



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Proyecto de Investigación
previo a la obtención del título
de Ingeniero Agrónomo

Título del Proyecto de Investigación

Eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio.

Autor:

Garófalo Mora Ronaldo Andrés

Director del Proyecto de Investigación:

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2020

El proyecto de investigación “Eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio”, se desarrolló bajo el convenio marco de cooperación interinstitucional entre la UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO y la Empresa REYBANPAC, REY BANANO DEL PACÍFICO C.A., firmado a los ocho días del mes de noviembre de 2018.



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **GARÓFALO MORA RONALDO ANDRÉS**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación personal; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

Atentamente;

Garófalo Mora Ronaldo Andrés

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita **Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Garófalo Mora Ronaldo Andrés**, realizó el Proyecto de Investigación titulado “**Eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio**”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente;

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz
DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

La suscrita Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz, docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Directora de Proyecto de Investigación titulado “Eficacia de dos cepa comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio”, pertenece al estudiante Garófalo Mora Ronaldo Andrés, certifica: el cumplimiento de los parámetros establecidos por la SENECYT, y se evidencia al reporte de la herramienta de prevención y coincidencia y/o plagio académico (URKUND) con un porcentaje de coincidencia de .

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz
DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título
de:

Ingeniero Agrónomo

Aprobado por:

Dra. Silvia Saucedo Aguiar

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Hayron Canchignia Martínez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Daniel Vera Avilés

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2020

AGRADECIMIENTOS

Una vez finalizado este trayecto tan importante en mi vida no me queda más que agradecer a todas aquellas personas que me brindaron su ayuda incondicional a lo largo de mi preparación universitaria; el desarrollo de este proyecto de investigación ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación, pero todo se hizo menos dificultoso gracias al apoyo de:

Dios, todo poderoso, el cual me guía en todas mis decisiones, me brinda salud, sabiduría y siempre está allí para solucionar mis problemas, sea cual sea su índole; gracias Padre.

Mis padres, Sr. Édison Viterbo Garófalo Salazar y Sra. Elsa Beatriz Mora Pazmiño, ustedes que son mi principal motivo de vida, sin su ayuda no hubiese sido posible culminar mi carrera universitaria; han sido mi primera escuela, mis primeras enseñanzas y mis mejores docentes respecto al significado de la vida. Su sacrificio a lo largo de estos años ha valido la pena, estoy seguro que soy sinónimo de orgullo dentro de ustedes, espero tenerlos siempre a mi lado.

Señorita, Yorgelys Janeth Morán Flores, la cual ha estado a mi lado en los momentos más difíciles, más felices y más cruciales en todo este trayecto; su guía ha sido fundamental en la culminación de este ciclo.

Mis amigos, Bryan, Josué, Kevin, Jhonatan, Luis, José, Jean y Arturo, ustedes con los cuáles compartí momentos inolvidables y llenos de alegría; espero que nuestra amistad perdure a lo largo de los años y nuestras anécdotas sean motivo de reencuentro, les deseo el mayor de los éxitos, colegas.

Mis tías, Mery Garófalo Salazar y Mirian León Yáñez; dentro de este camino, éstas personas aportaron significativamente en mi formación y desarrollo personal, sin su ayuda nada hubiese sido posible.

Doctora, Mayra Carolina Vélez Ruiz, apreciada directora de mi proyecto de investigación; mi gratitud eterna por sus recomendaciones en la misma, el tiempo dedicado y su esmero ha sido sumamente importante.

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, prestigiosa institución la cual me permitió adquirir conocimientos y formarme como un profesional; de igual forma a la Facultad de Ciencias Agrarias y sus docentes, en especial al Ing. Jorge Mendoza Mora ya que por su cátedra me incliné al área de Entomología.

Empresa Reybanpac, por la financiación, prestación de servicios y completa disposición de la hacienda “Oasis 1”.

Laboratorio MCP Microbiolab y su propietaria María Esther Cortez, por la facilitación del producto biológico utilizado en la investigación.

Ronaldo Andrés Garófalo Mora

DEDICATORIA

La presente investigación está dedicada para un ser muy especial en mi vida, la cual no supe que valor tenía hasta que la perdí, mi abuela, Sra. Adela Ernestina Salazar Gaibor; físicamente no se encuentra a mi lado pero sé que desde el cielo siente un gran orgullo hacia mí.

A Dios, por hacerme entender que siempre ha estado para ayudarme tan solo que se presenta en el momento oportuno y cuando más lo necesito.

Mis padres, lo que soy y puedo llegar a ser, siempre va para ustedes.

Mi tía, Rosy Mora Pazmiño, en un momento de tormenta me ayudó a salir de la misma, gesto significativo el cual jamás olvidaré.

Mi abuela, Carmen Nohemí Pazmiño García, ser incondicional, sinónimo de pureza.

