hongo entomopatógeno (conidios/ml)

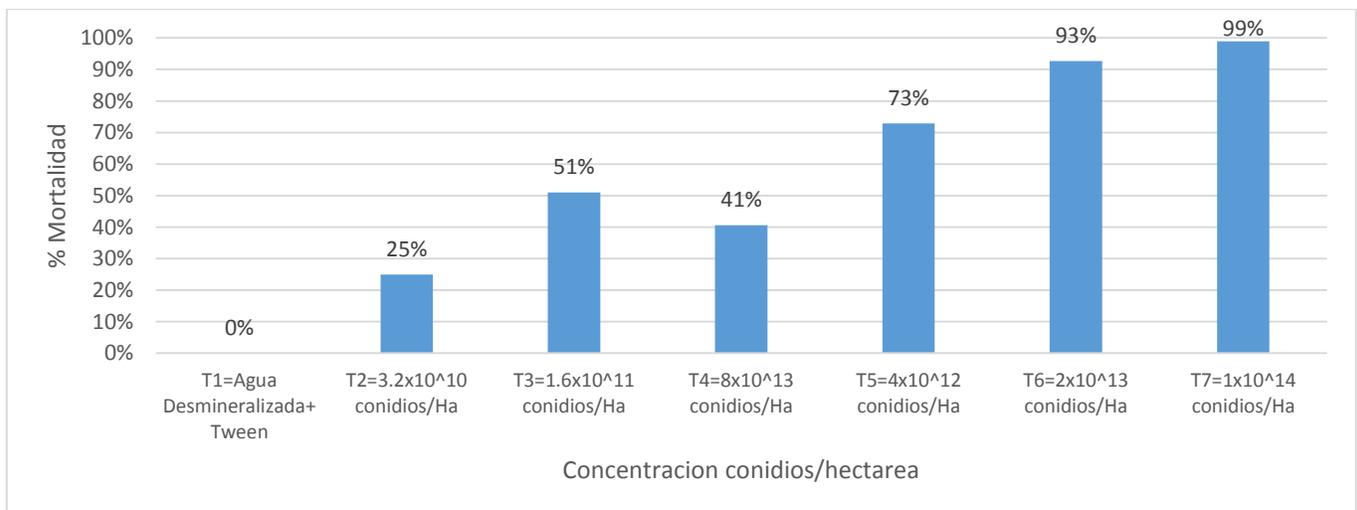


Figura 18 Resultados en porcentaje de larvas de *D. crambidoides* muertas confirmadas por la aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* cepa BISA 447

