

**DETERMINACIÓN DE AGRESIVIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS
PARA *Macrodactylus sp.* (Catzó del Maíz) CHILLANES – BOLÍVAR.
2005**

AYALA CAMPAÑA OSCAR MARCELO

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

QUITO – ECUADOR

2006

VII. RESUMEN

La presente investigación se realizó, en convenio y colaboración del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP con la Fundación para la Investigación de la Universidad de OHIO- USA en busca de tecnologías de control biológico para insectos de *Macroductylus sp.*

El objetivo principal del trabajo de "Determinación de agresividad de hongos entomopatógenos para *Macroductylus sp.*" fue:

Identificar las cepas de hongos entomopatógenos de mejor agresividad para *Macroductylus sp.* para lo cual se plantearon tres fases acorde a cada objetivo específico.

PRIMERA FASE:

Para identificar la presencia de *Beauveria sp.* y *Metarhizium sp.* en insectos. Se realizó un muestreo con el fin encontrar y aislar los hongos entomopatógenos de especímenes infectados con en condiciones naturales. Para lo cual en la primera fase se colectaron insectos adultos de *Macroductylus sp.* y larvas de scarabeidos en diez fechas de muestreo, en cuatro zonas, que incluyen a catorce localidades ubicadas entre los 1400 y 2400 m.s.n.m del cantón Chillanes en la provincia de Bolívar, en las que se verificó incidencia del insecto en estudio.

La obtención de insectos adultos de *Macroductylus sp.* se realizó mediante la captura de insectos, en trampas de color amarillo, flores de plantas y lotes de maíz del ecotipo nativo de la zona *Mamasara* en fase fenológica de floración. Todos los insectos de 50 plantas infestadas, considerando una muestra promedio de 100 insectos por lote se colectaron.

Para el muestreo de larvas, en cada localidad se tomaron 25 muestras de suelo con el mayor número de larvas de scarabeidos.

Los especímenes de larvas como las de adultos que murieron, se separaron y colocaron en cámaras húmedas independientes Para favorecer el crecimiento de hongos entomopatógenos y facilitar el aislamiento. En laboratorio se logró aislar doce cepas de *Beauveria* y ocho cepas de *Metarhizium*.

SEGUNDA FASE

Para determinar las cepas más agresivas en laboratorio de entre los hongos entomopatógenos encontrados. Se realizaron dos ensayos en los que se evaluaron, en el primero, la agresividad de crecimiento *in vitro* de los aislamientos de *Metarhizium*, y en el segundo, la agresividad de crecimiento *in vitro* de los aislamientos de *Beauveria*. Las variables evaluadas en los dos ensayos fueron; 1) diámetro de crecimiento del hongo en cajas Petri, 2) días a la esporulación, 3) días al cubrimiento total de la caja petri y 4) número de esporas. En esta investigación, en cada uno de los ensayos, se utilizó un Diseño Completamente al Azar, con 7 observaciones. La unidad experimental fue una caja petri con medio de cultivo PDA de 8.5 cm de diámetro.

Los ADEVA's, pruebas de Tukey 5%, pruebas DMS 5% para las comparaciones ortogonales e índice de patogenicidad consolidó a las distintas variables determinando a m_1 (*Metarhizium* - S. F. Azapi 1500 m) y b_8 (*Beauveria* - Tablas 1700 m) como los aislamientos de mejor agresividad de los ensayos en laboratorio.

TERCERA FASE

Con el objetivo principal de seleccionar los aislamientos de *Beauveria* y *Metarhizium* de mejor agresividad para el control del Catzo del Maíz *Macrodactylus sp.* bajo las condiciones de campo del cantón Chillanes en la provincia de Bolívar. Se realizó un experimento en la localidad de Arrayampamba.

En el ensayo de agresividad de hongos entomopatógenos en campo, se evaluaron cuatro aislamientos entomopatógenos nativos de Chillanes y dos aislamientos foráneos provenientes de San José de Minas de la provincia de Pichincha, producto de la recomendación del estudio de prospección de hongos entomopatógenos en *Macrodactylus pulchripes* Blanchard y larvas de scarabeidos.