Ronaldo Andrés Garófalo Mora

RESUMEN

El uso de hongos entomopatógenos en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y rayado (*Metamasius hemipterus*) es una alternativa que está tomando importancia dentro del manejo integrado de plagas. Uno de los principales agentes de control es *Metarhizium anisopliae* el cual causa altos porcentajes de mortalidad. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* en el control de picudo negro y rayado en condiciones de campo y laboratorio. La fase de campo se realizó en la hacienda “Oasis 1” ubicada en el sector La Esperanza y la fase de laboratorio se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología del Campus “La María” perteneciente a la UTEQ. Para los experimentos en campo y laboratorio se utilizaron dos cepas comerciales: Cepa 1, originaria del cantón Quevedo y Cepa 2, originaria del cantón La Concordia en formulación líquida. El mayor porcentaje de mortalidad para picudo negro y rayado se produjo al utilizar la Cepa 2 con valores de 32.33 % y 51.83 % respectivamente. En condiciones de laboratorio la Cepa 2 alcanzó valores superiores de mortalidad con 64 % y 88% para cada una de las especies. El porcentaje de eficacia en campo fue de 30.50 % para picudo negro y 28.17% para picudo rayado. El tiempo letal medio (TL50) para picudo negro y rayado inoculados con la Cepa 2 en laboratorio fue de 20 días y 9 días respectivamente. Tres especies de picudos fueron encontradas: *C. sordidus*, *M. hemipterus* y *Polytus mellerborgii* en razón de 297, 680 y 119 ejemplares para cada especie. Los resultados demuestran que la Cepa 2 posee un alto potencial en el control de picudos del banano, sin embargo, es necesario analizar otras cepas, formulaciones y diferentes dosis que permitan mayores porcentajes de mortalidad en condiciones de campo.

Palabras clave: hongo entomopatógeno, *C. sordidus*, *M. hemipterus*, control, mortalidad.

SUMMARY

The use of entomopathogenic fungi in the control of black weevil (*Cosmopolites sordidus*) and striped weevil (*Metamasius hemipterus*) is an alternative that is gaining importance within the integrated pest management. One of the main control agents is *Metarhizium anisopliae*, which causes high mortality rates. The present study aimed to evaluate the efficacy of two commercial strains of *M. anisopliae* in the control of black weevil and striped weevil under field and laboratory conditions. The field phase was carried out in the “Oasis 1” farm located in the La Esperanza sector and the laboratory phase was carried out in the Microbiology laboratory of the “La María” Campus belonging to the UTEQ. For the field and laboratory experiments, two commercial strains were used: Cepa 1, originating from the Quevedo canton and Cepa 2, originating from the La Concordia canton in liquid formulation. The highest mortality percentage for black weevil and striped weevil occurred when using Strain 2 with values of 32.33% and 51.83% respectively. Under laboratory conditions, Strain 2 reached higher mortality values with 64% and 88% for each of the species. The percentage of efficacy in the field was 30.50% for black weevil and 28.17% for striped weevil. The mean lethal time (TL50) for black weevil and striped weevil inoculated with Strain 2 in the laboratory was 20 days and 9 days respectively. Three species of weevils were found: *C. sordidus*, *M. hemipterus* and *Polytus mellerborgii* at the rate of 297, 680 and 119 specimens for each species. The results show that Strain 2 has a high potential in the control of banana weevils, however, it is necessary to analyze other strains, formulations and different doses that allow higher percentages of mortality under field conditions.

Key words: entomopathogenic fungi, *C. sordidus*, *M. hemipterus*, control, mortality

ÍNDICE DE CONTENIDO

Declaración de autoría y cesión de derechos.....	iii
Certificación de culminación del Proyecto de Investigación	iv
Reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico	v
Certificación de aprobación por Tribunal de Sustentación	vi
Agradecimientos.....	vii
Dedicatoria.....	ix
Resumen	x
Summary.....	xi
Índice de contenido.....	xii
Índice de Tablas.....	xvi
Índice de Figuras	xvii
Índice de Anexos	xix
Código Dublín	xxi
Introducción.....	1

CAPÍTULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.1.2. Formulación del problema	5
1.1.3. Sistematización del problema	5
1.2. Objetivos	6
1.2.1. General.....	6
1.2.2. Específicos	6
1.3. Justificación.....	7