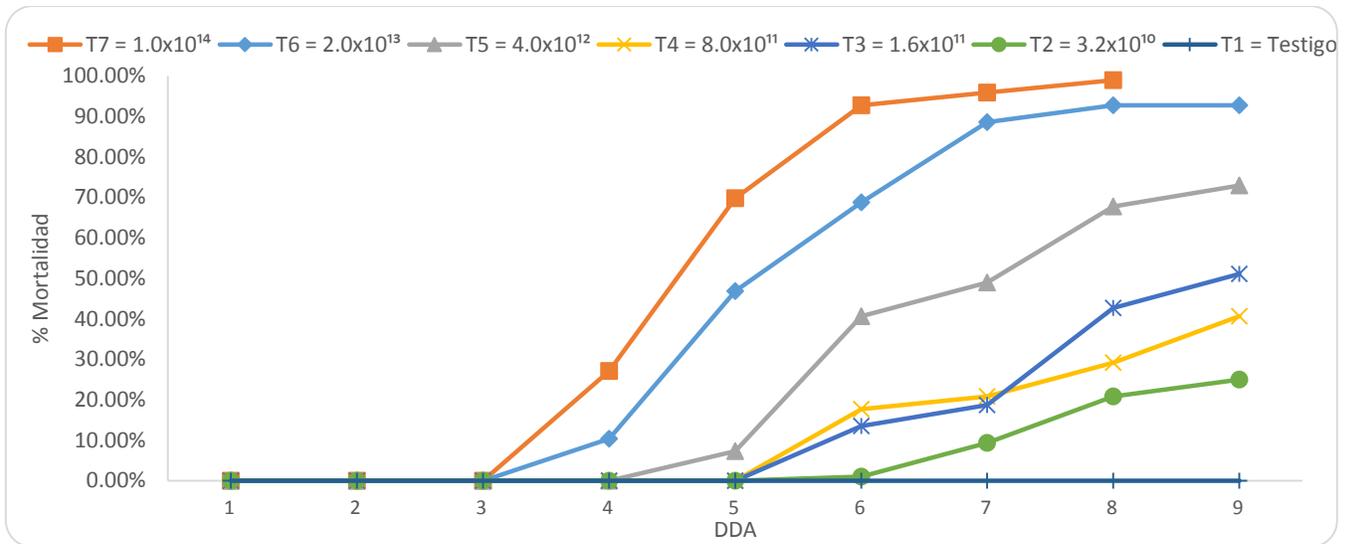


Figura 19 Mortalidad del barrenador del tallo *D. crambidoides* por la aplicación de *Beauveria bassiana* cepa bisa 447

El ensayo fue evaluado hasta el noveno día (ver figura 19) pero para los cálculos de DL50 y se utilizaron los datos al octavo día. En el cuadro 22 y 23 se muestran los porcentaje de mortalidad obtenidos en el ensayo, para el testigo y los demás tratamientos, así como el análisis estadístico que establece la separación entre medias y que señala diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, según Tukey ($P < 0.05$).

Cuadro 22 Análisis de varianza sobre la variable porcentaje de mortalidad del barrenador *D. crambidoides*, por la aplicación de *Beauveria bassiana* bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	CV
Porcentaje Mortalidad	56	0.92	18.28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6.27	6	1.04	88.58	<0.0001
Tratamiento	6.27	6	1.04	88.58	<0.0001
Error	0.58	49	0.01		
Total	6.85	55			

Cuadro 23 Separación de medias por medio de Tukey al 5% sobre la variable porcentaje de mortalidad del barrenador *D. crambidoides*, por la aplicación de *Beauveria bassiana* bajo condiciones de laboratorio, Laboratorio Control de Calidad, Ingenio Santa Ana

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T7=1x10 ¹⁴ conidios/Ha	0.99	8	0.04	A
T6=2x10 ¹³ conidios/Ha	0.93	8	0.04	A
T5=4x10 ¹² conidios/Ha	0.73	8	0.04	B
T3=1.6x10 ¹¹ conidios/Ha	0.51	8	0.04	C
T4=8x10 ¹³ conidios/Ha	0.4	8	0.04	C
T2=3.2x10 ¹⁰ conidios/Ha	0.25	8	0.04	D
T1=Agua Desmineralizada+ Tween	0	8	0.04	D
				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Los resultados muestran la patogenicidad del *B. bassiana* cepa BISA-447 sobre larvas penetrantes de *D. crambidoides* se observa que entre todos los tratamientos hubo diferencias entre sí y con el testigo, además de que este último no registró ninguna mortalidad confirmada mientras duró el ensayo. Se observó también que la mortalidad en los 6 tratamientos fue directamente proporcional a la concentración de conidios, siendo que al 8to día, el T7 (1x10¹⁴ conidios/hectarea) fue el más efectivo, con un 99% de mortalidad.

Malpartida (10) registró una mortalidad en las larvas de *Dione juno* Cramer (Lepidoptera: Nymphalidae), entre 20% y 84% al cuarto día. La DL50 y la DL95 fueron de 9.39×10^6 conidios/ml, y 1.42×10^8 conidia/ml respectivamente. También estos resultados son cercanos a los obtenidos por Solis-Soto *et al.* Citado por Malpartida (10), bajo condiciones de laboratorio; a una concentración de 2.4×10^8 conidios/ml, obtuvieron una mortalidad del 93% en larvas de *Cydia pomonella* L (Tortricidae), mientras que Quintana, con 10^8 conidios/ml, logró un 100% de mortalidad en larvas de *Rhyacionia buoliana* Denis & Schiff (Tortricidae). Rodríguez *et al.* mencionados por Malpartida (10) con la misma concentración obtuvieron al 4to día de inoculación, cerca del 60% de mortalidad en larvas del 3er estadio de *Tuta absoluta* Meyrick (Gelechiidae), logrando en el 7mo día, una mortalidad del 80%.

