

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
SUBDIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ENSEÑANZA
PROGRAMA DE POSGRADO

Control de larvas de *Plutella xylostella* (L.) con la mezcla
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. más Nu-film 17.

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico
Académico del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias
Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical
de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de

Magister Scientiae

Por

CARMEN GUTIERREZ DELGADO

Turrialba, Costa Rica

1991

Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la Coordinación del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

COMITE ASESOR:


Joseph L. Saunders, Ph.D.
Profesor Consejero


Elkin Bustamante, Ph.D.
Miembro del Comité


Falguni Guharay, Ph.D.
Miembro del Comité

Miembro del Comité


Ramón Lastra, Ph.D.
Coordinador del Programa de Maestría


Carmen Gutiérrez D.
Candidato

DEDICATORIA

A Dios por haberme ayudado a concluir esta labor

A mis padres Patricia y Alberto
por su amor y enormes esfuerzos
para que pudiera forjarme en la
vida.

A Marvin por su gran
amor, apoyo y paciencia.

A mis hermanos: Iván, Fran,
Jairo, Marlon y Paty por su
cariño y por ser motivo de
superación.

A tía Angela por su infinito
amor, apoyo y oraciones.

A mis verdaderos amigos.

AGRADECIMIENTO

La autora desea agradecer sinceramente a las siguientes personas e instituciones.

Al Dr. Joseph L. Saunders por sus valiosas enseñanzas, su apoyo incondicional, orientación en el desarrollo de este trabajo, sus consejos y su sincera amistad.

Al Dr. Elkim Bustamante por sus inmejorables y valiosas sugerencias que contribuyeron al enriquecimiento de este trabajo, así como por su activa participación en el tribunal examinador.

Al Dr. Falguni Guharay por su amistad, conducción, análisis y apoyo incondicional, sin los cuales no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

A la Dra. Gilda Piaggio por su valiosa colaboración en la revisión de los análisis estadísticos de la información.

Al personal del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE): Julio César, Israel, Mario; por su valioso desempeño en la realización de este trabajo.

A mis amigos y compañeros de estudio: Gregorio, Isidro, Carlos, María Inés, Rosa María, José Manuel, Raquel y especialmente a Amelia quien me apoyo enormemente en los momentos más difíciles.

A mis amigas Lilliam Adela por su valiosa colaboración y apoyo, Aura, Isabel y Glenda.

A MIP-NORAG por el financiamiento de mis estudios.

AL Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE) por la oportunidad brindada.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	x
INDICE DE ANEXOS	xi
1. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivos	4
1.2. Hipótesis	4
2. REVISION DE LITERATURA	5
2.1. Ciclo de vida de <i>P. xylostella</i>	6
2.2. Dinámica de <i>P. xylostella</i>	8
2.3. Factores de mortalidad de <i>P. xylostella</i>	9
2.4. Relación planta-hospedero	11
2.5. Control microbial de insectos	12
3. MATERIALES Y METODOS	27
3.1. Localización del ensayo	27
3.2. Producto utilizado	27
3.3. Cría de <i>P. xylostella</i>	28
3.4. Experimentación	29
3.4.1. Determinación de CL ₅₀ y TL ₅₀	29
3.4.2. Utilización de Nu-film 17	30
3.4.3. Efectividad de Nu-film en la foto- protección de conidias de <i>B.</i> <i>bassiana</i> .	31
3.5. Procesamiento de los datos	33
4. RESULTADOS Y DISCUSION	35
4.1. Determinación de CL ₅₀ y TL ₅₀	35
4.2. Efecto de Nu-film 17 sobre viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> y mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i>	44
4.3. Efecto de fotoprotección de Nu-film 17 sobre conidias del hongo <i>B. bassiana</i>	51
5. CONCLUSIONES	58

6. RECOMENDACIONES	59
7. LITERATURA CITADA	60
8. ANEXOS	66

GUTIERREZ, C. 1991. Control de larvas de *Plutella xylostella* (L.) con la mezcla *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. más Nu-film 17. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 84 p.

Palabras Claves: Concentración, CL₅₀, TL₅₀, Mortalidad, Larvas, *Plutella xylostella*, Control, *Beauveria bassiana*, Entomopatógeno, Nu-film 17, Adherente, Viabilidad.

RESUMEN

Para encontrar una alternativa al control de *P. xylostella*, una de las principales plagas del cultivo de repollo *Brassica oleracea* (L.), se realizó el presente estudio en el cual se llevaron a cabo pruebas con una formulación con base en un agente de control microbial, el hongo entomopatógeno *B. bassiana*, más Nu-film 17, un protectante contra la radiación solar y otros factores ambientales.

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal y en la Universidad Nacional Agraria en Managua, Nicaragua entre Octubre de 1990 y Septiembre de 1991.

En el primer experimento se calculó la CL₅₀ y el TL₅₀ a partir de bioensayos con 7 tratamientos, los cuales consistieron en diluciones en serie de esporas del hongo aplicados por dos métodos: foliar y tópico. La CL₅₀ foliar fue la más alta.

Al agregar diferentes dosis de Nu-film 17 a las suspensiones conidiales se observó en laboratorio que a medida que aumenta la dosis de este producto la germinación *in vitro* de las conidias se retarda o se inhibe y la mortalidad de larvas decrece.

Al aplicar la formulación de *B. bassiana* más Nu-film 17 a plantas expuestas a la luz solar se encontró que la viabilidad de las conidias disminuye a medida que aumentan los períodos de exposición al sol, asimismo la mortalidad decrece y el TL₅₀ aumenta.

Nu-film 17 brinda una protección mínima a las conidias; parece ser que además de la radiación solar otros factores ambientales actúan sobre las conidias los cuales afectan la acción del protectante; estos factores deben de ser estudiados así como también otras dosis de Nu-film 17.

GUTIERREZ, C. 1991. Control of *Plutella xylostella* (L.) larvae with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. mixed with Nu-film 17. Mag Sc. Thesis. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 84 p.

Key words: Concentration, LC₅₀, LT₅₀, Mortality, Larvae, *Plutella xylostella*, Control, *Beauveria bassiana*, Entomopathogen, Nu-film 17, Adherent, Viability.

SUMMARY

To find an alternative method of control of *P. xylostella*, one of the principal pests of cabbage *Brassica oleracea* (L.), the present study was carried out to test a formulation of a microbial control agent, the entomopathogenic fungus *B. bassiana* plus Nu-film 17, a protectant against solar radiation and other environmental factors.

The study was carried out in the entomopathogenic fungi laboratory at CENAPROVE and in UNA in Managua, Nicaragua between October 1990 and September 1991.

In the first experiment the LC₅₀ and LT₅₀ were estimated from the bioassays with seven treatments which consisted of serial dilutions of fungal spores applied using two methods: foliar and topical. The foliar LC₅₀ was the higher.

Under laboratory conditions it was observed that increasing doses of Nu-film 17 in the conidial suspensions proportionally retarded or inhibited *in vitro* conidial germination and larval mortality decreased.

By applying the formulation of *B. bassiana* and Nu-film 17 to plants exposed to sunlight it was found that the viability of conidias was diminished in proportion to the increased exposure time, and that LT₅₀ increased and larval mortality decreased.

Nu-film 17 provided minimal conidial protection. It appears that other environmental factors besides solar radiation act upon the conidias which effect the performance of the protectant. These factors must be studied and also other doses of Nu-film 17.

INDICE DE CUADROS

Cuadro no.		Página
1	Valores de CL_{50} (a los siete días) y límites de confianza para cada método de aplicación: foliar y tópica en larvas de <i>P. xylostella</i> .	40
2	Valores de TL_{50} y límites de confianza para cada método de aplicación: foliar y tópica sobre larvas de <i>P. xylostella</i> .	43
3	Reducción de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> y viabilidad <i>in vitro</i> de conidias de <i>B. bassiana</i> .	47
4	Valores del intercepto y la pendiente de la línea de regresión usando diferentes dosis de Nu-film 17 sobre mortalidad y viabilidad para ambos métodos de aplicación sobre larvas de <i>P. xylostella</i> .	50

INDICE DE FIGURAS

Figura no.		Página
1	Curvas de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> debido a diferentes concentraciones de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> .	37
2	Líneas de respuesta probit de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> vs log de diferentes concentraciones de <i>B. bassiana</i> .	39
3	Líneas de respuesta probit de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> vs log de tiempo para TL ₅₀ de diferentes concentraciones de <i>B. bassiana</i> .	42
4	Efecto de Nu-film sobre la mortalidad de <i>P. xylostella</i> y germinación <i>in vitro</i> de <i>B. bassiana</i> .	45
5	Efecto de Nu-film sobre germinación <i>in vitro</i> de <i>B. bassiana</i> y mortalidad de <i>P. xylostella</i> .	46
6	Germinación <i>in vitro</i> de conidias de <i>B. bassiana</i> a diferentes dosis de Nu-film.	48
7	Mortalidad de <i>P. xylostella</i> a diferentes horas de exposición solar de <i>B. bassiana</i> .	53
8	Efectividad de aspersiones de <i>B. bassiana</i> sobre <i>P. xylostella</i> según su TL ₅₀ y viabilidad de las conidias.	55

INDICE DE ANEXOS

Anexo no.		Página
1	Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> por conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 en el método de aplicación foliar.	67
2	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 en el método de aplicación foliar.	67
3	Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> por conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 en el método de aplicación tópica.	68
4	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 en el método de aplicación tópica.	68
5	Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> por conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 a diferentes períodos de exposición solar.	69
6	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 a diferentes períodos de exposición solar.	69
7	Análisis de varianza del tiempo letal medio (TL ₅₀) de la mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> por conidias de <i>B. bassiana</i> más Nu-film 17 a diferentes períodos de exposición solar.	70
8	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> con y sin Nu-film 17 a diferentes períodos de exposición solar (0 horas).	71

9	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> con y sin Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar (24 horas).	71
10	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> con y sin Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar (48 horas).	72
11	Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de <i>B. bassiana</i> con y sin Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar (72 horas).	72
12	Lecturas de intensidad lumínica (en Lux) registradas durante las aplicaciones de <i>B. bassiana</i> .	73
13	Lecturas de datos climatológicos predominantes durante las aplicaciones de <i>B. bassiana</i> (período del 14-19 de Agosto de 1991).	73

1. INTRODUCCION

El cultivo del repollo *Brassica oleracea* (L.) constituye una actividad con larga trayectoria y tradición en la región centroamericana, habiéndose iniciado hace varias décadas (CATIE 1990).

En la agricultura nicaraguense el cultivo de las hortalizas constituye un rubro de vital importancia ya que tiene una gran demanda en el mercado local (PROCAMPO 1982).

El repollo *B. oleracea* se consume tanto en estado fresco como procesado. Su oferta durante todo el año no se corresponde con los niveles de demanda debido a un desequilibrio de producción causado, entre otros factores, por la época en que se cultiva y por un deficiente manejo del cultivo, dado que casi la totalidad de la producción de esta hortaliza está en manos de pequeños y medianos productores los cuales no cuentan con los mejores medios de producción. También incide la falta de asistencia técnica adecuada que garantice una mejor producción (MIP-Repollo 1990).

Las exigencias del mercado en cuanto a la calidad del repollo han venido cambiando las prácticas del agricultor en relación al control de plagas. El consumidor rechaza el producto con manchas o daño de insectos. Las campañas publicitarias de los plaguicidas han contribuido a que los productores de repollo hayan adoptado el control químico como

una medida única para lograr el producto "más limpio" y así lograr que sea aceptado en el mercado (CATIE 1990).

La mayor producción de este cultivo se registra en zonas altas de la región Norte del país (500-1000 msnm) pero se ha adaptado a zonas más bajas como el Valle de Sébaco (Matagalpa) y Masaya que se han convertido en importantes zonas productoras.

El cultivo de repollo puede producir hasta 21.000 cabezas comerciables por manzana (0,7 Ha), sin embargo, en encuestas realizadas en zonas de Matagalpa-Jinotega en época de apante (Enero-Marzo, 1986) y en la zona de La Concepción, Masaya en época de primera (Junio-Agosto, 1988), se reportó que la producción oscila entre 0-5.000 cabezas por manzana (Barahona 1989).

Las principales limitantes para la producción de repollo son las incidencias de plagas insectiles y enfermedades, reportándose: *Plutella xylostella*, *Ascia monuste*, *Leptophobia aripa* y el barrenador *Hellula phidialis*.

P. xylostella es considerado la plaga principal ya que se encuentra en todas las zonas productoras de repollo en Nicaragua (Guharay 1986 citado por Barahona 1989).

La existencia de organismos benéficos en el cultivo de repollo debe ser considerada en toda decisión de manejo, procurando no perturbar demasiado sus poblaciones.

Existen muchas especies de depredadores y parasitoides que atacan a los insectos dañinos, contribuyendo a mantenerlos a niveles suficientemente bajos como para que no causen daño económico. Existen además organismos patógenos como hongos, bacterias y virus que producen una mortalidad considerable entre las larvas de insectos.