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco teórico	10
2.1.1. El cultivo de banano.....	10
2.1.2. Origen y Distribución	10
2.1.3. Clasificación taxonómica.....	11
2.1.4. Importancia del banano a nivel mundial.....	11
a) Principales países productores	11

b)	Principales países importadores y exportadores	12
2.1.5.	Banano en el Ecuador	12
2.1.6.	Importancia del banano en el Ecuador	12
2.1.7.	Plagas de importancia en el cultivo de banano	13
2.1.8.	Picudo negro	13
2.1.8.1.	Origen y distribución	13
2.1.8.2.	Clasificación taxonómica.....	14
2.1.8.3.	Morfología y biología del picudo negro	14
2.1.8.4.	Daños	15
2.1.9.	Picudo rayado (<i>Metamasius hemipterus</i>).....	16
2.1.9.1.	Origen y distribución	16
2.1.9.2.	Clasificación taxonómica.....	16
2.1.9.3.	Morfología y biología del picudo rayado.....	17
2.1.9.4.	Daños	17
2.1.10.	Métodos de control	18
a)	Control Químico	18
b)	Control Cultural	18
c)	Control Biológico.....	18
2.1.11.	Hongos entomopatógenos	19
2.1.11.1.	<i>Metarhizium anisopliae</i>	20
2.1.11.2.	Clasificación taxonómica.....	20
2.1.11.3.	Condiciones favorables	20
2.1.11.4.	Mecanismo de acción.....	21
2.1.11.5.	Síntomas.....	21
2.1.11.6.	Efectos de <i>M. anisopliae</i> en picudo negro y rayado	22

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.	Localización	24
3.2.	Tipo de investigación	24
3.3.	Método de investigación	24
3.4.	Fuente de recopilación de información	24
3.7.	Diseño de la investigación.....	25
3.8.1.	Factores en estudio.....	25
3.8.2.	Tratamientos en estudio	26

3.8.3.	Descripción de los tratamientos	26
3.8.4.	Manejo del experimento	26
	Fase de laboratorio.....	26
a)	Elaboración de trampas.....	26
b)	Captura del picudo negro y picudo rayado en trampas de pseudotallo.....	27
c)	Desinfección de picudos negros y picudos rayados.....	27
d)	Aplicación de las cepas de <i>M. anisopliae</i> en los insectos.....	27
e)	Verificación de mortalidad en insectos capturados en trampas de pseudotallo....	27
	Fase de campo	28
a)	Material genético	28
b)	Elaboración de trampas.....	28
c)	Aplicación de las cepas de <i>M. anisopliae</i> en los insectos.....	28
d)	Captura del picudo negro y picudo rayado en trampas de pseudotallo.....	28
e)	Verificación de mortalidad en insectos capturados en trampas de pseudotallo	29
f)	Prácticas agronómicas.....	29
3.8.5.	Registro de datos y formas de evaluación.....	29
a)	Porcentaje de mortalidad de <i>C. sordidus</i> y <i>M. hemipterus</i> en condiciones de laboratorio y campo usando dos cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i>	29
b)	Eficacia de dos cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i> aplicadas en <i>C. sordidus</i> y <i>M. hemipterus</i> en condiciones de laboratorio y campo.....	30
c)	Curvas de supervivencia y tiempo letal medio (TL50) de dos cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i> sobre insectos de <i>C. sordidus</i> y <i>M. hemipterus</i> en condiciones de laboratorio y campo.....	30
d)	Identificación de especies colectadas en trampas de pseudotallo de banano.....	31
3.9.	Tratamientos de los datos	31
3.10.	Recursos humanos y materiales	32
3.10.1.	Recursos humanos	32
3.10.2.	Recursos materiales	32
a)	Materiales de laboratorio	32
b)	Materiales de campo	32

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	Resultados.....	35
------	-----------------	----

4.1.1.	Porcentaje de mortalidad de picudo negro y rayado capturados en trampas de pseudotallo tratadas con <i>M. anisopliae</i> en laboratorio.....	35
a)	Análisis en especímenes de picudo negro.....	35
b)	Análisis en especímenes de picudo rayado	35
4.1.2.	Porcentaje de mortalidad de picudo negro y rayado inoculados con <i>M. anisopliae</i> en campo	36
a)	Análisis en especímenes de picudo negro.....	36
b)	Análisis en especímenes de picudo rayado	37
4.1.3.	Porcentaje de eficacia de <i>M. anisopliae</i> aplicado en picudos negros y rayados en condiciones de laboratorio	38
4.1.4.	Porcentaje de eficacia de <i>M. anisopliae</i> aplicado en picudos negros y picudos rayados en condiciones de campo.....	39
a)	Análisis en especímenes de picudo negro.....	39
b)	Análisis en especímenes de picudo rayado	40
4.1.5.	Curvas de supervivencia y tiempo letal medio de especímenes de picudos negros y rayados tratados con <i>M. anisopliae</i> en laboratorio	41
a)	Análisis de especímenes de picudo negro.....	41
b)	Análisis en especímenes de picudo rayado	42
4.1.6.	Curvas de supervivencia y tiempo letal de especímenes de picudo rayado inoculados con <i>M. anisopliae</i> en campo	42
4.1.7.	Identificación y cuantificación de especies de picudos capturados en trampas de pseudotallo de banano.....	43
4.1.8.	Discusión.....	46

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.	Conclusiones	50
5.2.	Recomendaciones	51

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA.....

