



## ***Beauveria* sp. COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DEL GUSANO DEFOLIADOR *Dione juno andicola* (Bates) EN *Passiflora ligularis* (Juss.) A NIVEL DE LABORATORIO**

Paola Tirira<sup>1</sup>  
patiriraa@utn.edu.ec

Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en ciencias Agropecuarias y Ambientales

### **RESUMEN**

En el control de *Dione juno* (Bates) se utiliza un gran porcentaje de productos químicos, para reducir pérdidas productivas provocadas por el insecto. El objetivo de esta investigación fue evaluar la efectividad de *Beauveria* sp. como agente de control biológico de *D. juno* B. en *Passiflora ligularis* (Juss). Se evaluó el insecto *D. juno* con el fin de describir los estadios larvarios, el estudio indicó un 24% de eclosión en 7 días promedio, conformado por cinco estadios larvarios con una duración de 65 días para el ciclo de vida. Para el estudio se implementó un diseño de bloques completos al azar con parcelas divididas, y las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación, crecimiento radial y patogenicidad. La infección fue realizada mediante dos formas de aplicación contacto con 1 ml de  $10^6$  conidios/ml sobre el insecto e ingestión en discos de 3cm de hoja de granadilla infectadas con el hongo. Para la variable porcentaje de germinación *Beauveria bassiana* granja obtuvo el 80% de germinación, crecimiento radial atribuye un crecimiento ascendente del 79% durante 9 días para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. comercial, mientras que el 63% se atribuye a *Beauveria bassiana* granja. Finalmente los resultados obtenidos permitieron determinar el número de insectos muertos, como resultado de la infección, evidenciándose que el mejor efecto está representado por ingestión, el cual a los 8 días alcanza el 93.06% de mortalidad, en tanto por contacto presenta un porcentaje de mortalidad del 88.89%, los porcentajes de mortalidad, muestran que la dosis ( $1 \times 10^6$ ), elimina las larvas consideradas en la población inicial, con un porcentaje de mortalidad del 100% en días posteriores.

**Palabras clave:** Insecto, Hongo entomopatógeno, control biológico, contacto, ingestión.

### **ABSTRACT**

In the control of *Dione juno* (Bates) a large percentage of chemical products are used, to reduce productive losses caused by the insect. The aim of this research was to evaluate the effectiveness of *Beauveria* sp. as a biological control agent of *D. juno* in *Passiflora ligularis* (Juss) The insect *D. juno* was evaluated in order to describe the larval stages, the study indicated a 24% hatching in 7 days on average, consisting of five larval stages with a duration of 65 days for the life cycle. For the study, a random complete block design with divided plots was implemented, and the variables evaluated were percentage of germination, radial growth and pathogenicity. The infection was carried out by two forms of application contact with 1 ml of  $10^6$  conidia / ml on the insect and ingestion in discs of 3cm of granadilla leaf infected with the fungus. For the variable percentage of germination *Beauveria bassiana* farm obtained 80% germination, radial growth attributes an upward growth of 79% for 9 days for *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. commercial, while 63% is attributed to *Beauveria bassiana* farm. Finally the results obtained allowed to determine the number of dead insects, as a result of infection, evidencing that the best effect is represented by ingestion, which at 8 days reaches 93.06% mortality, while by contact presents a mortality percentage of 88.89%, the mortality percentages show that the dose ( $1 \times 10^6$ ), eliminates the larvae considered in the initial population, with a mortality percentage of 100% in subsequent days.

**Keywords:** Insect, Entomopathogenic fungus, biological control, contact, ingestión.



## 1. INTRODUCCIÓN

La producción de granadilla en la provincia de Imbabura presentó un aumento de superficie del 80% en los últimos 10 años, con un rendimiento promedio de 15 500 kg/ha/año, sin embargo una de las plagas importantes de este cultivo es *Dione juno andicola* (Bates) que ocasiona pérdidas económicas (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], 2018).

Las larvas de *D. juno* se alimentan de plantas de la familia Passifloraceae, es conocido como “gusano defoliador”, el cual eclosiona y empupa de manera sincronizada, sobre la planta, tutores y estructuras de soporte por su hábito gregario y se pueden encontrar grupos de hasta 100 larvas sobre el haz de las hojas por planta (Sánchez y Rivas ,2007). Representando un riesgo para el cultivo si no se toman las medidas de manejo y control oportunas, es por ello que en la última década se hace énfasis en el uso de pesticidas químicos.