En caso de tener que aplicar alguna medida de control se debe tomar en cuenta la existencia del control biológico para evitar en lo posible cualquier perturbación al mismo.

Concientes de esta problemática se han venido realizando trabajos de investigación tanto en laboratorio como en las zonas repolleras sobre niveles de daño económico, evaluación de productos químicos y biológicos contra defoliadores, uso de cultivos asociados (policultivos) y productos alternativos para el control de plagas, por la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA) (MIP-Repollo 1990).

Dada la problemática antes mencionada se propone el presente trabajo dirigido a estudiar la efectividad del control microbial contra *P. xylostella* usando el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y Nufilm 17 como protectante de sus conidias contra la radiación solar.

1.1. OBJETIVOS

1.- Determinar la concentración letal media (CL₅₀) y el tiempo letal medio (TL₅₀) de una suspensión acuosa de conidias del hongo entomopatógeno *B. bassiana* contra la palomilla del repollo *P. xylostella*.

2.- Probar la eficiencia de Nu-film 17 en la protección de conidias de *B. bassiana* contra la radiación solar usadas en suspensión acuosa para el control de larvas de *P. xylostella* con base en microensayos.

1.2. HIPOTESIS

1.- El hongo *B. bassiana* es efectivo contra la palomilla del repollo *P. xylostella*.

2.- Nu-film 17 no afecta la viabilidad de las conidias de *B. bassiana*.

3.- Nu-film 17 protege eficientemente las conidias del hongo *B. bassiana*.

2. REVISION DE LITERATURA

Entre las plagas invertebradas del repollo se coloca en primer lugar a la palomilla dorso de diamante *P. xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae) que ataca practicamente a todas las especies de Cruciferas y algunas Quenopodiáceas en más de 100 países. Esta plaga aumenta los costos de producción y reduce la cantidad y/o calidad del producto (Blanco 1988).

Se estima que el costo de producción promedio por hectárea para la región centroamericana oscila entre US\$800-\$1.342, de los cuales se invierte entre 20% y 38% en el control de plagas. Este porcentaje varía de acuerdo a las condiciones socioeconómicas y ecológicas particulares de cada país (CATIE 1990).

En el ciclo agrícola 1983-84 en Nicaragua, infestaciones de esta plaga causó hasta un 100% de pérdidas económicas. Esta situación es el resultado de una alteración en el equilibrio del ecosistema ocasionado por el uso de altas dosis de insecticidas y a la calendarización de las aplicaciones, lo que llevó a este insecto posiblemente a desarrollar un mecanismo de resistencia hacia los productos químicos más utilizados en el cultivo (Varela 1987).

2.1. CICLO DE VIDA DE *P. xylostella*

HUEVO: Las hembras adultas ponen un promedio de 160 huevos, aunque pueden poner hasta 360, los cuales miden aproximadamente (0,44 x 0,26 mm). Son depositados de uno en uno ó en pequeños grupos en el envés de las hojas de la planta hospedera (Harcourt 1963, King y Saunders 1984). Son de color amarillo pálido a verde pálido. Antes de eclosionar, el huevo se oscurece y se puede observar la pequeña larva arrollada bajo el córion (Harcourt 1957, 1963).

La duración del estado de huevo es de 3,2 días a 20°C (Salinas 1974).

LARVA: Verde pálido a verde azulado, de 10-12 mm de largo cuando está madura. Los primeros estadios se alimentan en la superficie inferior de las hojas, dejando ventanas de la epidermis superior intactas. A veces pueden minar el tejido de la hoja.

Cuando las larvitas emergen de los huevos, minan en la epidermis de la superficie inferior de las hojas. Posteriormente, salen y se ubican en sitios protegidos, tales como las depresiones de las hojas o en sus bordes irregulares (CATIE 1990).

Las larvas mayores perforan las hojas haciendo muchos agujeros irregulares (Harcourt 1963, Hardy s. f.). Hay cuatro estadios larvales y uno de prepupa. El primero carece de

pigmentación y la cabeza es pardo oscuro (Harcourt 1957). La duración de los diferentes estadios a 20°C son de 12,8 días para larvas; de 1,3 días para el de prepupa y de 7 días para la pupa (Salinas 1974). Las larvas se contorsionan cuando las molestan, y pueden dejarse caer de la planta sostenidas del extremo de hilos de seda.

La larva es la que causa el daño ya que al alimentarse y producir perforaciones se propicia la entrada de organismos perjudiciales que originan graves pudriciones y muchas veces causan la pérdida total del cultivo (Ugalde 1983).

PUPA: Empupan en un capullo delicado de seda en el envés de la hoja, generalmente a lo largo de la vena central o de alguna vena prominente (King y Saunders 1984).

Al inicio es verde pero luego se vuelve café amarillenta. Su longitud es de 7 mm. Los adultos emergen entre 5 y 15 días, dependiendo de la temperatura (CATIE 1990).

ADULTO: El adulto es una palomilla de 8-10 mm de longitud. Se movilizan rápidamente cuando son perturbados, volando con revoloteos rápidos entre las plantas (CATIE 1990).

Presenta una envergadura de 12-15 mm. Las alas delanteras son café-gris con un dibujo en forma de diamante más claro cuando cierra las alas. Las alas traseras son café pálido con un fleco de pelos largos (King y Saunders 1984).

Son inactivos durante el día y descansan en la parte inferior de las hojas de su hospedero. El apareamiento ocurre al atardecer un día después de la emergencia. Ovipositan al anochecer en las hojas, tallos y peciolo y se alcanza el pico de postura dos horas después de iniciado el mismo (Salinas 1974).

El ciclo biológico desde huevo a adulto tarda entre 15 y 40 días, dependiendo de las condiciones climáticas, principalmente la temperatura (CATIE 1990).

2.2. DINAMICA DE *P. xylostella*

La dinámica de la plaga está determinada por la altura sobre el nivel del mar, la temperatura y la precipitación, así como por el manejo dado a los campos de repollo antes y después de la cosecha (CATIE 1990).

Cuando no hay inmigración de adultos de *P. xylostella* desde campos aledaños, la población de la plaga se incrementa conforme se desarrolla el cultivo. Este incremento de la plaga es más acelerado cuando ocurre inmigración de adultos desde otras áreas.

La infestación de la plaga es baja en invierno, debido a que la lluvia reduce la oviposición (Tabashnik y Mau 1986).

En el verano el incremento de la plaga es acelerado debido a la mayor actividad de oviposición, la mayor

velocidad de crecimiento de la plaga y el mayor número de generaciones (Yaseen 1974).

En zonas bajas, el aumento de la temperatura reduce la duración del ciclo biológico y provoca un aumento en el número de generaciones y como consecuencia, mayores infestaciones en menor tiempo (CATIE 1990).

2.3. FACTORES DE MORTALIDAD DE *P. xylostella*.

Entre las causas de mortalidad de huevos está la participación de algunos depredadores, el exceso de humedad durante períodos lluviosos y el lavado por lluvia (CATIE 1990).

En un estudio sobre tablas de vida de esta plaga la mortalidad de larvas pequeñas fue directamente relacionada con la precipitación. En once años, la lluvia causó un 47% de mortalidad de larvas pequeñas, mientras que la mortalidad de larvas grandes fue mínima (Harcourt 1986).

Este efecto de la precipitación se debe a que las larvas son susceptibles al ahogamiento. En los períodos de poca precipitación, la plaga logra multiplicarse más rápidamente (Harcourt 1963).

Otro factor de mortalidad de larvas es el parásito *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) el cual se encuentra distribuido en toda centroamérica (CATIE 1990).

También se encontró que algunos hongos como *B. bassiana* invaden las larvas a través de su cutícula (Robert y Marchal 1980).

Un insecticida microbial a base de *Bacillus thuringiensis Berliner* suprimió efectivamente poblaciones de *P. xylostella* (Sudarwohadi y Said 1977 comunicación personal, citado por Brunner y Stevens).

Mohamad et al (1979) usaron *B. thuringiensis* (Thuricide HP), una bacteria entomófaga que actúa por ingestión al ser comida por larvas de insectos plaga. La bacteria actuó sobre estados larvales de *P. xylostella* cuando estos se alimentaron con el follaje tratado reduciendo sus poblaciones. La muerte ocurre usualmente entre 3-5 días durante los cuales no se alimentan o lo hacen muy poco.

La lluvia también influye sobre la mortalidad de adultos, debido al ahogamiento, cuando éstos son atrapados por el agua que se almacena en las hojas luego de los aguaceros (CATIE 1990).

2.4. RELACION PLANTA-INSECTO

Las larvas perforan las hojas, el corazón y otras partes comerciábiles que pueden quedar llenas de galerías, excrementos y telarañas, donde puede haber larvas presentes (King y Saunders 1984). Son de mayor importancia cuando penetran en el corazón y otras partes comerciábiles de la planta de repollo.

Todas las etapas del cultivo de repollo no son igualmente susceptibles al ataque de la plaga. Existen periodos en que el ataque de esta plaga causa pérdidas económicas, mientras en otros periodos la misma plaga no causa pérdidas ya que la planta puede resistir su daño.

Conociendo estos periodos se pueden evitar aplicaciones innecesarias, haciendo el control de la plaga solamente durante el periodo crítico.

P. xylostella es problemática en el semillero si estos se hacen cerca de las áreas que son fuente de inmigración de adultos, ya que si en esta etapa existe una elevada infestación de larvas puede ocurrir una pérdida significativa de plántulas.

En la segunda etapa o establecimiento, el repollo es algo tolerante al daño de la plaga siempre que la inmigración de adultos sea reducida y no haya una infestación severa en el punto de crecimiento .

En la tercera etapa o de preformación de cabeza, la planta es más tolerante a la plaga. Sin embargo, cuando la inmigración de adultos desde campos abandonados es alta, se alcanzan niveles de infestación que la planta no puede tolerar, principalmente cuando el daño causado por las larvas ocurre en el punto de crecimiento.

En la cuarta etapa o de formación de cabeza, la planta, aún sin existir inmigración de adultos, alcanza fácilmente niveles intolerables. Esta es la etapa más crítica desde el punto de vista de manejo de la plaga (CATIE 1990).

Cuando el repollo está formando y llenando cabeza (30-90 días después de trasplante), la incidencia de *P. xylostella* puede causar daño económico y pérdidas del ingreso (MIP-Repollo 1990).

2.5. CONTROL MICROBIAL DE INSECTOS

La patología de insectos es la ciencia que estudia las enfermedades de los insectos.

El control microbial es la principal meta de la patología de insectos y representa una rama del control biológico de insectos. Este tipo de control trata de la utilización racional de patógenos tratando de mantener las poblaciones plagas a niveles no económicos (Alves 1986).

El control microbioal de artrópodos ha sido investigado por más de 100 años. Sin embargo, la intensidad de las investigaciones ha incrementado dramáticamente (Harper 1987).

En años recientes, la patología de insectos y el control microbioano han recibido mayor atención y apoyo en todo el mundo. Todos los grupos relacionados con el control biológico de insectos llegaron a incluir en sus programas de investigación, alguna fase de la patología de insectos ó control microbioano (DeBach 1968).

Las investigaciones sobre control microbioal han sido conducidas con diferentes organismos de todos los principales grupos de microorganismos- bacterias, protozoos, virus y hongos- también como con nemátodos parasíticos. El uso de un microorganismo para control requiere que una serie de pasos sean seguidos. Estos comienzan con el descubrimiento de un organismo que sea agente causante de enfermedad en su hospedero. Los organismos asociados con los síntomas de la enfermedad son aislados en cultivos puros y usados para infestar individuos sanos. La producción de síntomas idénticos y reaislamiento del organismo de estos hospederos infestados sirve como prueba de la causa de la enfermedad (Harper 1987).

En las últimas tres décadas algunas de las subdivisiones de la patología de insectos tales como sintomatología, fisiopatología, histopatología, morfología y más específicamente, el estudio de los procesos infecciosos de

patógenos, han recibido atención. La mayoría de estos estudios han sido validados alrededor de ambiente de laboratorio. Esto ha sido necesario para establecer trabajos básicos acerca de estos patógenos de insectos (Yendol & Hamlen 1973).

Roberts y Humber (1981) delinearon las relaciones entre insectos y hongos: "los patógenos causan la muerte temprana del hospedero por penetración y proliferación en el interior del mismo, el cual es matado por ser privado de nutrientes solubles en su hemolinfa, por la invasión ó digestión de sus tejidos y/ó por la liberación de toxinas del hongo".

Cada grupo de hongos entomopatógenos tiene sus peculiaridades y su asociación característica con el insecto hospedero. Las características fisiológicas de estos hongos son tan interesantes y tan importantes como las características morfológicas. Es esencial un gran conocimiento del desarrollo y fisiología de los hongos entomopatógenos para poder usarlos con éxito en el control microbiano de los insectos dañinos (DeBach 1968).