Estos aislamientos en estudio mostraron buen comportamiento reproductivo sobre el medio de cultivo PDA en laboratorio. Y en el campo fueron aplicados sobre insectos de *Macrodactylus sp.* a razón de 25×10^6 [esporas / ml].

El testigo absoluto consistió en insectos tratados con agua destilada y se evaluó con el objeto de descartar efectos en la mortalidad del insecto debido a factores naturales ó manipuleo.

En la investigación, se utilizó para el análisis estadístico un Diseño Completamente al Azar de muestras de 5 observaciones y 5 muestras por cada tratamiento.

La unidad experimental en campo estuvo constituida por una mazorca conteniendo en promedio 15 insectos de *Macrodactylus sp.* El número total de unidades experimentales fue de 175, de las cuales 25 correspondieron a cada tratamiento entomopatógeno y 5 muestras a cada observación.

Las variables evaluadas en laboratorio fueron; Mortalidad, Porcentaje de Infección y TL₅₀ Tiempo letal medio.

Los ADEVA's, pruebas de Tukey 5% y pruebas DMS 5% para las comparaciones ortogonales bajo el criterio de las distintas variables consolidó a m₁ (*Metarhizium* - S. F. Azapi 1500 m) y b₈ (*Beauveria* - Tablas 1700 m) como los aislamientos de mejor agresividad sobre insectos de *Macrodactylus sp.* en condiciones de campo. Razón por la cual se recomienda aplicar los aislamientos.

Los aislamientos nativos de Chillanes c₂ (*Metarhizium*. - S.F. Azapi 1500 m) y c₅ (*Beauveria* - Tablas 1700 m) mostraron la más alta actividad patogénica sobre insectos de *Macrodactylus sp.* con mortalidad de 95.40% y 84.27% a los 5 días después de la aplicación, y porcentaje de infección de 78,32 %y 77,38%, y tiempo letal medio TL₅₀ de 4.23 y 4.45 días respectivamente.

De los resultados también se constató que los aislamientos de *Beauveria* y *Metarhizium* testigos provenientes San José de Minas si enfermaron a insectos de *Macrodactylus sp* en campo y sin embargo debido a que mostraron menor agresividad que los aislamientos nativos de Chillanes, específicamente en la variable porcentaje de infección, para futuros ensayos se recomienda replicar el estudio sobre insectos del mismo género en distintas localidades y realizar estudios en dosis, formulación y métodos de aplicación en campo de los aislamientos entomopatógenos sobre larvas y adultos. Con el fin descartar el efecto de especificidad del entomopatógeno al hospedero, el efecto localidad y comprobar la persistencia en el tiempo de los patógenos dentro de programas de control biológico.

VIII. SUMMARY

The present research was realized, in agreement and collaboration of the National Institute of Farming Investigations INIAP with the Foundation for the Investigation of the University of OHIO - USA in search of technologies of biological control for insects of *Macroductylus sp.*

The main objective of the study Determination of aggressiveness entomopathogenic fungi for *Macroductylus sp.* was:

To identify the strains entomopathogenic fungi of better aggressiveness for *Macroductylus sp.*, in order to obtain our objective three phases were established.

FIRST PHASE

For identify the presence of *Beauveria sp.* and *Metarhizium sp.* in insect's samples. The sampling was realized with aim to find and isolate entomopathogenic fungi of infected specimen in natural conditions. In order to in the first stage adult insects of *Macroductylus sp.* and larvae of scarabeidos were collected in ten sampling dates, in four zones, that include to fourteen localities located between 1400 and 2400 m.s.n.m of the Chillanes canton in the province of Bolivar where the incidence of the insect in study was verified.

The obtaining of adult insects of *Macroductylus sp.* was realized by means capture of insects, in traps of yellow color, flowers of plants and lots of maize of ecotipo native of the zone Mamasara in phase of flowering. All the insects of 50 infested plants, considering a sample average of 100 insects were collected.