La tendencia mundial en favor del medio ambiente en la agricultura busca alternativas para reemplazar los agroquímicos dentro de un programa de manejo integrado de plagas, para disminuir el daño producido al agroecosistemam se considera a los biocontroladores de alta efectividad como los hongos entomopatógenos. Los hongos

presentan un mecanismo de acción denominado micosis y tiene como función producir micotoxinas como lo es *Beauveria bassiana* una especie que está asociada al control de lepidópteros y coleópteros

Monzon,(2001) afirma que *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., pertenece a la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, familia Moniliaceae. Se ha informado que debido a su mecanismo de acción ataca a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de importancia agrícola, entre las más importantes están *Hypothenemus hampei* Ferrari , *Plutella xylostella* L. y *Cosmopolites sordidus* Germar, ya que tiene la capacidad de producir de forma rápida conidias infecciosas.

## 2. METODOLOGÍA O DESARROLLO

La presente investigación se llevó a cabo en La Granja Experimental “La Pradera” perteneciente a la Universidad Técnica del Norte; la cual se encuentra en latitud Norte 0°21’19” y longitud Oeste 78°11’32” en la parroquia de San José de Chaltura perteneciente al cantón Antonio Ante de la provincia de Imbabura a una altitud de 2340 m.s.n.m y con una temperatura promedio de 16 °C.

El diseño que se implementó es de bloques completamente al azar con parcelas



divididas y se tomó en cuenta dos factores: Hongo entomopatógeno y forma de aplicación. Para el análisis de los datos obtenidos se usó el paquete estadístico InfoStat versión 2018. Las variables evaluadas son crecimiento radial, porcentaje de germinación, y porcentaje de patogenicidad usando el gusano defoliador de pasiflora *Dione juno* (Bates) en el tercer instar larvario. Según (Vélez et al., 2000) estas variables son consideradas indicación primordial para determinar la caracterización fisiológica de la cepa entomopatógena *Beauveria* sp.

### 2.1. Crecimiento radial

La caracterización fisiológica de la cepa de *Beauveria* sp. se determinó con el crecimiento radial, sembrando 10  $\mu$ l de la concentración  $1 \times 10^6$  de conidias  $\text{mL}^{-1}$  en el centro de las placas Petri con medio PDA sin aplicación de gentamicina, las mismas que se mantuvieron en cámara de incubación a  $22.6^\circ\text{C}$ , durante 9 días y revisiones cada 3 días. Se usó papel milimetrado con el cual se midió, de forma diaria, a partir del segundo día de siembra, el crecimiento diametral sobre la longitud de dos diámetros perpendicular y promediando las dos mediciones

### 2.2. Porcentaje de germinación

Se sembró 5  $\mu$ l de la concentración  $1 \times 10^6$  de conidias  $\text{mL}^{-1}$  y se obtuvo 5 alícuotas en medio PDA con gentamicina, se colocó en incubación a una temperatura de  $22.6^\circ\text{C}$  por 24 horas, se aplicó sobre la alícuota azul de lactofenol para detener la germinación y permitir ver las conidias en el microscopio, seguidamente se extrajo una alícuota, se colocó en el porta objetos cubierto con un cubreobjetos y se evaluó el porcentaje de germinación, mediante la evaluación de un mínimo de 100 esporas germinadas y no germinadas por alícuota.

$$\%G = \left( \frac{\text{N}^\circ \text{ conidias germinadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de conidias}} \right) \times 100.$$

### 2.3. Patogenicidad

Se distribuyó 36 larvas en el tercer instar por tratamiento y se determinó por la ausencia de movimiento de la larva al ser tocada, con un hisopo estéril, las larvas se inocularon con el hongo por dos métodos de aplicación en una suspensión de esporas, a razón de  $1 \times 10^6$   $\text{mL}^{-1}$  en agua destilada estéril más Tween 80 al 1%. Las observaciones fueron 2 veces al día y a la misma hora por 10 días (Figura 1).

**Figura 1**

*Alimentación larva Dione junco (Bates)*



### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Porcentaje de Germinación

El análisis T de student para muestras independientes en la variable porcentaje de germinación de los hongos entomopatógenos, indica que si existe diferencia significativa con el valor ( $p=0.0475$ ) (Tabla 1). El rango con menor porcentaje de germinación es *Beauveria bassiana* granja debido a que las condiciones de reactivación no se ajustaron a los parámetros óptimos de laboratorio.

**Tabla 1**  
*Análisis T para muestras independientes porcentaje de germinación*

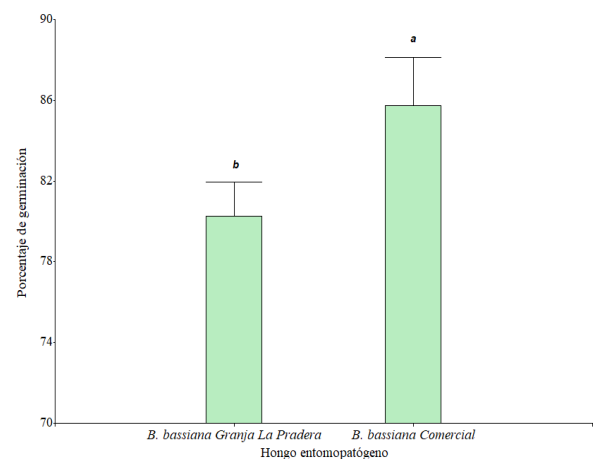
	<i>Beauveria bassiana</i> granja	<i>Beauveria bassiana</i> comercial
	A1	A2
n	4	4
Media	80.25	85.75
Media(1)-Media(2)	-5.50	
T	-1.89	
Valor P	0.0475	