El integumento de los insectos es una barrera para la invasión de los microorganismos. La evidencia conocida indica que el integumento no solo actúa como barrera mecánica, sino también puede restringir el crecimiento del hongo por contener materiales antifungales. La habilidad del integumento del insecto para reducir fuertemente la invasión fungal puede ser atribuída a la acción de cadenas de ácidos

grasos saturados que existen libremente en la cutícula (Yendol y Hamlem 1973).

El progreso de una enfermedad en una población de insectos puede ser demostrado a través de una curva epizootica (Tanada 1963). Esa curva puede ser dividida en tres fases: pre-epizootica, epizootica y post-epizootica. La fase pre-epizootica se caracteriza por un bajo número de hospederos enfermos, resultado de focos primarios de la enfermedad. Esos focos son formados debido a inmigraciones de insectos enfermos a partir de estructuras del patógeno traídas por pájaros, insectos parásitos ó depredadores u otros animales; también pueden ocurrir debido a estructuras del patógeno que permanecen en el suelo, en cadáveres de insectos ó en las plantas. La fase epizootica se caracteriza por un elevado índice de la enfermedad en consecuencia de la multiplicación y diseminación del inóculo producido en los focos primarios. La fase post-epizootica se caracteriza por la disminución del número de insectos atacados en relación a la fase anterior.

Para la ocurrencia de epizootias es necesario un potencial de inóculo mínimo. Por potencial de inóculo se entiende un número de propágulos vivos, sobre los órganos susceptibles del hospedero, capaz de iniciar el proceso de enfermedad.

Los hongos entomopatógenos, similares a otros hongos, son dependientes para su desarrollo, longevidad y dispersión de varias condiciones cuya interacción constituye el macro y micro ambiente. La germinación de las esporas fungales móviles ó unidades infectivas es el proceso fisiológico primario que debe ocurrir antes que la infección pudiera darse. Las condiciones que son desfavorables para las esporas del hongo son principalmente temperaturas altas, humedades bajas y luz solar intensa que pueden afectar severamente su movilidad (Yendol y Hamlen 1973). Los organismos son continuamente ingeridos con el alimento por muchos insectos, y el ambiente externo inicial determina las varias especies de microorganismos que son consumidos.

Normalmente los hongos penetran vía el integumento a través de actividad enzimica ó presión mecánica ejercida por el tubo germinativo, pero también existen otras formas de penetración que son vía respiratoria a través de la tráquea, vía oral a través de ingestión de partículas patogénicas (Alves 1986).

La reacción alcalina ó ácida del contenido intestinal de los insectos puede ser una de las causas de eliminación de muchos microorganismos potencialmente patogénicos.

Durante la fase de producción de hongos entomopatógenicos, son importantes las temperaturas ideales

para germinación de esporas, crecimiento vegetativo y esporulación. El rango ideal para el desarrollo de estos hongos se encuentra entre 20-30°C. La humedad alta es esencial para las fases de germinación y penetración y es limitante para la reproducción de algunos hongos. La radiación puede ser estimulante o perjudicial a los patógenos; eso depende del tipo de microorganismo, de su fase de desarrollo en la naturaleza y la cantidad de radiación recibida. La radiación puede actuar sobre la germinación de los conidios y sobre los estados iniciales de crecimiento del tubo germinativo. La influencia de luz diurna difusa es variable para los diferentes hongos patogénicos (Alves 1986).

La Clase *Deuteromycetes* comprende los hongos donde solo se conoce la propagación asexual. Más de 40 géneros entomopatogénicos han sido identificados pero el conocimiento de sus potenciales es limitado a un pequeño número de estos: *Aschersonia*, *Culicinomyces*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium* y *Beauveria* (Ferron 1985).

Especies de *Beauveria* son a menudo aislados de insectos enfermos y frecuentemente usados en pruebas de control microbial. La producción de toxinas ha sido particularmente examinada para dos de las especies más comunes, *B. bassiana* y *B. brongniartii* (= *tenella*). De la descripción de los síntomas, algunas cepas obviamente producen compuestos

tóxicos, los cuales rápidamente debilitan al hospedero después de la invasión de la hemolinfa (Roberts 1981).

B. bassiana es un hongo entomopatogénico *Deuteromycete* el cual infesta una variedad de insectos. Sus hospederos son predominantemente miembros de los Ordenes Lepidoptera y Coleoptera, incluyendo plagas de importancia económica agrícola, habitando suelos ó plantas cultivadas (Storey y Gardner 1986).

El hongo presenta conidios globosos ó subglobosos con 2,0-3,0 x 2,0-2,5 micrómetros de diámetro, con conidióforos formando densos cachos. Produce la enfermedad conocida como la muscardina blanca.

La germinación de sus conidios ocurre en un período de 12 horas después de la inoculación. El hongo penetra frecuentemente vía el tegumento debido a una acción mecánica y efectos enzimicos. Transcurridas 72 horas después de la inoculación, el insecto se presenta totalmente infectado, notándose gran cantidad de conidióforos y conidios característicos de la especie. La duración de las diferentes fases del ciclo de las relaciones patógeno-hospedero depende de las especies de insectos involucrados y de las condiciones reinantes durante el desarrollo de la enfermedad. Las condiciones favorables son: humedad relativa de aproximadamente 90% y temperaturas entre 23-28°C (Alves 1986).

Las temperaturas después de las aplicaciones en el campo son imposibles de ser modificadas. El hongo *B. bassiana* requiere una fase de 22 a 26°C para presentar un buen desarrollo, pero puede soportar T° de hasta 45°C.

Según Roberts y Campbell (1977) *B. bassiana* puede ser inactivado por T° de 50°C durante 10 minutos, *M. anisopliae* puede ser inactivado por T° de 49°C durante 10 minutos, *Entomophthora virulenta* puede bajar su % de germinación a T° de 60°C durante 540 minutos.

Zimmermann (1982) demostró que la T°L₅₀ puede aumentar a medida que la humedad relativa decrece.

Como la temperatura en el campo raramente alcanza niveles de inactivación de hongos, se hacen necesarios estudios sobre el efecto de largas exposiciones de patógenos y formulaciones a temperaturas moderadamente altas.

La humedad se puede manifestar a través de la lluvia, humedad del suelo y humedad del aire, siendo que la humedad del aire puede ser expresada en términos de humedad relativa, humedad absoluta ó déficit de saturación.

La humedad desempeña un papel importante en sí para el insecto hospedero como para el propio patógeno.

Con relación a los patógenos, la humedad (fase líquida ó gaseosa) es esencial, siendo importante para las fases de germinación, penetración y es limitante para la reproducción de algunos patógenos. La humedad influye en el espesor de la cubierta de cera de los insectos tornándose más o menos resistentes a los patógenos. (Alves 1986).

Clerk y Madelin (1965) variando los porcentajes de humedad relativa para *B. bassiana* no consiguieron correlacionar el tiempo de preservación de esporas con las diferentes combinaciones de temperatura, HR y fotoperíodo en almacenamiento. Observaciones de laboratorio indican que productos con más de 40% de humedad relativa al ser almacenados pueden perder rápidamente la viabilidad a temperaturas bajas.

Bell (1974) menciona que los conidios poseen una delicada membrana externa pudiendo perder ó ganar agua rápidamente, de acuerdo con la humedad del aire, siendo que en atmósferas insaturadas pierden fácilmente la viabilidad.

El hongo *B. bassiana* puede ser estimulado por la luz de corta longitud de onda. Alves y Moraes (1979) estudiando diversos fotoperíodos para este hongo concluyeron que el mayor número de conidios fue producido sobre luz continua.

Negreiros et al (1980) trabajando con *B. bassiana* sometida a acción de diversas lámparas fluorescentes, observaron que las luces amarilla y negra fueron las que indujeron mayor esporulación del hongo. Observaron una gran variación morfológica en las colonias sometidas a la acción de las lámparas.

Según Bell (1974) el hongo *B. bassiana* pierde la infectividad cuando es sometido por tres horas a luz solar directa. También Galaini (1984) informó que la sobrevivencia de este hongo en la superficie de hojas de batata declinó rápidamente cuando fue expuesta a la luz solar.

El conocimiento de la sensibilidad de los patógenos a la radiación ultravioleta, establece el llamado *Factor ultravioleta*, el cual representa el porcentaje de estructuras del patógeno inhibidas en un día por esa radiación, es de gran importancia en el control microbiano. Para *N. rileyi* ese factor ya fue fijado en 0,5 (50%), pudiendo ser también considerado para efectos prácticos para *M. anisopliae*, *B. bassiana* y otros Deuteromicetes.

Algunos autores mencionan que el follaje puede afectar la viabilidad de los hongos, pero existen pocas informaciones sobre ese asunto.

Gardner et al (1977) observaron que la pérdida del 50% de la actividad original de los patógenos *B. bassiana*, *Nosema necatrix* y *N. rileyi* sobre follaje de soya osciló entre 5 a

10 días después de su aplicación. Por otro lado, Ignoffo et al (1979) aplicando el producto Boverin (*B. bassiana*) en follaje de soya obtuvieron vida media menor de 24 horas.

La capacidad de sobrevivencia de un patógeno puede variar con el grado de defoliación del cultivo y con la localización en la planta. Galaini (1984) verificó la sobrevivencia de *B. bassiana* sobre plantas de batata en tres condiciones: defoliación severa, defoliación leve y defoliación leve más protectante contra ultravioleta. La sobrevivencia del hongo después de seis horas de exposición a la luz solar fue respectivamente: 11,2%, 50,9% y 25,1%.

Las características del suelo son importantes tanto para los hospederos como para los patógenos. El efecto del suelo sobre los hongos entomopatógenos es variable. La reducción del nivel de germinación ha sido constatado por algunos autores y esa reducción puede ser debida a los compuestos fungistáticos producidos por Actinomicetes y bacterias que viven en saprogénesis en los suelos.

Se ha verificado que esporas de *B. bassiana* no perdieron su viabilidad durante dos años en suelos no esterilizados. En estudios efectuados en cultivos de banano, se encontró a *Cosmopolites sordidus* (picudo del plátano) atacado por *B. bassiana*. Alrededor del insecto se observó una gran cantidad

de micelio con forma "rizomorfa"; esa estructura puede ser una de las formas de persistencia del hongo en el suelo.

Lingg y Donaldson (1981) efectuaron estudios sobre la estabilidad de *B. bassiana* en suelo esterilizado y no esterilizado a T°, HR, contenido de agua y pH variables. La vida media de las conidias varió de 14 días (25°C y 75% de saturación del suelo) hasta 276 días (10°C y 25% de saturación del suelo).

Habib & Andrade (1977) inocularon *B. bassiana* en larvas de *Brassolis sophorae* y observaron que 24 horas después de la inoculación las larvas presentaban movimientos más lentos con alimentación y coloración aparentemente normales. Después de 48 horas no se movían, presentando cierta flacidéz y coloración más oscura en el dorso y rosada en la región ventral. Después de 72 horas mostraron parálisis general, estaban rígidas cuando murieron. Después de 5 días apareció el patógeno representado por puntos blancos en los espiráculos, cubriendo luego todo el cuerpo. El ciclo completo de la enfermedad se obtuvo en 7-8 días a temperatura de 19,9°C y 63,5% HR.

Robert y Marchal (1980) citados por Wilding (1986) compararon la infectividad de entomopatógenos contra larvas de *Plutella* para determinar la susceptibilidad a estos hongos. Discos de hojas de 50 mm de diámetro fueron tratadas

con suspensiones de esporas y puestos en cajas conteniendo 20 larvas de 3er estadio y guardados en una atmósfera húmedecida por 48 horas. Los hongos invadieron las larvas a través de la cutícula. Las larvas fueron tratadas con dos cepas de *B. bassiana*, dos de *B. brongniartii*, cinco de *Metarhizium anisopliae*, una de *M. flavoviride*, una de *Nomuraea rileyi* y una de *Paecilomyces fumoso-roseus*, todos a 10^8 esporas/ml (equivalente a 4×10^5 esporas/cm² de superficie de hoja). La mortalidad registrada después de seis días fue significativamente alta para todas las cepas de *Beauveria*, *M. anisopliae* y *P. fumoso-roseus*.

Se relizaron bioensayos con entomopatógenos Hyphomycetes sobre larvas de tercer estadio de *P. xylostella* bajo condiciones controladas. La suspensión fungosa se colocó sobre discos pequeños de hojas de repollo. Las larvas fueron puestas sobre estos discos durante 48 horas. La CL₅₀ mostró una alta susceptibilidad de insectos a diferentes propágulos de *B. bassiana* tales como conidiosporas, blastosporas no formuladas y blastosporas liofilizadas (Robert y Marchal 1980).

La infectividad de blastosporas liofilizadas de *B. bassiana* para *Plutella* no fue afectada después de un mes de almacenamiento a 5°C y solo disminuyó ligeramente después de cinco meses (Fargues et al 1979).

En el follaje, conidias expuestas directamente a la luz solar reducen de 50-100% su viabilidad original en uno a pocos días. Temperatura, humedad, substrato y químicos también afectan su persistencia. En contraste, conidias en el suelo sobreviven, a veces hasta dos años. La estabilidad conidial puede ser afectada por agroquímicos inhibidores presentes ó adicionados en el suelo del agroecosistema.