6.1.	Bibliografía.....	53
------	-------------------	----

CAPÍTULO VII. ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esquema del análisis de varianza utilizado en la fase de laboratorio:.....	25
Tabla 2. Esquema del análisis de varianza utilizado en la fase de campo:.....	25
Tabla 3. Cantidad de ejemplares de picudos capturados en trampas de pseudotallo.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medias de porcentaje de mortalidad de especímenes de picudo negro (<i>C. sordidus</i>) tratadas con diferentes cepas de <i>M. anisopliae</i> y agua destilada (testigo).....	35
Figura 2. Media de porcentajes de mortalidad de especímenes de picudo rayado (<i>M. hemipterus</i>) tratados con diferentes cepas de <i>M. anisopliae</i> y agua destilada (Testigo).....	36
Figura 3. Medias de porcentajes de mortalidad de los tratamientos de <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo negro en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$)......	37
Figura 4. Medias de porcentajes de mortalidad de los tratamientos de <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo rayado en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$)......	38
Figura 5. Porcentajes de eficacia de los tratamientos de <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo negro y rayado en condiciones de laboratorio.	39
Figura 6. Media de porcentajes de eficacia de los tratamientos de <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo negro en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$).	40
Figura 7. Medias de porcentajes de eficacia de los tratamientos de <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo rayado en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$).	40
Figura 8. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo negro tratados con cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i> y agua destilada (testigo) en condiciones de laboratorio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$).	41
Figura 9. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo rayado tratados con cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i> y agua destilada (testigo) en condiciones de laboratorio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$).	42
Figura 10. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo rayado tratados con dos cepas comerciales de <i>M.</i>	

anisopliae y agua destilada (testigo) en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$). .. 43

Figura 11. Vista dorsal de ejemplar de <i>C. sordidus</i> capturados en trampas de pseudotallo.....	44
Figura 12. Vista dorsal de ejemplar de <i>M. hemipterus</i> capturado en trampas de pseudotallo.....	44
Figura 13. Vista dorsal de ejemplar de <i>P. mellerborgii</i> capturado en trampas de pseudotallo.....	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>C. sordidus</i> en condiciones de campo. (Interacción tratamientos-días).	62
Anexo 2. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>C.sordidus</i> en condiciones de campo capturados 2 días después de instaladas las trampas de pseudotallo. .	62
Anexo 3. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>C. sordidus</i> en condiciones de campo capturados 5 días después de instaladas las trampas de pseudotallo. .	62
Anexo 4. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>C. sordidus</i> en condiciones de campo capturados 7 días después de instaladas las trampas de pseudotallo. .	62
Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>C. sordidus</i> en condiciones de campo capturados 10 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.	63
Anexo 6. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de la interacción tratamientos días de <i>M. anisopliae</i> sobre insectos de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo	63
Anexo 7. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo capturados 2 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.....	63
Anexo 8. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo capturados 5 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.....	63
Anexo 9. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo capturados 7 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.....	64
Anexo 10. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo capturados 10 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.....	64
Anexo 11. Análisis de varianza del porcentaje de eficacia de <i>C. sordidus</i> en condiciones de campo.....	64
Anexo 12. Análisis de varianza del porcentaje de eficacia de <i>M. hemipterus</i> en condiciones de campo.....	64
Anexo 13. Ficha técnica del hongo <i>M. anisopliae</i>	65

Anexo 14. Mapa de la hacienda Oasis 1. Ubicación geográfica de trampas de pseudotallo utilizando el programa Avenza Maps.....	66
Anexo 15. Preparación y aplicación de solución de <i>M. anisopliae</i> (Cepa 1 y 2) en trampas de pseudotallo en condiciones de campo.....	67
Anexo 16. Ubicación de especímenes de picudo negro (<i>C. sordidus</i>) y picudo rayado (<i>M. hemipterus</i>) en cajas Petri en condiciones de laboratorio.	68
Anexo 17. Colocación de cajas Petri con especímenes de picudo negro (<i>C. sordidus</i>) y picudo rayado (<i>M. hemipterus</i>) en incubadora Memmert BE600.	68
Anexo 18. Esporulación del hongo <i>M. anisopliae</i> en especímenes de picudo negro (<i>C. sordidus</i>) y picudo rayado (<i>M. hemipterus</i>).	69