*Beauveria bassiana* comercial tiene una diferencia del 6% de porcentaje de germinación de esporas respecto a *Beauveria bassiana* Granja La Pradera, lo que podría referir a que este proceso se encuentra relacionado al tipo de muestra. Por otro lado, Díaz y Lecuona (1995) en su

investigación mencionan que la producción de esporas sobre medio agarizado no siempre se relaciona, es por ello que la variabilidad intraespecífica de las cepas define su comportamiento productivo, ahora bien esta es la causa por la cual *Beauveria bassiana* granja presenta diferencias en la producción de esporas. Por otro lado Chiriboga et al. (2015) en su investigación encontraron que una formulación comercial debe tener una germinación superior al 85% en un tiempo de incubación de 24 horas. En este sentido esta investigación de acuerdo a las condiciones en que se desarrolló las evaluaciones germinativas de *Beauveria bassiana* comercial se encuentra dentro del valor de germinación con un 85.75% después de 24 horas (Figura 2).

**Figura 2**

*Porcentaje de germinación Beauveria bassiana*



#### 3.2. Crecimiento radial

En la Tabla 2 se puede observar que existe diferencia significativa para la interacción día: cepa, independientemente del hongo entomopatógeno ( $F=3.48$ ;  $gl=3,21$ ;  $p=0.0339$ ).

**Tabla 2**

*Análisis de Crecimiento radial Beauveria bassiana*

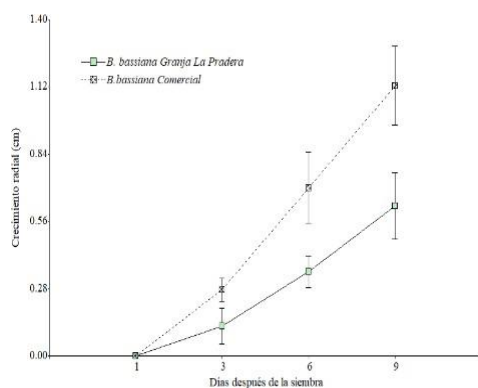
Fuente de variación	Gl T	Gl E	Valor F	Valor P
Día	3	21	42.42	<0.0001
Cepa	1	21	18.03	0.0004
Día: Cepa	3	21	3.48	0.0339

CV 103.18

En la figura 3 se atribuye un crecimiento ascendente del 79% durante 9 días para *Beauveria bassiana* comercial, mientras que el 63% se atribuye a *Beauveria bassiana* granja, demostrando que hay una interacción entre día y cepa. En virtud de los resultados Echeverría (2006) menciona que el crecimiento debe ser de forma expansiva y homogénea alrededor del círculo inoculado, este puede verse influenciado hacia un lado por esporas que caen en los alrededores y germinan, atribuyéndose así a un desarrollo sin uniformidad, la evolución radial de *Beauveria bassiana*, muestra una conducta lineal, iniciando un incremento notorio a partir de los tres días evaluado, en este ensayo. A la vez Díaz y Lecuona 1995 plantean un máximo de 1.3 cm al noveno día de crecimiento radial con *Beauveria bassiana*, valor que asemeja a la presente investigación con las cepas evaluadas, finalmente se menciona que la cepa que alcance el máximo de crecimiento radial no siempre alcanzan la mayor producción de conidios, resultado que sustenta a patogenicidad.

**Figura 3**

*Crecimiento radial Beauveria bassiana*



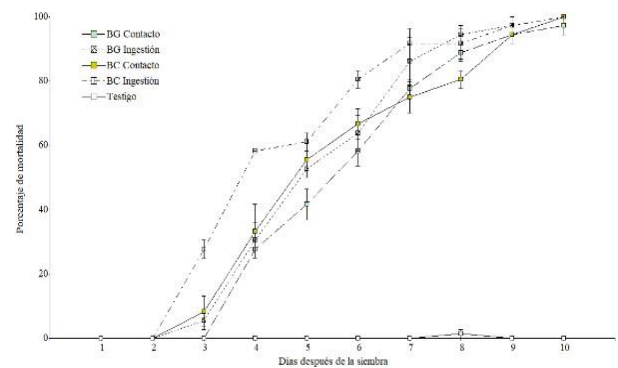
### 3.3. Patogenicidad

Para el porcentaje de mortalidad se realizó una prueba de Friedman en el cual se puede observar que existe diferencia significativa en cuanto a días, hongo y aplicación ( $p=0.001$ ), para la variable patogenicidad.