Se realizó un estudio para determinar la germinación conidial en respuesta a varios adyuvantes comunmente usados en aplicaciones de plaguicidas mezclados en tanques ó como agentes mojables en suspensiones conidiales preparadas para diseminación artificial del hongo. Se encontró que uno de los productos probados (Triton CS-7) inhibió significativamente la germinación de las conidias de *B. bassiana*. El Nu-film 17, que también fue probado, no mostró reducciones significativas en la germinación de las conidias (Storey y Gardner 1986).

Gardner et al (1977) emplearon técnicas de bioensayos para determinar la persistencia de *B. bassiana* sobre follaje de soya usando como protectante o adherente Triton X (0,01%). La actividad original del patógeno se perdió entre los 5-10 días después de la aplicación.

Ellos tomaron hojas de soya y las ofrecieron como alimento a larvas de *Spodoptera frugiperda*. El porcentaje de mortalidad resultó ser de 83,2% para larvas expuestas a las

hojas en el día de aplicación, 79,2% el primer día después de aplicación, 44,0% cinco días después de aplicación hasta cero mortalidad 10 días después de la aplicación.

Los posibles factores que actuaron en la disminución de la actividad del patógeno fueron precipitación, humedad relativa y radiación solar directa.

Nu-film 17 es un agente dispersante especialmente diseñado para proteger la vida útil de los productos aplicados.

Este protectante reduce la tensión superficial de los líquidos aplicados, permitiendo un mayor contacto con la superficie de las hojas. Es insoluble en agua, por tanto las partículas del producto no son removidas de la superficie de las hojas. Ayuda la penetración y distribución uniforme sobre hojas pubescentes.

Es derivado de resina de pino siendo por tanto, un adhesivo natural. Se extiende como una película elástica la cual encapsula efectivamente las partículas del producto, liberándolas gradualmente. Actúa como un reflector y previene la degradación de los productos como resultado de la reacción fotoquímica causada por la radiación solar ultravioleta. Previene la rápida degradación de los productos por hidrólisis debido al encapsulamiento. No es tóxico para productos biológicos extendiendo su vida útil (Miller s.f.).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1.- Localización del ensayo.

La evaluación del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, se realizó en la Universidad Nacional Agraria (UNA) en el área de entomología del proyecto MIP-repollo ubicada en el km 12 carretera Norte, en Managua, Nicaragua.

La producción de conidias de *B. bassiana* utilizadas en el ensayo se realizó en el laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE) ubicado en el km 12 1/2 carretera Sur, en Managua, Nicaragua.

3.2. Producto utilizado

Se seleccionó la cepa 117 aislada de picudo de algodón en 1988. La selección se hizo inoculando cinco cepas existentes en el laboratorio sobre larvas de *P. xylostella*. Todas resultaron patogénicas matando las larvas. Se inocularon todas las cepas en medio artificial MEA (Malt Extract Agar) y luego de 15 días se trasladó una asada de conidias de cada una a medio o soporte líquido a base de polvo de arroz, levadura de cerveza y cloruro de calcio. Después de quince días se seleccionó la cepa 117 que demostró buenas características de esporulación y patogenicidad sobre las larvas de *P. xylostella*.

Se inoculó el medio líquido en arroz precocido en la cámara de flujo laminar para evitar contaminaciones. Se guardó en cuarto de crecimiento.

Tres semanas después se cosecharon las conidias por medio de lavado del arroz con agua destilada estéril más Tween 80, obteniéndose una concentración de $6,9 \times 10^6$ con/ml como producto final.

Se probó la viabilidad de las conidias colocando una gota de medio MEA más una gota de suspensión conidial en un portaobjetos y se colocó en un plato petri con papel filtro humedecido. El desarrollo de las conidias fue observado al microscopio cada cuatro horas. La viabilidad del producto obtenido fue de 94%.

3.3. Cría de *P. xylostella*

La cría de *P. xylostella* se inició en la UNA a partir de recolecciones de larvas, pupas y adultos en la Región VI (Jinotega, Matagalpa) de Nicaragua.

Las poblaciones de adultos se depositaron en jaulas de madera con cedazo de nylon.

En las jaulas se introdujeron periódicamente plantas de la variedad Golden acre de repollo en maceteras para proveer

una superficie de oviposición. Se alimentaron con solución de miel y agua más vitamina E impregnada en algodón.

Las plantas con posturas se transfirieron a otras jaulas para el desarrollo de las larvas, cambiando las plantas conforme los requerimientos de alimentación. Se recolectaron las pupas y se transfirieron a las jaulas de oviposición.

Las condiciones ambientales en la cría fueron: temperatura de 22°C, humedad relativa de aproximadamente 85% y un fotoperíodo de 12 horas luz.

3.4. Experimentación.

3.4.1.- Determinación de CL₅₀ y TL₅₀

Se realizaron bioensayos con el producto a base de conidias de *B. bassiana* obtenido en el laboratorio, probando 7 tratamientos:

tratamiento 1: suspensión 10⁹ con/ml.

tratamiento 2: suspensión 10⁷ con/ml.

tratamiento 3: suspensión 10⁶ con/ml.

tratamiento 4: suspensión 10⁵ con/ml.

tratamiento 5: suspensión 10⁴ con/ml.

tratamiento 6: suspensión 10³ con/ml.

tratamiento 7: testigo (agua).

Cada tratamiento fue aplicado a 30 larvas de tercer estadio.

Se utilizaron dos métodos de aplicación:

Foliar -Se sumergieron discos de hojas de repollo en las diferentes suspensiones y luego se ofrecieron a larvas en platos petri.

Larval -Se sumergieron larvas en las diferentes suspensiones y luego se depositaron sobre discos de hojas en platos petri.

La mortalidad se observó cada 24 horas a partir del primer día después de las aplicaciones, la CL_{50} se midió a los siete días y el tiempo letal se midió diariamente también por siete días para obtener el TL_{50} .

3.4.2. Utilización de Nu-film 17.

Una vez determinada la CL_{50} se procedió a introducir Nu-film 17 a la suspensión. Partiendo de la dosis recomendada de este producto, 4,66 ml/L, se tomó un rango de 25% de esta dosis y 1,25% más de dicha dosis siendo respectivamente 1,17 5,83 ml/L.

Se tomaron tubos de bioensayo donde se depositaron 10 ml de suspensión CL_{50} y se adicionaron las correspondientes dosis de Nu-film 17 para los siguientes tratamientos:

- 1.- suspensión conidial *B. bassiana*.
- 2.- *B. bassiana* + 0,01 cc Nu-film/10 ml de suspensión conidial.

3.- *B. bassiana* + 0,04 cc Nu-film/10 ml de suspensión conidial.

4.- *B. bassiana* + 0,05 cc Nu-film/10 ml de suspensión conidial.

5.- testigo.

Se realizaron bioensayos con los dos métodos de aplicación con 30 larvas de tercer estadio por cada tratamiento.

La mortalidad también se evaluó cada 24 horas desde el primer día después de aplicación.

Antes de realizar los bioensayos se evaluó la viabilidad de las diferentes suspensiones.

3.4.3. Efectividad de Nu-film 17 en la fotoprotección de conidias de *B. bassiana*.

Se estableció en el campo, 4 repeticiones de los tratamientos:

- 1.- Suspensión *B. bassiana* 72 hrs de exposición.
- 2.- Suspensión *B. bassiana* + Nu-film 72 hrs de exposición.
- 3.- Suspensión *B. bassiana* 48 hrs de exposición.
- 4.- Suspensión *B. bassiana* + Nu-film 48 hrs de exposición.
- 5.- Suspensión *B. bassiana* 24 hrs de exposición.
- 6.- Suspensión *B. bassiana* + Nu-film 24 hrs de exposición.
- 7.- Suspensión *B. bassiana* 0 hrs de exposición.
- 8.- Suspensión *B. bassiana* + Nu-film 0 hrs de exposición.

9.- Testigo.

Las plantas se asperjaron, utilizando una bomba manual de un litro, a las 7 a.m. lo cual permitió que recibieran la radiación solar durante todo el día.

Las suspensiones utilizadas cada día se prepararon al mismo momento como un solo producto base.

Se inició aplicando el tratamiento a 72 horas, 48 horas, 24 horas, y 0 horas antes de iniciar el bioensayo, con y sin Nu-film. Una vez aplicado el tratamiento 0 horas se procedió a recolectar las hojas de todos los tratamientos, tomando hojas al azar desde arriba hacia abajo en la planta, tomando 42 en total por cada tratamiento.

Se realizaron bioensayos de hojas con 120 larvas de tercer estadio por cada tratamiento, utilizando dos de las 42 hojas recolectadas por tratamiento. La mortalidad se evaluó cada 24 horas.

Se llevó las 40 hojas restantes por cada tratamiento al laboratorio donde fueron lavadas sumergiéndose en agua destilada estéril + Tween 80 para retirar las conidias de las hojas, dejándose por dos horas y agitando periódicamente.

Se extrajo una muestra de 10 ml por cada tratamiento, se hizo conteo en el hematocimetro para verificar la presencia de conidias y su concentración, se inoculó en medio

artificial MEA + antibiótico y se mantuvo en un incubador para verificar el porcentaje de colonias viables por cada tratamiento.

El medio usado se preparó con:

Extracto de malta	30 gr/L.
Peptona	3 gr/L.
Agar	18 gr/L.

ó puede usarse ya preparado tomando 45 gr/L.

El antibiótico usado fue Cloranfenicol + Streptomina. Se preparó una solución con ambos productos mezclando 100 mg de cada uno por 100 ml de agua estéril. Se aplicó a cada plato 0,5 ml de la solución que contenía los antibióticos.

La solución de antibiótico se esterilizó pasandola por medio de un filtro microporo a través de una jeringa.

3.5. Procesamiento de los datos.

La información obtenida se procesó en el Proyecto Manejo Integrado de Plagas en Nicaragua y en el centro de cómputos del Centro Nacional de Protección Vegetal.

Para la primera fase del trabajo se utilizó el programa francés Dose Letale 50-Versión 4,0 mediante el cual se logró obtener resultados de CL_{50} y TL_{50} para cada método de aplicación, sus ecuaciones de regresión, límites de confianza así como las líneas de respuesta.

Para la segunda fase se realizaron regresiones para conocer la pendiente de la línea de respuesta y ver el efecto de cada dosis de Nu-film sobre la misma.

Para la tercera fase se realizaron análisis de varianza para verificar si hubo o no efecto significativo de las diferentes fuentes de variación.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Determinación de CI_{50} y TL_{50} .

La mortalidad de *P. xylostella* disminuye a medida que se va diluyendo la concentración de la suspensión conidial de *B. bassiana* (Figura 1). Hay un período durante los primeros 5 días (en el caso de aplicación foliar) y los 6 días (en el caso de aplicación tópica) después de aplicación donde la curva correspondiente a 10^4 con/ml se encuentra por debajo de la curva correspondiente a 10^3 con/ml mostrando un porcentaje menor de mortalidad y es hasta los últimos días cuando la curva sube.

Esto puede ser debido a que las conidias estuvieran precipitadas al momento de aplicarlas a las larvas y al follaje o que en realidad hubo menos conidias en esta concentración que en la concentración menor (10^3) al manipular las suspensiones. No podemos decir que se presentó resistencia por parte de las larvas ya que se habría manifestado en otras concentraciones tratándose de la misma población de conidias.