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Eficacia de dos cepas comerciales de <i>Metarhizium anisopliae</i> en el control de picudo negro (<i>Cosmopolites sordidus</i>) y picudo rayado (<i>Metamasius hemipterus</i>) en condiciones de campo y laboratorio.
Autor:	Garófalo Mora Ronaldo Andrés
Palabras clave:	hongo entomopatógeno, <i>C. sordidus</i> , <i>M. hemipterus</i> , control, mortalidad.
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen:	El uso de hongos entomopatógenos en el control de picudo negro (<i>Cosmopolites sordidus</i>) y rayado (<i>Metamasius hemipterus</i>) es una alternativa que está tomando importancia dentro del manejo integrado de plagas. Uno de los principales agentes de control es <i>Metarhizium anisopliae</i> el cual causa altos porcentajes de mortalidad. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de dos cepas comerciales de <i>M. anisopliae</i> en el control de picudo negro y rayado en condiciones de campo y laboratorio. La fase de campo se realizó en la hacienda “Oasis 1” ubicada en el sector La Esperanza y la fase de laboratorio se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología del Campus “La María” perteneciente a la UTEQ. Para los experimentos en campo y laboratorio se utilizaron dos cepas comerciales: Cepa 1, originaria del cantón Quevedo y Cepa 2, originaria del cantón La Concordia en formulación líquida. El mayor porcentaje de mortalidad para picudo negro y rayado se produjo al utilizar la Cepa 2 con valores de 32.33 % y 51.83 % respectivamente. En condiciones de laboratorio la Cepa 2 alcanzó valores superiores de mortalidad con 64 % y 88% para cada una de las especies. El porcentaje de eficacia en campo fue de 30.50 % para picudo negro y 28.17% para picudo rayado. El tiempo letal medio (TL50) para picudo negro y rayado inoculados con la Cepa 2 en laboratorio fue de 20 días y 9 días respectivamente. Tres especies de picudos fueron encontradas: <i>C. sordidus</i>, <i>M. hemipterus</i> y <i>Polytus mellerborgii</i> en razón de 297, 680 y 119 ejemplares para cada especie. Los resultados demuestran que la Cepa 2 posee un alto potencial en el control de picudos del banano, sin embargo, es necesario analizar otras cepas, formulaciones y diferentes dosis que permitan mayores porcentajes de mortalidad en condiciones de campo.
Descripción:	
Url	

INTRODUCCIÓN

El banano es una planta ampliamente cultivada en las zonas tropicales del mundo, resulta una fuente importante de ingresos económicos en el comercio de todos los países que lo cultivan. Como alimento cumple un papel importante dentro de la dieta de las personas por su alto valor nutritivo en potasio y diversos minerales los cuales hacen que sea muy apetecido.

En el Ecuador, el banano es el producto más importante del grupo agrícola de las exportaciones tradicionales, correspondientes al rubro de exportaciones no petroleras, representando cerca del 35% del PIB agrícola y 2% del PIB general (Vera, 2019). Además el cultivo de banano es generador de miles de fuentes de empleo para el país.

Las principales provincias productoras de banano en el Ecuador son: El Oro, Guayas y Los Ríos, las cuales abarcan el 41%, 34% y 16% de los productores respectivamente. En la provincia de El Oro, se encuentra la mayor parte de los pequeños productores de banano del país (aproximadamente el 42 %) mientras que los grandes productores se encuentran en las provincias de Guayas y Los Ríos.

El cultivo de banano presenta una serie de problemas fitosanitarios que repercuten directamente en la producción. Entre los principales problemas del cultivo encontramos los insectos-plaga tales como, el picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus*) y el picudo rayado (*Metamasius hemipterus*).

El picudo negro es un insecto que puede afectar considerablemente el cultivo de banano causando pérdidas que pueden alcanzar el 42% de las cosechas estimadas. Los daños que ocasiona el picudo negro las realiza en su etapa de larva, al formar galerías en el cormo de la planta, causa su debilitamiento e inclusive la caída del racimo; sus ataques los realiza principalmente durante la noche debido a sus hábitos nocturnos, hábitos que tornan mucho más difícil su control.

Además del picudo negro, otra especie de insecto conocido como picudo rayado también es considerado un serio problema para los agricultores, este insecto se alimenta del pseudotallo,

lo debilita y produce el posterior doblamiento de las plantas al momento del llenado del racimo.

Cuando existen infestaciones muy altas de estas dos especies de insectos los productores de banano realizan controles químicos con productos cuyos ingredientes activos pertenecen a insecticidas como carbamatos, organofosforados y piretroides, aunque en diversas ocasiones los resultados esperados no logran cubrir las expectativas. El amplio y descontrolado uso de plaguicidas con la finalidad de controlar las plagas en el cultivo tiene serias consecuencias: intoxicación de los trabajadores por exposiciones crónicas y agudas; impacto en poblaciones humanas cercanas a las plantaciones, contaminación al medio ambiente, muerte de animales mediante exposición secundaria o a través de efectos indirectos, resistencia de las plagas a los insecticidas, entre otras.