Según Echeverría (7) menciona que en la primer fase de la interacción hongo-insecto, el conidio se adhiere a la cutícula del insecto para este proceso es necesario que se dé, el reconocimiento y compatibilidad entre el conidio y las células del tegumento del insecto, está influida por dos acciones: la pasiva que no es más que las fuerzas electroestáticas e hidrofóbicas, y otra activa, en la que se secreta mucilagos que interactúan químicamente con las lecitinas de la membrana y genera condiciones para la formación de enzimas.

Para el presente ensayo las larvas de *D. crambidoides* mostraron momificación a partir del 4 día. Kouassi; Wong; Duperchy, citados por Echeverría (7) mencionan que una vez que se haya adherido el conidio, inicia la germinación, que es dependiente de las condiciones que le pueda brindar el insecto y el ambiente. La diferenciación del hongo, inicia con la formación de un tubo germinativo, similar a un aprensorio, el cual ayuda a la penetración de la cutícula por actividad enzimática extracelular (quitinasas, lipasas, esterases, y proteasas) así como presión mecánica por el haustorio.

En el cuadro 24, se presenta la mortalidad por los diferentes dosis de *B. bassiana*, el logaritmo de la dosis y el valor de probit para el cálculo de la DL50 y DL90.

Cuadro 24 Transformación a valores probit de las diferentes concentraciones de hongo entomopatógeno *B. bassiana* y porcentaje de mortalidad confirmada de larvas penetrantes de *D. crambidoides*

Tratamiento	Dosis	% Mortalidad	Ln Dosis	Probit (Mort)
T1	Testigo (Agua + Tween)	0.00%	0.00	0
T2	3.20x10 ¹⁰ Conidios/Ha	25.00%	24.19	4.32581
T3	1.60x10 ¹¹ Conidios/Ha	51.04%	25.80	5.02500
T4	8.00x10 ¹¹ Conidios/Ha	40.63%	27.41	4.76256
T5	4.00x10 ¹² Conidios/Ha	72.92%	29.02	5.60944
T6	2.00x10 ¹³ Conidios/Ha	92.71%	30.63	6.45408
T7	1.00x10 ¹⁴ Conidios/Ha	98.96%	32.24	7.31203

En la figura 20 se puede observar que la DL50 y DL90 fueron 3.14×10^{11} conidios/hectárea (1.047×10^7 conidios/ml) y 1.23×10^{13} conidios/hectárea (4.1×10^8 conidios/ml) respectivamente de *B. bassiana* cepa BISA-447 sobre larvas de primer instar de *D. crambidoides*.