Estas curvas (con excepción de la curva correspondiente a 10^4 con/ml) representan las fases pre-epizootica y epizootica del progreso de la enfermedad descritos por Tanada (1963). Muestran bajos porcentajes de mortalidad al inicio

después de inocular a través de aplicaciones foliares y tópicas. El porcentaje de mortalidad se eleva con tiempo

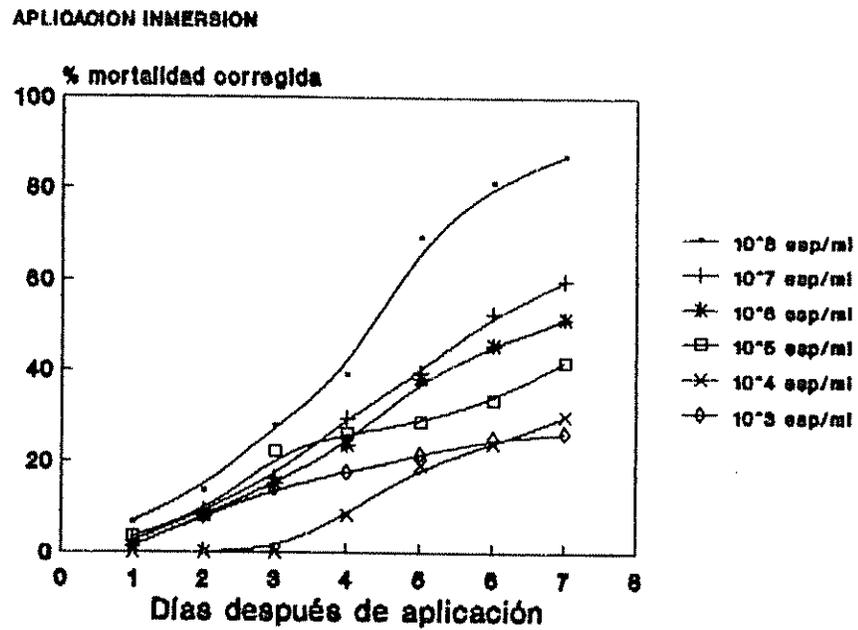
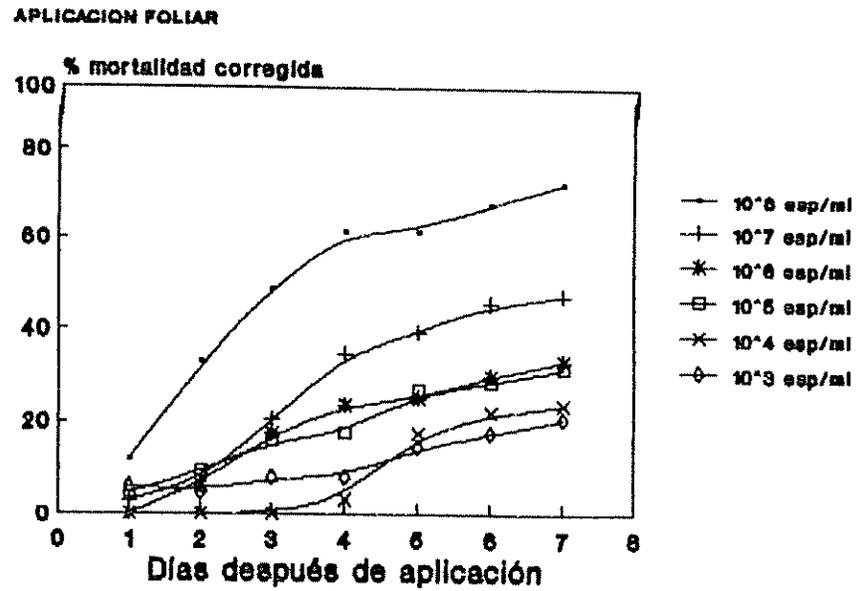


Figura 1. Curvas de mortalidad de larvas de *P. xylostella* debido a diferentes concentraciones de conidias de *Beauveria bassiana*.

cuando las conidias germinan en mayor proporción y además aumenta el número de larvas que entra en contacto con el inóculo.

La mortalidad causada por cada concentración del hongo sobre larvas de *P. xylostella* linealizada mediante valores de Probit de mortalidad corregida y logaritmo de las dosis (esp/ml), fue mayor cuando la dosis era más concentrada (figura 2). Esto está muy relacionado con el potencial de inóculo y es que en concentraciones menores existe un número mínimo de conidias del patógeno necesarias para causar mayor mortalidad en poco tiempo después de la aplicación. Esto coincide con trabajos realizados por Alves donde utilizó concentraciones de 9×10^3 , 8×10^4 y $5,5 \times 10^5$ con/ml de *B. bassiana* contra picudo del algodón obteniendo el mayor porcentaje de mortalidad (96,0%) con la concentración $5,5 \times 10^5$ con/ml. El cuadro 1 nos muestra los valores de CL_{50} a los siete días para los métodos de aplicación foliar y tópica.

Los métodos de aplicación resultaron diferentes significativamente mediante comparación de límites de confianza al no haber traslape.

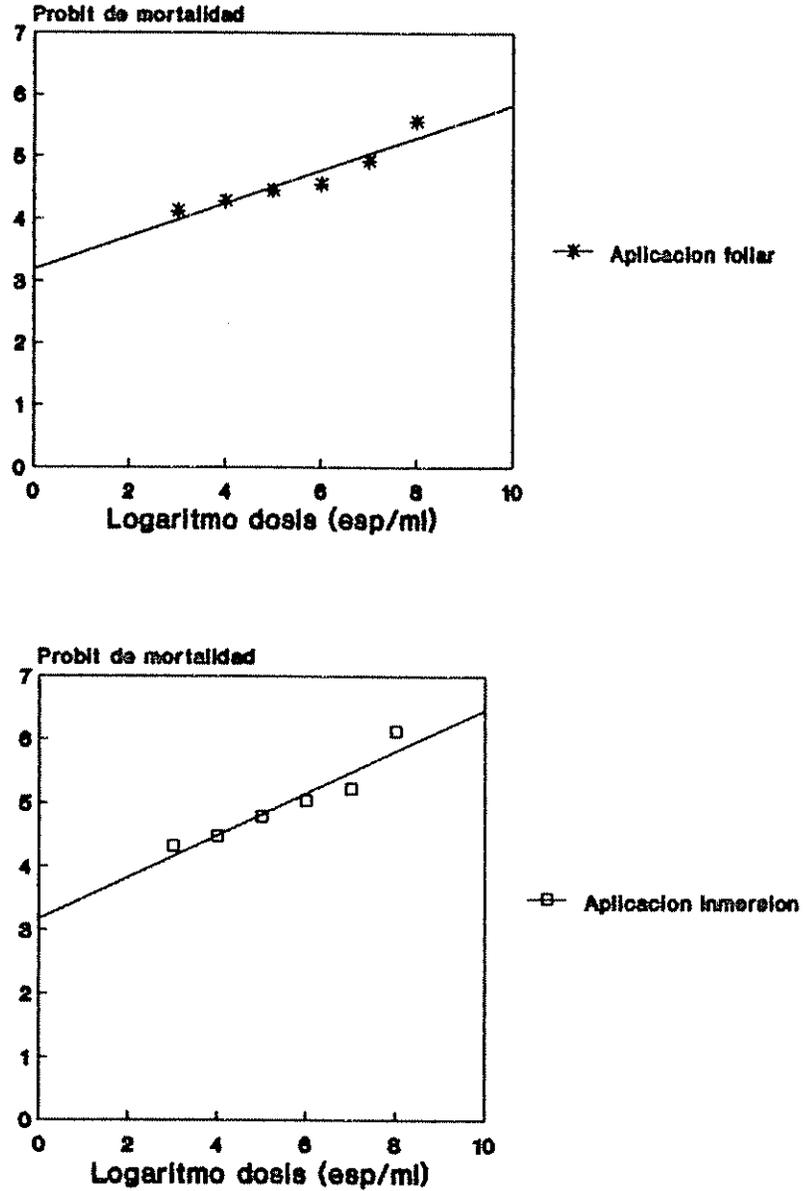


Figura 2. Línea de respuesta probit de mortalidad de larvas de *P. xylostella* vs log de diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*.

Cuadro 1. Valores de CL_{50} (a los siete días) y límites de confianza para cada método de aplicación: foliar y tópica en larvas de *P. xylostella*.

Método	CL_{50}	Ecuación	Límites de Confianza
Foliar	$6,43 \times 10^4$ con/ml	$Y=3,10+0,27x$	1618923,10-25543198,63
Larval	$4,16 \times 10^5$ con/ml	$Y=3,18+0,32x$	175236,02-989683,87

El TL_{50} se alcanzó en menor tiempo para la dosis 10^8 con/ml en ambos métodos de aplicación, siguiéndole en orden las dosis 10^7 y 10^9 con/ml (Figura 3). Esto también coincide con los trabajos realizados por Alves con picudo del algodón donde obtuvo mayores valores de TL_{50} para las dosis menos concentradas. El cuadro 2 nos muestra los valores de TL_{50} para cada concentración y sus límites fiduciales.

La mortalidad de larvas se observó 24 horas después de la aplicación del hongo. Los insectos mostraban rigidez y una coloración rosada y 24 horas más tarde ya había crecimiento de micelio. Algunas larvas presentaron movimientos lentos y no se alimentaron, muriendo a las 48 horas de inoculadas, presentando primero la misma coloración y crecimiento de micelio. Otras larvas fueron muy activas, alimentándose normalmente hasta después de 48 horas pasada la inoculación.

Comparando estos resultados con lo expuesto por Habib y Andrade (1977) al inocular larvas de *Brassolis sophorae*, podemos decir que larvas de *P. xylostella* presentan síntomas parecidos en cuanto a la coloración y rigidez del cuerpo antes de la emergencia del micelio del hongo. Esto puede ser debido a que *P. xylostella* es más susceptible a las conidias del hongo pero que la población sujeta a prueba estaba compuesta por individuos con susceptibilidad diferente.

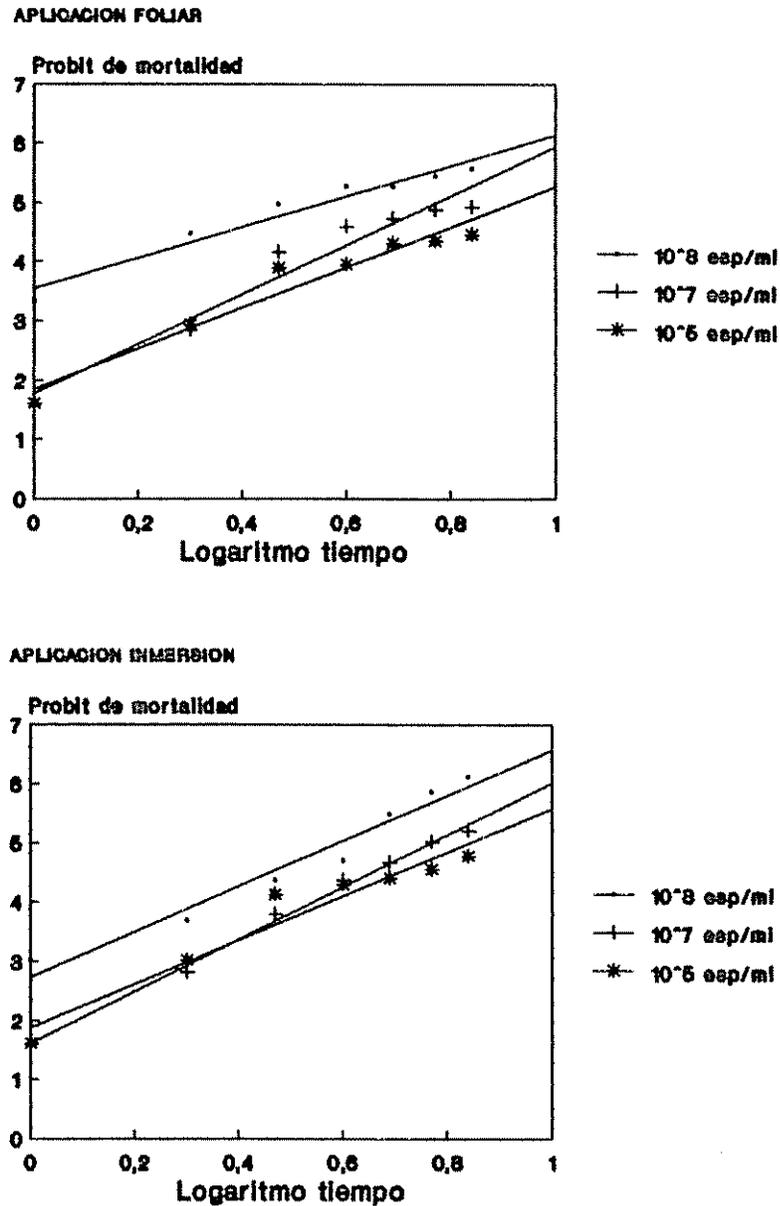


Figura 3. Líneas de respuesta probit de mortalidad de larvas de *P. xylostella* vs log de tiempo para TL50 de diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*.

CUADRO 2. Valores de TL_{50} y límites de confianza para cada método de aplicación: foliar y tópica sobre larvas de *P. xylostella*.

Método	TL_{50} (Días)	Ecuación	Límites de Confianza
Foliar 10^6	3,56	$Y=3,73+2,28x$	3,11601-4,07242
Foliar 10^7	6,55	$Y=2,68+2,83x$	5,56291-7,71359
Foliar 10^8	10,94	$Y=2,53+2,36x$	6,93632-17,26530
Larval 10^6	4,11	$Y=2,02+4,84x$	3,85937-4,39439
Larval 10^7	6,03	$Y=1,90+3,96x$	5,49659-6,61795
Larval 10^8	8,54	$Y=2,73+2,43x$	6,68816-10,92337

4.2. Efecto de de Nu-film 17 sobre viabilidad de conidias de *B. bassiana* y mortalidad de larvas de *P. xylostella*.

Diferentes dosis de Nu-film en la suspensión conidial del hongo redujo significativamente ($P=0,05$) la mortalidad de *P. xylostella* y la viabilidad de conidias para ambos métodos de aplicación (foliar y larval) (Anexos 1-4).

Estos resultados no coincidieron con los trabajos realizados por Storey y Gardner (1986) donde no se muestra una reducción significativa de la germinación de conidias de *B. bassiana* aún usando concentraciones más altas de Nu-film.