La búsqueda de alternativas ecológicas para el control de *C. sordidus* y *M. hemipterus* son necesarias y la utilización de hongos entomopatógenos deben ser consideradas dentro del manejo de estos insectos-plaga. Dentro de las especies de hongos entomopatógenos encontramos a *Metarhizium anisopliae* el cual actúa como regulador natural de poblaciones de insectos perjudiciales para los cultivos agrícolas.

Existen varias cepas comerciales de *M. anisopliae* a la venta en el país, sin embargo, no se dispone de información suficiente sobre la eficacia de estos hongos en zonas bananeras de la provincia de Los Ríos. Con estas consideraciones la siguiente investigación tiene como finalidad evaluar la eficacia de dos cepas comerciales del hongo *M. anisopliae* sobre los picudos del banano *C. sordidus* y *M. hemipterus*.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la Investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

El picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y el picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) son considerados plagas que causan un importante daño en el cultivo del banano y plátano en Ecuador. El picudo negro realiza galerías a nivel del cormo, como consecuencia la planta se debilita causando su volcamiento y ocasionando la pérdida de unidades productivas en la plantación. En el caso del picudo rayado los daños en la planta son similares a los realizados por el picudo negro, las larvas perforan la base del pseudotallo formando galerías, este ataque puede llegar a ser más severo cuando la planta presenta heridas y déficits nutricionales.

Para el control de *C. sordidus* y *M. hemipterus* se utilizan trampas de pseudotallo de banano conjuntamente con insecticidas extremadamente peligrosos para el agricultor y el medio ambiente. Entre los pesticidas utilizados para el control de picudo negro y rayado encontramos los insecticidas organofosforados reconocidos por su alta toxicidad y su acción sobre el sistema nervioso que afecta no solamente a los insectos plaga sino también a organismos benéficos (Ponce, *et al.*, 2006).

Varios reportes indican que, el uso irracional de plaguicidas puede conllevar a una intoxicación hacia el usuario y que la exposición directa o indirecta a plaguicidas está relacionado a un creciente número de efectos crónicos y perjudiciales en la salud (Plenge, *et al.*, 2007).

Países importadores de banano y las certificadoras de este cultivo preocupadas por el medio ambiente y la salud de los consumidores continuamente presentan restricciones sobre el uso de varios productos químicos, lo que limita cada vez más el control del picudo negro y rayado con los insecticidas sintéticos disponibles.

La eficiencia del hongo entomopatógeno *Metarizhium anisopliae* ha sido comprobada en el control de varias especies de insectos plaga, pero, muy poco se conoce sobre la aplicación de cepas comerciales de este hongo en plantaciones de banano de la región. El uso de cepas comerciales de *M. anisopliae* puede resultar en una alternativa eficiente en el control de picudo negro y rayado, sin embargo, estudios en la región son necesarios.

1.1.2. Formulación del problema

¿Cuál es la eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio?

1.1.3. Sistematización del problema

¿Cuál es el porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* y *M. hemipterus* con la aplicación de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* en condiciones de campo y laboratorio?

¿Cuál es el porcentaje de eficacia de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* aplicadas en *C. sordidus* y *M. hemipterus* en condiciones de campo y laboratorio?

¿Cuál es el tiempo letal medio (TL50) de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* para el control de *C. sordidus* y *M. hemipterus*?

¿Cuáles y cuántas especies de picudos son capturados en trampas de pseudotallo de banano?

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Evaluar la eficacia de dos cepas comerciales de *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio.

1.2.2. Específicos

- Verificar la mortalidad de *C. sordidus* y *M. hemipterus* con la aplicación de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* en condiciones de campo y laboratorio.
- Determinar el porcentaje de eficacia de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* aplicadas en *C. sordidus* y *M. hemipterus* en condiciones de campo y laboratorio.
- Determinar el tiempo letal medio (TL50) de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* para el control de *C. sordidus* y *M. hemipterus*.
- Identificar y cuantificar especies de picudos capturados en trampas de pseudotallo de banano.

1.3. Justificación

El banano representa el rubro agrícola de mayor importancia para el Ecuador, genera alrededor de 200.000 plazas de empleo actuando directa o indirectamente en la economía del país.

A nivel de producción el cultivo de banano se encuentra seriamente afectado por varias plagas entre las que se destaca el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*), en donde, el principal método de control es la aplicación de insecticidas químicos altamente peligrosos para el ser humano y los agroecosistemas.

Las plagas de banano y en particular el picudo negro ha mostrado la habilidad de desarrollar resistencia a la mayoría de los insecticidas químicos (Gold y Messiaen, 2000). Debido a los niveles de resistencia de las plagas a los insecticidas continuamente los productores aumentan la dosis y frecuencia de aplicación de estos productos, trayendo consigo serias consecuencias al hombre y al medio ambiente.