For the sampling of larvae, in each locality were taken 25 samples from soil with the greater number of scarabeidos larvae.

The specimens died larvae and adults, were separated and placed in independent humid cameras to favor the growth of entomopathogenic fungi and to facilitate the isolation.

In laboratory was able to isolated 12 strains of *Beauveria* and 8 strains of *Metarhizium*.

SECOND PHASE

To determine the strain of entomopathogenic fungi most aggressive in laboratory

They were carried out two tests in which was evaluated, in first, the aggressiveness of growth in vitro of the isolations of *Metarhizium*, and in the second, the aggressiveness of growth in vitro of the isolations of *Beauveria*. The variables evaluated in both tests were; 1) diameter of growth of the fungus in boxes Petri, 2) days to the production of spores, 3) days to the total cap of the box Petri and 4) number of spores. In this research, in each one of the tests, a totally at random design was used, with 7 observations. The experimental unit was a box petri of 8,5 cm of diameter with PDA.

The ADEVA' s, tests of Tukey 5%, tests DMS 5% for the orthogonal comparisons and Index of pathogenicity consolidated to the different variables determining to m_1 (*Metarhizium*. - S.F. Azapi 1500 m) and b_8 (*Beauveria* - Tablas 1700 m) like insulates the better aggressiveness of the tests in laboratory.

THIRD PHASE

With the main objective to select isolations of *Beauveria* and *Metarhizium* of better aggressiveness for the control insects of corn chafer *Macrodactylus sp.* under field conditions in Chillanes, Bolivar. An experiment was realized in the locality of Arrayampamba.

In the test of aggressiveness of entomopathogenic fungi in field, four native entomopathogenic isolations of Chillanes and two originating foreign isolations of San José de Minas of the province Pichincha, product of the recommendation of the study of prospection of entomopathogenic fungi in *Macrodactylus pulchripes Blanchard* and scarabeidos larvae were evaluated.

These isolations in study showed reproductive good behavior on means of culture PDA in laboratory. And in the field they were applied on insects of *Macrodactylus sp.* at the rate of 25×10^6 [spores /milliliter].

The absolute witness consisted of insects dealt with distilled water and they were evaluated with the intention of discarding effects in the mortality of the insect due to natural factors or manipulation.

In this research, a totally at random design of samples of 5 observations and 5 samples by each treatment was used for the statistical analysis.

The experimental unit in field was constituted by one ear containing in average 15 insects of *Macrodactylus* sp. The total number of experimental units was of 175, of which 25 corresponded to each entomopathogenic treatment and 5 samples to each observation.

The variables evaluated in laboratory were; Mortality, percentage of Infection and median lethal Time TL_{50} .

The ADEVA's, tests of Tukey 5% and DMS 5% for the orthogonal comparisons under the criterion of the different variables consolidated to c_2 (*Metarhizium* - S.F. Azapi 1500) and c_5 (*Beauveria* - Tablas 1700) like insulates of better aggressiveness on insects of *Macrodactylus* sp in conditions of field. For this reason it is recommended to apply the isolations.

The native insulates c_2 (*Metarhizium*. - S.F. Azapi 1500 m) and c_5 (*Beauveria* - Tablas 1700 m) showed the highest pathological activity on *Macrodactylus* sp with mortality of 95.40% and 84.27% at 5 days after the application, median lethal time TL_{50} of 4.23 and 4.45 days and infection of 78,32 % and 77,38% respectively.

Of the results also it was stated that the isolations of *Beauveria* and *Metarhizium* originating San José de Minas sickened to insects of *Macrodactylus* sp. in field and however because they showed to minor aggressiveness that the native isolations of Chillanes, specifically in the variable percentage of infection, for future tests is recommended to talk back the study on insects of the same genera in different localities and to make studies in dose, formulation and methods of application in field of the entomopathogenic isolations on larvae and adults.

To discard the effect of specificity of entomopathogenic on host, the effect locality and verify the persistence in the time of the pathogens within biological control programs.