Al parecer en nuestro ensayo Nu-film ejerce un efecto de retardamiento e inhibición en la germinación dado que a mayor concentración usada las conidias germinaron entre las 36-40 horas aproximadamente a excepción de la dosis menor 0,01 cc Nu-film donde en algunas ocasiones se tuvo germinación a las 24 horas.

Nu-film causó un retraso en la germinación de las conidias y bajó la viabilidad de conidias en suspensión. Esto redujo la mortalidad de larvas dado que esta disminuye a medida que aumentamos la dosis de Nu-film en ambos métodos de aplicación (Figuras 4 y 5, Cuadro 3).

A medida que aumentamos las dosis de Nu-film el tiempo de germinación in vitro es mayor para alcanzar al menos el 70% (Figura 6).

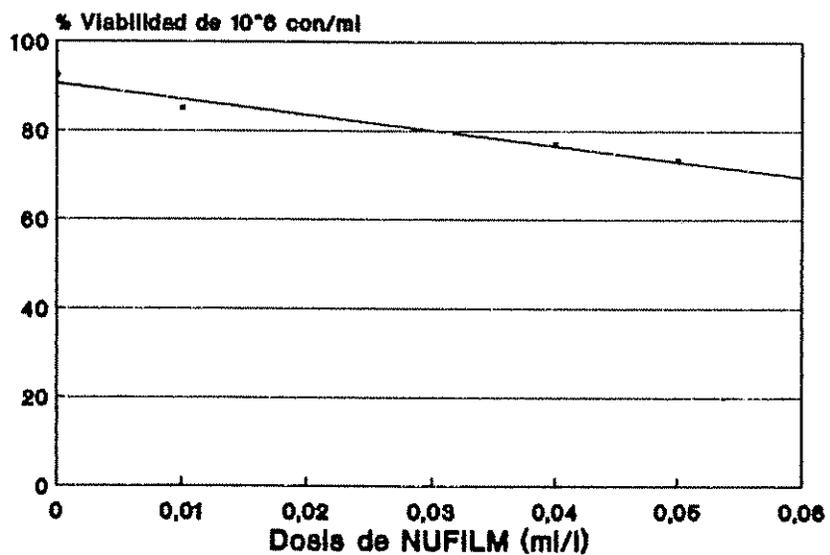
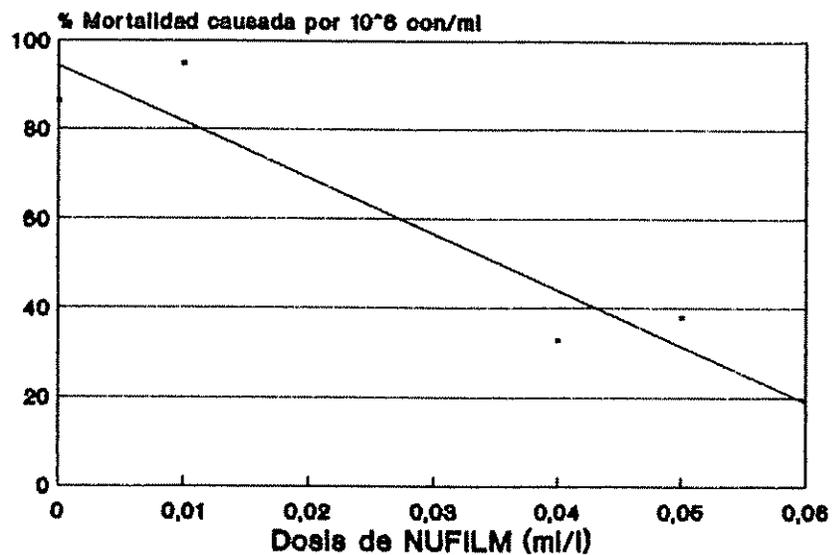


Figura 4. Efecto de Nu-film 17 sobre la mortalidad de *P. xylostella* y germinación *in vitro* de *B. bassiana*.

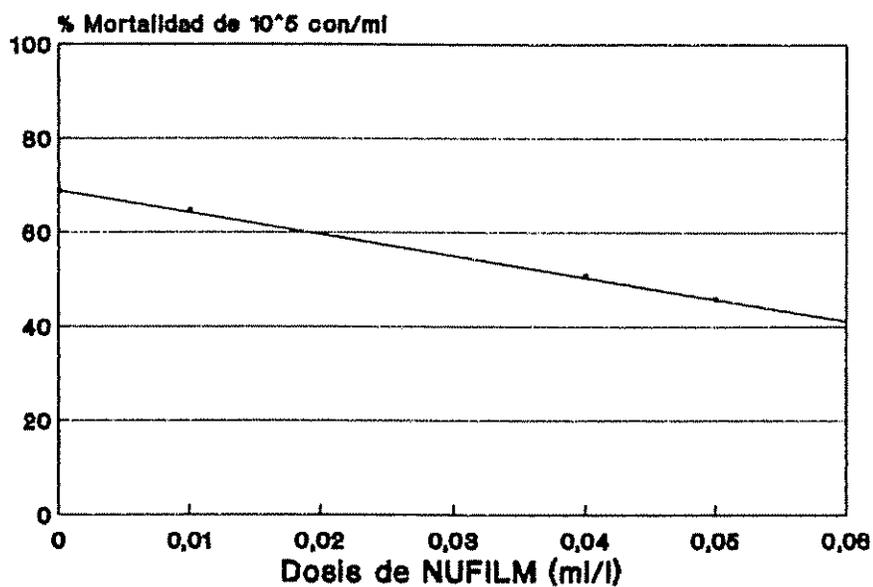
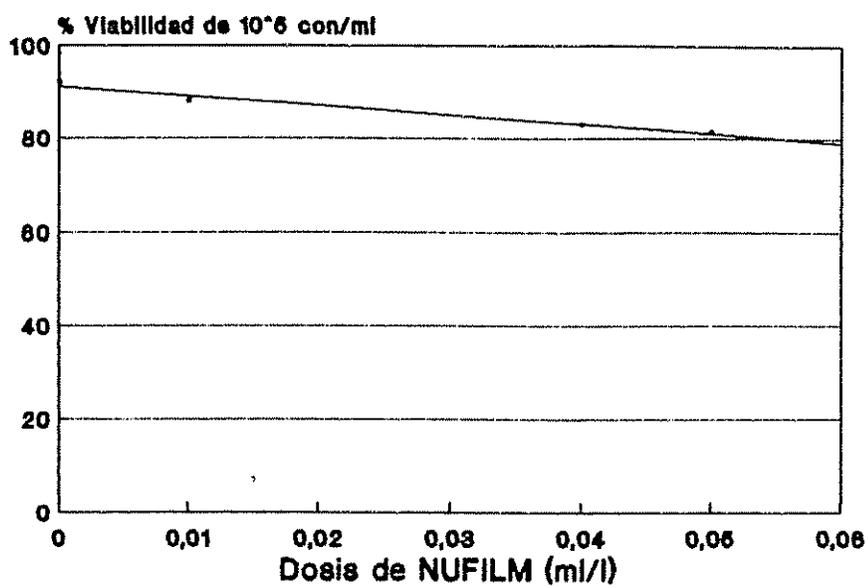


Figura 5. Efecto de Nu-film 17 sobre germinación *In vitro* de *B. bassiana* y mortalidad de *P. xylostella*.

CUADRO 3. Reducción de mortalidad de larvas de *P. xylostella* y viabilidad in vitro de conidias de *B. bassiana*.

Método de Aplic.	Dosis Nu-film	Mortalidad (%)	Viabilidad (%)
Foliar	0	-0,00	0
	0,01	-8,6	7,4
	0,04	53,44	15,45
	0,05	48,27	18,95
Larval	0	-0,00	0
	0,01	4,07	4,0
	0,04	18,14	9,0
	0,05	22,96	10,5

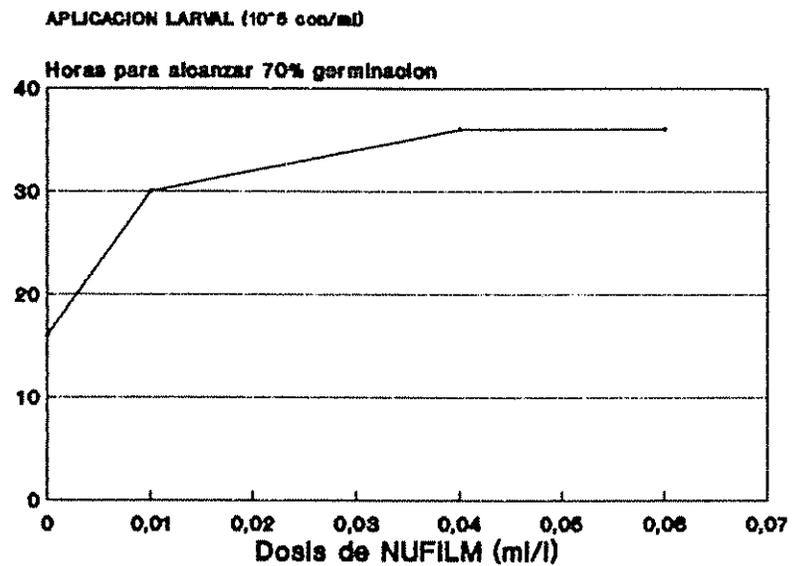
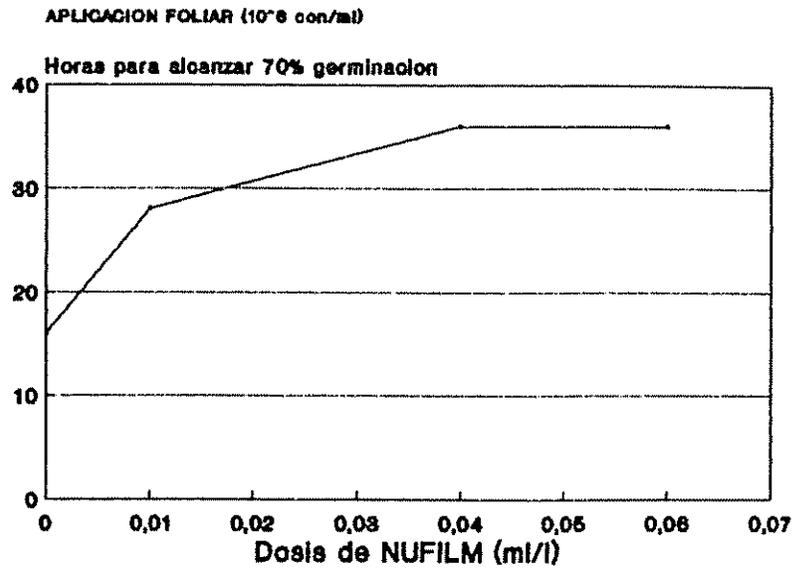


Figura 6. Germinación *In vitro* de conidias de *B. bassiana* a diferentes dosis de Nu-film 17.

Los valores de pendiente de la línea de regresión evidencian este efecto negativo de las diferentes dosis de Nu-film 17 sobre mortalidad y viabilidad en ambos métodos de aplicación (Cuadro 4).

CUADRO 4. Valores del intercepto y la pendiente de la línea de regresión usando diferentes dosis de Nu-film 17 sobre mortalidad y viabilidad para ambos métodos de aplicación sobre larvas de *P. xylostella*

Método	Dep Var	Ecuación Reg.	Límites de confianza
Foliar	Mortcor	$Y=94,37-1257,60x$	1958,59-556,60
	Viabil	$Y=90,74-349,70x$	535,74-163,65
Larval	Mortcor	$Y=68,95-461,87x$	778,49-145,24
	Viabil	$Y=91,08-198,529x$	284,42-112,62

4.3. Efecto de fotoprotección de Nu-film 17 sobre conidias del hongo *B. bassiana*.

La mortalidad de larvas de *P. xylostella* por *B. bassiana* varió de acuerdo a exposición solar sobre tiempo (Figura 7).

La mortalidad alcanzó el máximo nivel 7 días después de la iniciación del bioensayo con ó sin Nu-film con 0 horas de exposición solar. Entre los 2 y 5 días durante el bioensayo con 0 horas de exposición se presentó el mayor porcentaje de mortalidad. Esto se debe a que aunque hay un efecto de retardo sobre la germinación de conidias del hongo y un efecto de inhibición debido a Nu-film al menos el 70% de las conidias ya hubo germinado alcanzando altos porcentajes de mortalidad de las larvas.

En el período 24 horas de exposición también hubo un alto porcentaje de mortalidad 7 días después de iniciado el bioensayo, lo cual parece indicar que Nu-film ejerce protección marcada hasta 24 horas después de la aplicación.

A las 48 y 72 horas después de la aplicación se nota una fuerte reducción en la mortalidad lo cual es debido a que Nu-film no está protegiendo adecuadamente a las conidias las cuales pueden estar siendo afectadas por la radiación solar que en estos días fue muy elevada (Figura 7 y Anexo 12).