El uso de hongos entomopatógenos en el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) es una alternativa que en la actualidad está tomando importancia dentro de los programas de manejo integrado de plagas debido a que su uso no es perjudicial para el ser humano ni para el medio ambiente. Uno de los principales agentes de control es el hongo *Metarhizium anisopliae* el cual es capaz de causar altos porcentajes de mortalidad en picudo negro y rayado. Sin embargo, y aunque su eficiencia ha sido comprobada se desconoce sobre el uso de cepas comerciales del hongo en plantaciones de banano de la región.

Alternativas amigables con el ambiente que permitan minimizar el uso de insecticidas tóxicos son necesarios para el manejo del picudo negro y rayado en las plantaciones de banano. La eficacia del hongo entomopatógeno *M. anisopliae* aplicada en insectos-plaga ha sido registrada anteriormente, sin embargo, se desconoce sobre el uso de cepas comerciales de esta especie de hongo en el control de picudo negro y rayado en la zona de los Ríos.

Con la siguiente investigación se espera generar información que proporcione beneficios para el personal de Reybanpac, pequeños agricultores y sociedad en general, en lo cual permita el control del picudo negro y rayado en las plantaciones bananeras de la región de una forma eficiente y sustentable, debido a que estos microorganismos causan la mortalidad de estas especies sin contaminar el ambiente ni causar perjuicios a la salud del productor y el consumidor de banano.

CAPÍTULO II

FUNDAMETACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco teórico

2.1.1. El cultivo de banano

El banano se define como una planta herbácea con pseudotallos aéreos que se originan de cormos carnosos, dentro de los cuales se desarrollan numerosas yemas laterales o “hijos”. Las hojas cuentan con una distribución helicoidal y las bases foliares circulan el tallo (o cormo) dando origen al pseudotallo. Presenta una inflorescencia terminal y crece a través del centro del pseudotallo hasta alcanzar la superficie (Torres, 2012).

Posee raíces primarias, secundarias y terciarias, las cuales cumplen funciones como sostén, absorción del agua, nutrientes y minerales del solvente del suelo. Estas raíces pueden alcanzar una profundidad de 60 a 80 cm. El tallo o cormo es subterráneo, está compuesto por los hijuelos laterales, los cuales se encuentran alrededor de la planta madre. El pseudotallo está compuesto por vainas enrolladas de las hojas, la altura del mismo entre 3 y 5 metros y un diámetro de 40 a 60 cm. Su composición es de principalmente agua, donde es bastante fuerte y llega a soportar un racimo de gran peso y tamaño (Rentería, 2019).

Durante el trayecto fisiológico de la planta, aparece la inflorescencia, en la cual una parte del punto de crecimiento se convierte en una yema floral, cuando emerge la inflorescencia se convierte en un raquis, el cual toma un color verde y cambia su trayectoria en dirección al suelo. El racimo es cosechado entre de 90 a 120 días luego de la salida de la inflorescencia (Gómez, 2017).

2.1.2. Origen y Distribución

El origen del banano proviene de las zonas tropicales del Sudeste asiático en localidades como Indonesia y Filipinas. Cerca de la edad media esta fruta fue llevada hacia África y luego se extendió por América Tropical a zonas como Panamá, Colombia y Ecuador. Hoy en día el cultivo del banano se extiende a muchas regiones cálidas del mundo (Merchán y Ochoa, 2016). El banano tuvo sus inicios a través de un sinnúmero de mutaciones y cambios genéticos, a partir de diversas especies silvestres como, *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*,

las cuales son diploides con semillas, en la actualidad las especies comerciales son triploides y no poseen semilla (Rodríguez, 2009).

2.1.3. Clasificación taxonómica

La clasificación del cultivo del banano es la siguiente (Torres, 2012):

- Reino: Vegetal
- Clase: Angiospermae
- Subclase: Monocotiledónea
- Orden: Zingiberales
- Familia: Musaceae
- Género: *Musa*
- Especie: *acuminata*
- Nombre científico: *Musa acuminata*

2.1.4. Importancia del banano a nivel mundial

Los bananos y plátanos pertenecen al género *Musa* y constituyen el cuarto cultivo de mayor importancia en el mundo, tan solo superado por el arroz, trigo y maíz. Esta fruta constituye parte del alimento en al menos 400 millones de personas ya que posee una gran cantidad de carbohidratos, vitaminas y minerales (Manzo, *et al.*, 2014). En el aspecto económico esta fruta genera divisas, como también constituye un gran impacto en lo social por la generación de empleos y gestiones productivas a otras industrias como la cartonera y plásticos (Molina, 2019).

a) Principales países productores

El panorama sobre los 10 principales países productores de banano en el mundo toma el siguiente orden, el cual es liderado por la India, Brasil, China y Ecuador, estos países aportan con el 50 % del volumen total producido. Terminando la lista siguen Filipinas, Indonesia, Costa Rica, México, Tailandia y Colombia (Martínez, *et al.*, 2015).

b) Principales países importadores y exportadores

A nivel mundial la producción anual de banano tiene un promedio de 78,8 millones de toneladas, las cuales 16,3 millones de toneladas son destinadas a la exportación y el porcentaje restante se queda para el consumo interno. Entre los principales países exportadores en todo el mundo encontramos en primer lugar a Ecuador, seguido por Filipinas, Costa Rica, Colombia y Guatemala. Mientras que los principales países importadores son Estados Unidos, Alemania, Bélgica y Japón (Balcazar, 2014).