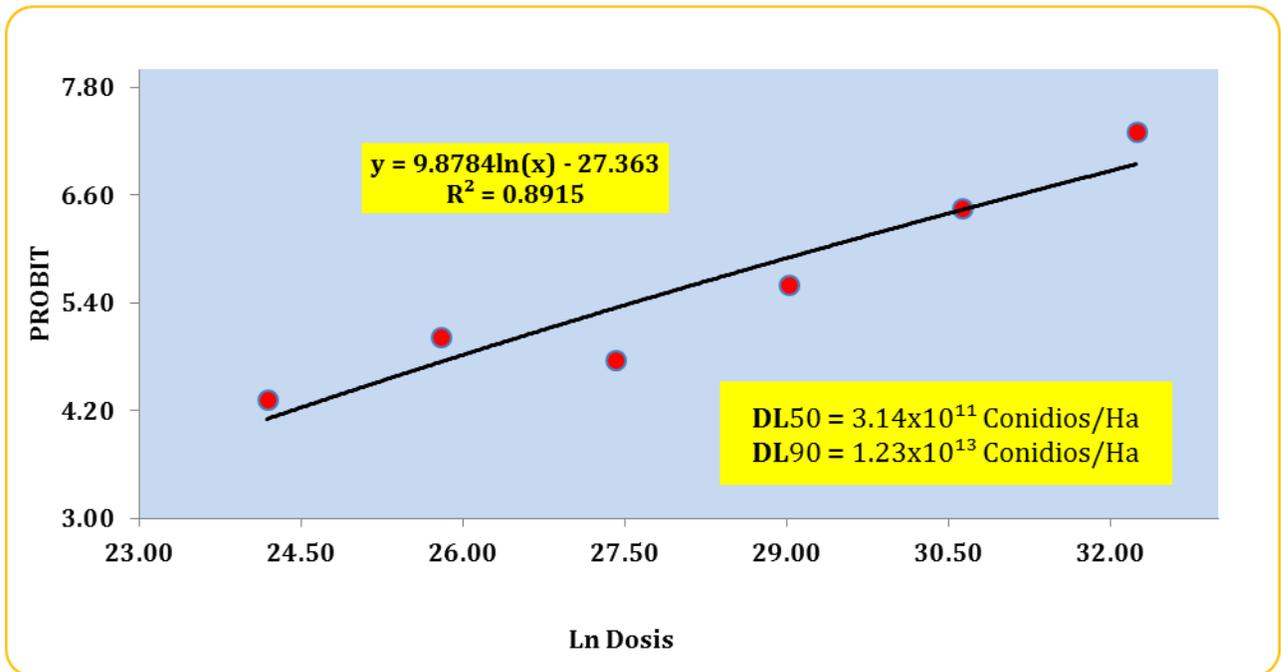


Figura 20 Regresión Probit para la curva de mortalidad de larvas de *Diatraea crambidoides* inoculadas con 6 concentraciones de *Beauveria bassiana*

Las concentraciones obtenidas en este ensayo están por encima de los reportados por González et al. Citados por Malpartida (10) registraron que una cepa de *B. bassiana*, tuvo una DL50 de 2.44×10^6 conidios/ml sobre larvas del 3er. estadio de *Ecdytoplopha torticornis* (Tortricidae). Esta misma autora cita a Fuentes & Carballo, determinaron que para *Plutella xylostella* (Plutellidae), la DL50 y DL95 fue de 2.2×10^5 y 5.1×10^7 conidios/ml respectivamente, mientras que Solis-Soto et al, señalan una DL50 de 8.82×10^6 conidios/ml para *Cydia pomonella* y Rodríguez et al. para *Tuta absoluta* encontraron de $1.0 \times 10^{4.4}$ y $1.0 \times 10^{7.6}$ conidios/ml para la DL50 y DL95 respectivamente.

3.6 CONCLUSIONES

Se concluye que el hongo *B. bassiana* cepa BISA-447 es patogénica para larvas de primer instar de *D. crambidoides*.

El cálculo de DL50 y DL90 que fueron 3.14×10^{11} conidios/hectárea (1.047×10^7 conidios/ml) y 1.23×10^{13} conidios/hectárea (4.1×10^8 conidios/ml) respectivamente

3.7 RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar la concentración 1.72×10^{13} conidios/hectárea (1.23×10^{13} conidios/hectárea +40%) en evaluación en campo.