El porcentaje de mortalidad de *Beauveria bassiana* aumento en un 29% para el noveno día de observación, a partir del tercer día en donde mostro un 23.4%. Durante las primeras observaciones a partir del tercer día entre los tratamientos T1(*B. bassiana* granja contacto), T4(*B. bassiana* comercial contacto) y el testigo presentan una media de 56%, sin embargo, en el tratamiento T2 (*B. bassiana* granja ingestión), T5 (*B. bassiana* comercial ingestión) y testigo se diferencia estadísticamente del 50%, considerando estos resultados se puede concluir que el testigo no presenta porcentaje de mortalidad.

**Figura 4**

Porcentaje de mortalidad



Como se aprecia en la ( Figura 4) en donde *Beauveria bassiana* procedente de la granja Experimental La Pradera en su aplicación por contacto, presentó contaminación a las 96 horas con casi una larva y evoluciona hasta 2 larvas a las 120 horas siendo muy por debajo de los desempeños mostrados por *Beauveria* spp. que sus mejores niveles son a las 72 horas e infectaron los 4 insectos a las 216 horas. La baja eficacia de *Beauveria bassiana* por contacto pudo ser por diversos factores como la humedad relativa ,



fotoperiodo, tipo de insecto, temperatura, entre otros, así lo determina Marquez y Gato (2017) quienes afirman que la humedad relativa adecuada para el género *Beauveria* es de 90% durante 14 horas para obtener una mayor infestación, además se requiere temperatura de 25 a 30°C, Por otro lado en esta investigación se utilizó una temperatura de 22±2°C y humedad relativa del 90%, entonces se podría decir que estos factores influyeron en la infestación de *Beauveria bassiana* por contacto.

## 5. CONCLUSIONES

En condiciones de laboratorio la caracterización macroscópica y microscópica de *Beauveria bassiana* procedente de Granja la Pradera, permitió determinar de forma fisiológica la calidad biológica, ya que presentó un porcentaje de germinación del 80.25% y un crecimiento radial que alcanza el 79% al noveno día de siembra.

La cepa comercial *Beauveria bassiana* fue patogénica para larvas en el tercer estadio de vida, alcanzando una mortalidad del 91.97% con la concentración  $1 \times 10^6$  conidios/ml, ya que a las 72 horas de su aplicación presentó capacidad de infección. La cepa *Beauveria bassiana* Granja La Pradera presentó una mortalidad de 80.56%, indicando así que *Dione juno andicola* (Bates) es susceptible al ser controlado por *Beauveria bassiana*. Además, esta investigación demostró que los dos métodos de aplicación tienen potencial para el control biológico de *Dione juno* (Bates), en donde los aislamientos presentaron un comportamiento diferencial respecto a *Beauveria bassiana* granja a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/ml, en condiciones de laboratorio, considerando así

que este hongo entomopatógeno, es un agente de control biológico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2018). Diagnóstico productivo rubro granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) en la provincia de Imbabura.
- Sánchez-Jasso, J, M. y Rivas-Manzano, I, V. (2007). Ciclo Biológico y hábitos alimentarios de *Dione juno huascuma* (Lepidoptera: Nymphalidae) del plantar, malinalco, estado de México. Docplayer. <https://docplayer.es/108291317-Ciclo-biologico-y-habitos-alimentarios-de-dione-juno-huascuma-lepidoptera-nymphalidae-del-platanar-malinalco-estado-de-mexico.html>
- Monzon, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 63, 95–103. <http://www.bionica.info/biblioteca/Monzon2001HongosEntomopatogenos.pdf>
- Díaz, B. y Lecuona, R. (1995). Evaluación de las cepas nativas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill.) (Deuteromicotina) como base para la selección de bioinsecticidas contra el barrenador *Diatraea saccharalis* (F.). 7, 33-38. [file:///C:/Users/Dell/Downloads/2450-Texto%20del%20art%C3%ADculo-7626-1-10-20120801%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Dell/Downloads/2450-Texto%20del%20art%C3%ADculo-7626-1-10-20120801%20(1).pdf)
- Chiriboga, H., Gómez, G. y Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del Bio-insumo:



*Beauveria bassiana*, Hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (ysaú). *ICCA*, 28.

<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf;jsessionid=61A1DD2CD08CCEFC36A81942FC285AA6?sequence=1>

Echeverría, F. (2006). *Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin*. [Tesis de pregrado, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Archivo digital. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/463/Trabajo%20Final%20de%20Graduacion%20Biblioteca.pdf?sequence=1>

Marquez, H. y Gato, S. (2017). Insecticidas de uso agrícola en el Ecuador. *Boletín Divulgativo No. 402*, 8.