Hay diferencias en mortalidad debido a horas de exposición ($P=0.05$), no así debido a Nu-film ni en la interacción de

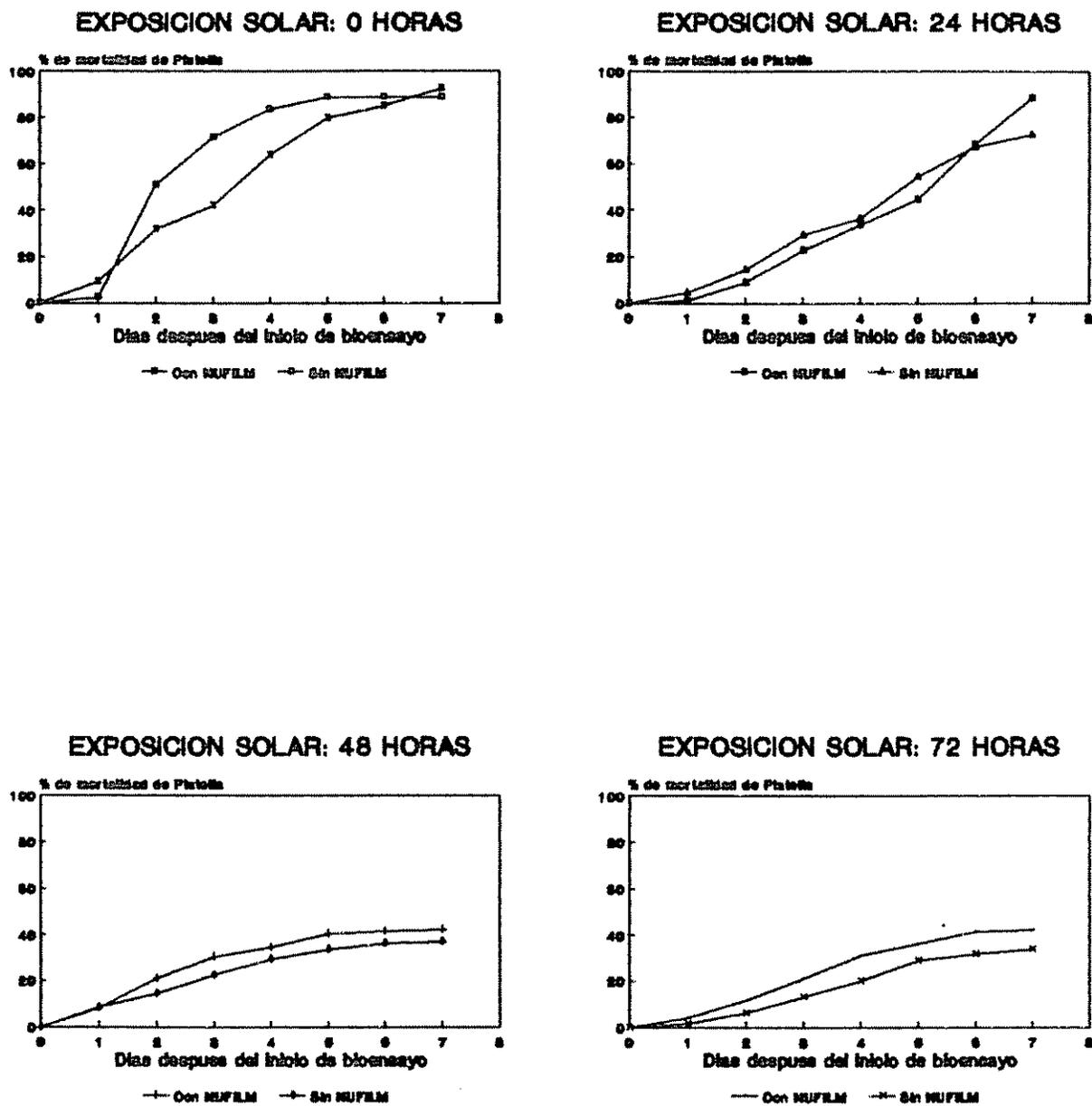


Figura 7. Mortalidad de *P. xylostella* a diferentes horas de exposición solar de *Beauveria bassiana*.

ambos factores, lo cual puede indicar que Nu-film no está protegiendo las conidias contra la radiación solar a medida que aumentan los periodos de exposición (Anexo 5). Esto se corrobora al realizar una prueba de homogeneidad de varianzas por cada periodo de exposición para mortalidad en la cual no se encontró diferencia ($P=0,05$).

Esta disminución en la mortalidad conlleva a un mayor TL_{50} para larvas en nuestra población a medida que aumentan las horas de exposición para ambos tratamientos con y sin Nu-film (Figura 8).

No hay diferencia ($P=0,05$) en ningún factor: Nu-film, horas de exposición, ni en la interacción de ambos para TL_{50} (Anexo 7).

La viabilidad también decrece a medida que aumentan las horas de exposición (Figura 8 y anexo 6).

Hay efecto ($P=0,05$) al usar o no Nu-film en todos los periodos de exposición a excepción del periodo 0 horas. Se puede detectar que Nu-film no está protegiendo adecuadamente las conidias de *B. bassiana*, sin embargo, al analizar solamente el factor Nu-film podemos decir que este si protege a las conidias por lo que se puede notar una mayor viabilidad de conidias en el periodo 24 horas de exposición cuando usamos Nu-film aunque esta protección no es muy marcada, concluyendo que la viabilidad está siendo afectada por otros factores y no directamente por radiación solar ya

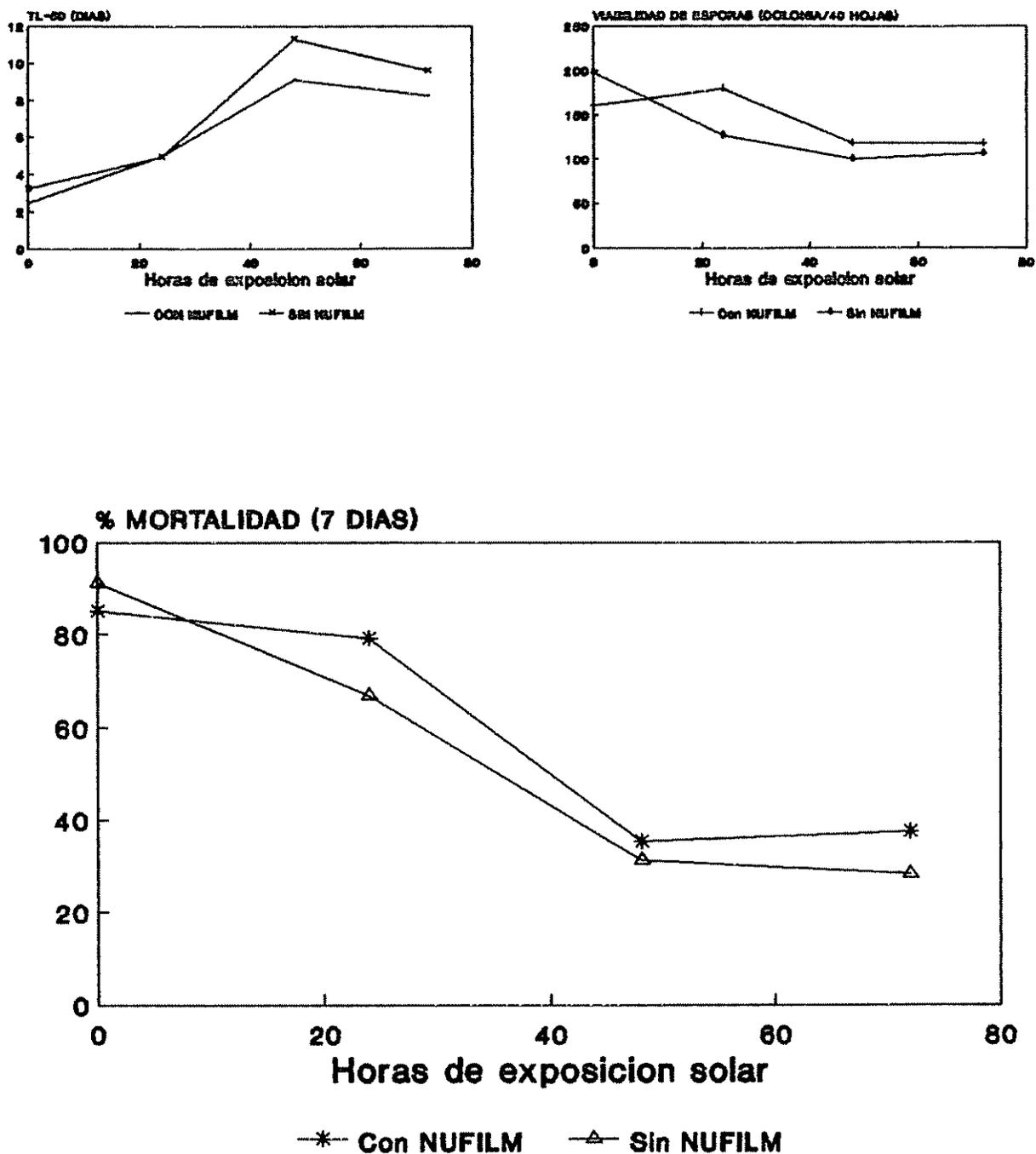


Figura 8. Efectividad de aspersiones de *B. bassiana* sobre *P. xylostella* según su TL50 y viabilidad de las conidias.

que ambas líneas (con y sin Nu-film) se mantienen casi paralelas (Anexos 8-11).

Estos factores pueden ser el mismo contacto con la planta pues se ha visto que este es una característica que influye sobre la viabilidad de las conidias. Incluso en trabajos con este mismo hongo se observó pérdida del 50% de su actividad original sobre follaje de soya de 5-10 días después de su aplicación y al usarlo formulado como Boverin también sobre soya se obtuvo vida media de 24 horas (Gardner et al 1977, Ignoffo et al 1979).

También en trabajos con *B. bassiana* sobre follaje de alfalfa se obtuvo sobrevivencia de este de apenas 25,1% aún usando protectante contra luz ultravioleta. No podemos concluir que la mayoría de las conidias fueron inactivadas ya que para causar este estado de inactivación se necesitan temperaturas tan altas como 50°C para este hongo según Roberts y Campbell (1977), pero en nuestro ensayo fueron altas (Anexo 13).

Según Bell (1974) las conidias poseen una membrana externa por lo cual pueden perder o ganar agua de acuerdo con la humedad del aire. En nuestro caso, durante los periodos de aplicación la humedad existente en el microambiente y en el ambiente en general no fueron tan altas para saturar el ambiente lo cual pudo haber ocasionado una reducción en la

viabilidad de las conidias del hongo por pérdida de agua (Anexo 13).

También puede ser que las dosis de Nu-film que se utilizaron no contribuyeron a la protección adecuada de las conidias no logrando establecer una barrera lo suficientemente fuerte para prevenir la desecación por luz ultravioleta que en nuestras regiones es muy intensa. Pero también se debe tener en cuenta que Nu-film afectó la germinación y viabilidad de las conidias en laboratorio.

Comparando estos resultados con estudios realizados por Gardner, Sutton y Noblet (1977) donde solo se evaluó mortalidad de *Spodoptera frugiperda* causada por *B. bassiana* + Triton X (0,01%), la mortalidad decrece hasta 5 días después de la aplicación y se presentó mayor porcentaje de mortalidad para el día de aplicación y luego baja consecutivamente muy similar a los resultados obtenidos en nuestro trabajo, es decir, que concluimos una vez más que además de la radiación solar las conidias se ven afectadas por otros factores.

5. CONCLUSIONES

1. Se rechaza la hipótesis de que Nu-film protege eficientemente las conidias de *B. bassiana*. Estas pudieron verse afectadas por diversos factores y no directamente por radiación solar.

2. Se rechaza la hipótesis de que Nu-film no afecta las conidias del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, ya que retardó é inhibió la germinación causando efecto negativo sobre la mortalidad de larvas de tercer estadio de *P. xylostella*.

3. Los métodos de inoculación de *B. bassiana* sobre larvas de *P. xylostella* afectan la mortalidad larval. Son diferentes significativamente.

4. Exposición al sol de conidias de *B. bassiana* afecto significativamente la mortalidad de larvas y la viabilidad de conidias con ó sin Nu-film.

5. A medida que el porcentaje de viabilidad disminuye aumenta el TL₅₀ con ó sin Nu-film.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios sobre dosis de Nu-film 17 en combinación con *B. bassiana* para conocer cuales son las dosis adecuadas que no retarden la germinación de conidias.

- Evaluar otros factores relacionados con el tiempo después de la aplicación de las conidias que afectan la viabilidad y efectividad incluyendo tratamientos luz vs oscuridad.