3.8 BIBLIOGRAFÍA

1. Bach, P. 1971. Lucha biológica contra los enemigos de las plantas. Madrid, España, Mundi-Prensa. 399 p.
2. Badilla, F. 2014. Uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* zafra 2014-2015 (entrevista). Escuintla, Guatemala, Grupo Corporativo Santa Ana.
3. CABI, UK; IIEISR (International Institute of Entomological Identification Services Report, UK). 1998. Informe de identificación solicitada por CENGICAÑA. UK. 2 p.
4. Carmenaza, E; Botero, G; Marín, P; Benavides, P. 2009. Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café (en línea). Colombia, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Consultado 6 ene 2015. Disponible en <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/346/1/avt0384.pdf>
5. CENICANA (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, CO). 2012. Plagas de la caña de azúcar (en línea). Colombia. Consultado 12 mar 2013. Disponible en http://www.cenicana.org/investigacion/variedades/sanidad_vegetal.php?opcion=2
6. Echeverría Beirute, F. 2006. Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin (en línea). Informa Graduación Ing. Biotecnol. Cartago, Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología. 105 p. Consultado 3 ene 2015. Disponible en <http://bibliodigital.itcr.ac.cr/xmlui/bitstream/handle/2238/463/Trabajo%20Final%20de%20Graduacion%20Biblioteca.pdf?sequence=1>
7. Estrada, M; Romero, M. 1997. Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis* (en línea). Habana, Cuba, Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Consultado 10 ene 2015. Disponible en http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/canadeazucar/cana1501/texto/aplicacion.htm
8. Garcia, M; Capello, S; Leshner, J; Molina, R. 2011. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (en línea). Tabasco, México, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Consultado 9 ene 2015. Disponible en http://www.publicaciones.ujat.mx/publicaciones/horizonte_sanitario/ediciones/2011_mayo_agosto/03_Aislamiento_Caracterizacion.pdf
9. López, R; Zayas, E; Fernández, A; Trigueros N. 2003. Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* contra descortezadores (Coleoptera: scolytidae) del género *Ips* en plantaciones de pinos (*Pinus caribaea* Morelet) (en línea). La Haba, Cuba, Instituto de Investigaciones Forestales. Consultado 5 ene 2015. Disponible en <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1062/cuf0110s.pdf>

10. Malpartida, J. 2012. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio (en línea). Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. Consultado 10 ene 2015. Disponible en <http://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/Articulo%208%20vol%2012.pdf>
11. Márquez, J. 2012. Manejo integrado de plagas. *In* El cultivo de la caña de azúcar en Guatemala. Guatemala, CENGICAÑA. p. 203-231.
12. Márquez, J; López, E. 2002. Nivel de daño económico para las plagas de importancia en caña de azúcar y su estimación con base en un programa diseñado por CENGICAÑA. Boletín CañaMIP no. 19, 9 p.
13. Myers, P; Espinosa, C; Parr, T; Jones, G; Hammond, G; Dewey, A. 2014. Clasificación taxonómica de *Diatraea crambidoides* (en línea). California, US, Animal Diversity Web. Consultado 12 oct 2014. Disponible en http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Diatraea_crambidoides/classification/
14. Peña, R. 2014. Informe laboratorio hongos entomopatógeno, zafra 2013-2014. Escuintla, Guatemala, Grupo Corporativo Santa Ana. 3 p.
15. Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, MG; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2013. InfoStat versión 2013 (en línea). Argentina, Universidad Nacional de Córdoba, Grupo InfoStat, FCA. Consultado 14 oct 2014. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
16. Van, R; Hoddle, M; Center, T. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales (en línea). California, US, University of California Riverside / University of Massachusetts Amherst. Consultado 16 oct 2014. Disponible en http://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/VANDRIESCHE_CONTROL_Y_PLAGAS_WEB.pdf

3.9 ANEXOS

3.9.1 MATERIALES.

- ✓ Conidios viables de *Beauveria bassiana* cepa BISA-447 producido en arroz quebrado.
- ✓ Larvas de *Diatraea crambidoides* de 3 días de edad
- ✓ Cajas poliestireno estériles para cultivo de larvas
- ✓ Cajas petri de vidrio
- ✓ Hojas tiernas de caña limpias
- ✓ Agua desmineralizada purificada
- ✓ Tween 20®
- ✓ Erlenmeyer de vidrio de 1000 ml
- ✓ Beacker de vidrio de 1000 ml
- ✓ Bulbo para pipeta
- ✓ Probeta
- ✓ Pipeta
- ✓ Cámara de Newbauer
- ✓ Microscopio óptico
- ✓ Aerógrafo
- ✓ Compresor de aire
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Papel toalla autoclaveado
- ✓ Cubreobjetos
- ✓ Pincel
- ✓ Pizeta
- ✓ Horno de secado
- ✓ Masking Tape de ½"
- ✓ Boletas para toma de datos
- ✓ Papel Hidrosensible.