7. LITERATURA CITADA

- ALVES, S.B., y S. A. MORAES. 1979. Influencia da luz sobre o crescimento e esporulaçao de *Beauveria bassiana* po(Bals.) Vuill. Ecossistema. Espírito Santo do Pinhal, 4(1): 43-50.
- ALVES, S. B. 1986. Controle microbiano de insetos. Editora Manole Primera edición. Sao Paulo (Brasil). 407 ps.
- BLANCO, H. 1988. Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) a los piretroides sintéticos en tres zonas de Costa Rica. Tesis de Maestría. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 77 ps.
- BARAHONA, L. D. 1989. Efecto de insecticidas botánicos y biológicos sobre la entomofauna presente en el cultivo de repollo (*Brassica oleracea*) var. Superette. Trabajo de Diploma. ISCA. Managua (Nic.).
- BELL, J. V. 1974. Mycoses. In: CANTWELL, G. E. Insects diseases. New York, Marcel, Dekker. pp. 185-230.
- CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA. 1990. Guía para el Manejo Integrado de Plagas del cultivo de repollo. CATIE. Proyecto Regional MIP. Turrialba, Costa Rica: CATIE/MIP. 80 p.
- CLERK, G. C., y M. F. MADELIN. 1965. The longevity of conidia of three insect-parasitizing hypomycetes. Transactions British Mycological Society. London, 48: 193-209.
- DeBACH, P. 1968. Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas Hierbas. Compañía editorial Continental, S. A. Primera edición en Español. México. 949 ps.

- FARGUES, J., P. ROBERT, and O. REISINGER. 1979. Formulation des productions de masse de l'hyphomycete entomopathogene *Beauveria* en vue des applications phytosanitaires. (In: French with English summary). Ann. Zool. Ecol. Anim. 11:247-257.
- FERRON, P. 1985. Fungal Control. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Ed: G. A. Kerkut u l I Gilbert Vd. 12: Insect control. Pergamon Press. Oxford n. a.
- GALAINI, S. 1984. The efficacy of foliar applications of *Beauveria bassiana* conidia against *Leptinotarsa decemlineata*. Cornell University, New York, 94 p. (Tese de Mestrado).
- GARDNER, W. A., R. M. SUTTON and R. NOBLET. 1977. Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, and *Nosema necatrix* on soybean foilage. Environ. Entomol. 6:616-618.
- GUHARAY, F. 1986. Problemática de producción de hortalizas en la VI región y sugerencias para su superación. Informe técnico. Managua, Nicaragua. Dirección General de Enseñanza e Investigaciones Agropecuarias. 25 ps.
- HABIB, M. E. M. e C. F. ANDRADE. 1977. Epizootia em larvas de *Brassolis sophorae* causada por *Beauveria bassiana*, com estudo de identificação e sintomatologia. In: IV Congresso Brasileiro de Entomologia, Goiânia. Resumo. pp. 115.
- HARCOURT, D. G. 1957. Biology of the diamondback moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lep.: Plutellidae), in Eastern Ontario. II. Life-history, behaviour, and host relationships. Can. Entomol. 89: 554-564.
- _____ 1963. Biology of caterpillars in Eastern Ontario. Proceedings of the Entomological Society of Ontario. 93:61-75.

- _____ 1986. Population dynamics of the diamondback moth in southern Ontario. In: International Workshop (1:1985 Tainan, Taiwan). Proceedings Diamondback Moth Management. Shanhua, Taiwan. Asian Vegetable Research and Development Center. p. 3-15.
- HARDY, J. E. s.f. *Plutella maculipennis* Curt., its natural and biological control in England. s. n. t.
- HARPER, J. D. 1987. *Paecilomyces tenuipes*-in vitro culture and host infectivity studies. In: Samson, R. A., J. M. Vlak y D. Peters eds. Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology. Foundation of the Fourth Int. Colloq. of Invert. Pathol., Wageningen, The Netherlands. 247 ps.
- IGNOFFO, C. M., C. GARCIA, D. A. ALYOSHINA, Y N. V. LAPPA. 1979. Laboratory of field studies with Boverin a microinsecticides preparation of *Beauveria bassiana* produced in the Soviet Union. Journal of Economic Entomology, College Park, 72: 562-565.
- KING, A.B.S., J. L. SAUNDERS. 1984. Las plagas invertebradas en América Central. London, Overseas Development Administration. 182 ps.
- LINGG, A. Y. y M. D. DONALDSON. 1981. Biotic and Abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. Journal of Invertebrate Pathology. New York. 38: 191-200.
- MILLER CHEMICAL & FERTILIZER CORPORATION. s. f. P.O. Box 333. Hanover, PA., U.S.A.
- MOHAMAD, R. B., Y. B. IBRAHIM Y W. C. CHONG. 1979. Field efficacy of several selected insecticides against diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in the lowland of Malaysia. Pertanika 2:84-88.
- NEGREIROS, J., S. B. ALVES, M. J. M. FERREIRA, L. A. S. MENTEN. 1980. Influencia de luzes de diferentes cores na esporulação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Ecossistema, Pinhal, 5(1): 88-91.

- PROYECTO MIP-REPOLLO 1990. Manejo del cultivo de repollo con énfasis en manejo integrado de plagas. Universidad Nacional Agraria (UNA), Escuela de Sanidad Vegetal, Dpto de Entomología. Managua (Nic.) Pág. 3.
- PROYECTO MIP-REPOLLO 1990b. Memoria del taller de actualización de conocimiento sobre manejo del cultivo de repollo. 6-7 de Julio. UNA. Managua (Nic.).
- PROCAMPO 1982. Manual técnico del repollo. Ministerio de Desarrollo Agropecuario y Reforma Agraria. Nicaragua. Pág. 5-8.
- ROBERT, R., y M. MARCHAL. 1980. Utilisation des larves de *Plutella maculipennis* (Lep.:Hyponomeutidae) comme insecte-test de divers Hyphomycetes entomopathogenes (Fungi Imperfecti). (In French with English summary). Entomophaga 25:83-89.
- ROBERTS, D. W. y A. S. CAMPBELL. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am., College Park, 10(3): 19-76.
- ROBERTS, D. W. 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. In: BURGESS, H. D. (Ed.) (1981). Microbial Control of Pests and Plant Diseases. Academic Press. London.
- ROBERTS, D. W., y R. A. HUMBER. 1981. Entomopathogenic fungi. pp201-36. In: Cole, G. T. y B. Kendrick (EDS.), The Biology of Conidial Fungi, Vol. 2. Academic Press, N.Y.
- SALINAS, P. J. 1974. Estudios sobre la ecología de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Ciclo de vida, longevidad y fecundidad. In: Congreso Latinoamericano de Zoología (VI, 1974, México). México. 17 p.
- STOREY, G. K., W. A. GARDNER. 1986. Sensitivity of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* to selected plant growth regulators and spray additives. Applied and Environmental Microbiology. University of Georgia. Julio 1986, Vol. 52, No. 1. p 1-3.

- SUDARWOHADI, S. y A. SAID. 1977. Lembang Research. Institute for Horticulture, Lembang, Bandung, West Java. (personal communication). In: BRUNNER, E. and P. F. E. STEVENS. 1986. The control of Diamondback Moth with Thuricide. Jakarta, Indonesia.
- TABASHNIK, B. E., MAU, R. F. 1986. Suppression of diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*). Oviposition by overhead irrigation. *Journal of Economic Entomology*. 79: 189-191.
- TANADA, Y. 1963. Epizootiology of infections diseases. In: STEINHAUS, E. A. *Insect Pathology: an advanced treatise*. New York, Academic Press, pp. 423-475.
- UGALDE, H., M. W. CANESSA, R. L., SEGURA. 1983. Combate biológico y químico de *Plutella xylostella* L. en repollo. *Boletín Técnico. Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit M. (C.R.)*. 16(3): 7-12.
- VARELA, G. 1987. Efectividad de cuatro insecticidas en el control de larvas de *Plutella maculipennis* (Curtis) y *Leptophobia aripa* (Bolds) en el cultivo de repollo (*Brassica oleracea*) var. Superette. Trabajo de Diploma. ISCA. Nicaragua.
- WILDING, N. 1981. The pathogens of diamondback moth and their potential for its control- a review. In: *Diamondback moth management*. 1986. Proceedings of the First International Workshop. Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC).
- YASEEN, M. 1974. Biology, seasonal incidence and parasites of *Plutella xylostella* (L.) in Trinidad and the introduction of exotic parasites into the Lesser Antilles. In: *Symposium on the Protection of Horticultural Crops in the Caribbean*, St. Augustine, Trinidad & Tobago, 1974. *Crop Protection in the Caribbean. Proceedings*. Ed. By C. W. D. Brathwaite, R. H. Phelps and F. D. Bennet. St. Augustine, University of the West Indies. p. 237-244.
- YENDOL, W. G., y R. A. HAMLIN. 1973. Ecology and entomogenous viruses and fungi. In: *Annals New York Academy of Science*. Pennsylvania. 217, 18-30.

ZIMMERMANN, G. 1982. Effect of high temperatures and artificial sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology. New York, 40(1): 36-40.

ANEXOS

Anexo 1: Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de *P. xylostella* por conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 en el método de aplicación foliar.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Regresión	1	5377,352	32,588	0,001
Residual	6	165,011		
R ²	0,845			
R	0,919			

Anexo 2: Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 en el método de aplicación foliar.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Regresión	1	415,800	35,773	0,001
Residual	6	11,623		
R ²	0,856			
R	0,925			

Anexo 3: Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de *P. xylostella* por conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 en el método de aplicación tópica.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Regresión	1	725,313	21,546	0,004
Residual	6	33,664		
R ²	0,782			
R	0,884			

Anexo 4: Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 en el método de aplicación tópica.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Regresión	1	134,007	54,080	0,000
Residual	6	2,478		
R ²	0,900			
R	0,949			

Anexo 5: Análisis de varianza de la mortalidad de larvas de *P. xylostella* por conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	151,330	0,613	0,614
Nu-film	1	72,060	0,292	0,595
H exp	3	2819,613	11,418	0,000
H exp*Nu-film	3	128,027	0,518	0,674
Error	21	246,951		
R ²	0,794			
R	0,891			

Anexo 6: Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	237,375	6,209	0,003
Nu-film	1	0,000	0,000	1,000
H exp	3	7003,167	183,175	0,000
H exp*Nu-film	3	1019,458	26,665	0,000
Error	21	38,232		
R ²	0,984			
R	0,992			

Anexo 7: Análisis de varianza del tiempo letal medio (TL_{50}) de la mortalidad de larvas de *P. xylostella* por conidias de *B. bassiana* más Nu-film 17 a diferentes períodos de exposición solar.

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	2302,688	1,026	0,409
Nu-film	1	192,062	0,086	0,774
H exp	3	284,348	0,127	0,943
H exp*Nu-film	3	1897,787	0,846	0,490
Error	21	2244,536		
R ²	0,371			
R	0,609			

Anexo 8: Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de *B. bassiana* con y sin Nu-film 17 a diferentes periodos de exposición solar (0 horas).

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	225,833	42,344	0,006
Nu-film	1	0,000	0,000	1,000
Error	3	5,333		
R ²	0,977			
R	0,988			

Anexo 9: Análisis de varianza de la viabilidad de conidias de *B. bassiana* con y sin Nu-film a diferentes periodos de exposición solar (24 horas).

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	96,833	1,745	0,329
Nu-film	1	5512,500	99,324	0,002
Error	3	55,500		
R ²	0,972			
R	0,0,986			

Anexo 10: Análisis de varianza de viabilidad de conidias de *B. bassiana* con y sin Nu-film a diferentes periodos de exposición solar (48 horas).

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	47,667	0,880	0,541
Nu-film	1	684,500	12,637	0,038
Error	3	54,167		
R ²	0,836			
R	0,914			

Anexo 11: Análisis de varianza de viabilidad de conidias de *B. bassiana* con y sin Nu-film a diferentes periodos de exposición solar (72 horas).

F. V.	gl	CM	F	PR>F
Bloque	3	6,833	0,532	0,691
Nu-film	1	264,500	20,610	0,020
Error	3	12,833		
R ²	0,881			
R	0,939			

Anexo 12: Lecturas de intensidad luminica (en Lux)
registradas durante las aplicaciones de *B. bassiana*.

7 a. m.	9 a. m.	12 a. m.	3 p. m.	5 p. m.
23.672	53.800	53.800	53.800	2.152
23.672	53.800	53.800	53.800	3.228
23.672	53.800	53.800	53.800	2.152
21.520	53.800	53.800	32.280	2.152
21.520	53.800	53.800	53.800	2.152
24.748	53.800	53.800	53.800	3.228

Anexo 13: Lecturas de datos climatológicos predominantes
durante las aplicaciones de *B. bassiana* (período
del 14-19 de Agosto de 1991).

Fecha	Temperatura			Hum Rel	Precip.	Horas luz
	Min	Med	Max	Media (%)	(mm)	
14-8-91	24,2	28,6	33,1	75,0	0	10,4
15-8-91	23,8	29,0	34,3	78,0	0	6,4
16-8-91	23,5	28,4	33,3	76,0	0	6,7
17-8-91	22,9	28,6	34,3	80,0	0,6	8,2
18-8-91	24,0	29,1	34,3	75,0	0	9,7
19-8-91	22,0	27,9	33,9	74,0	0	10,9