2.1.5. Banano en el Ecuador

Ecuador se sitúa como el líder mundial de la actividad bananera por más de 40 años, esta labor representa una vía de desarrollo para el país desde el punto de vista económico y social. El banano ecuatoriano es indispensable en el comercio mundial ya que no solo es el primer exportador con aproximadamente un 30% de la oferta mundial desde 1952, sino también el segundo mayor productor de América Latina. A partir de 1990 Ecuador es el primer proveedor de banano en la Unión Europea y el segundo mayor proveedor de los Estados Unidos. Entre los diversos países a los que Ecuador exporta banano tenemos: Estados Unidos, Rusia, algunos de la Unión Europea, Chile, Argentina, Nueva Zelanda, Japón y China (Rodríguez, 2009).

2.1.6. Importancia del banano en el Ecuador

En el Ecuador el banano refleja la mayor actividad económica respecto a la exportación e ingresos de los recursos fiscales. Aproximadamente en el país hasta el año 2017 se produjeron 6'282.105 toneladas en un área de 158.057 hectáreas con un rendimiento de 39.746 toneladas hectárea por año (Rentería, 2019).

El país presenta ciertas condiciones climáticas y edafológicas favorables, como suelos de formación aluvial, que se encuentran en valles costeros, de texturas proporcionadas, las cuales permiten que pequeños, medianos y grandes productores pueden cumplir y abastecer la demanda mundial de banano con una producción altamente rentable durante todos los días del año (Gómez, 2017).

2.1.7. Plagas de importancia en el cultivo de banano

En las zonas productoras de plátano y banano encontramos diversos problemas fitosanitarios originados por plagas o enfermedades, cuyas incidencias y grados de afectación dependen de las condiciones ambientales y del manejo que se le da al cultivo (DANE, 2016). El banano se encuentra afectado por una gran cantidad de plagas, las cuales de no ser manejadas adecuadamente podrían reducir en gran medida su producción (Alvarado y Díaz, 2007).

Los insectos-plaga se encuentran entre los principales organismos que afectan directa o indirectamente el cultivo de banano, por este motivo resulta importante reconocer las diferentes especies de insectos que atacan el cultivo, sus hábitos y las prácticas de manejo para así poder mantener las poblaciones dañinas por debajo de los niveles económicos que causan daño.

Entre las plagas de mayor importancia en el cultivo de banano encontramos el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y el picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) (Osorno y Mejía, 2006).

2.1.8. Picudo negro

El picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) es una plaga de gran importancia en el banano, plátano y ensete. El picudo adulto mide entre 10 y 15 mm, vive libremente aunque resulta muy común encontrarlo entre las vainas foliares, en el suelo, en la base de la mata o en asocio con el resto del cultivo. Resulta activo en la noche y muy susceptible a la desecación, los adultos pueden permanecer en la misma mata por periodos extensos de tiempo, y solo una pequeña parte de ellos podrá movilizarse a una distancia mayor de 25 metros durante un periodo de 6 meses. Los picudos vuelan raramente. La diseminación se da principalmente a través del material de plantación infestado (Gold y Messiaen, 2000).

2.1.8.1. Origen y distribución

El picudo negro (*C. sordidus*) fue registrado por primera vez en el Sudeste de Asia, posteriormente se ha ido propagando a todas las zonas cultivadoras de Musáceas. Los

problemas con este insecto parecen ser más severos en el plátano, los bananos de cocción de altiplanos y en los del género Ensete (Gold y Messiaen, 2000). Actualmente se encuentra en todas las zonas dentro de las cuales se cultiva banano, tanto en países tropicales y subtropicales, este insecto tiene una mejor adaptación en lugares húmedos (Tazán, 2003).

2.1.8.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del picudo negro es la siguiente (Zarazaga y Lyal, 2016):

- Reino: Animalia
- Phylum: Artrópoda
- Clase: Insecta
- Orden: Coleoptera
- Familia: Dryophthoridae
- Género: *Cosmopolites*
- Especie: *sordidus*
- Nombre científico: *Cosmopolites sordidus*

2.1.8.3. Morfología y biología del picudo negro

El ciclo de vida del picudo negro comprende entre 30 y 40 días (Ubilla, 2007). La especie presenta un comportamiento críptico ya que los adultos poseen una actividad nocturna, ocultándose durante el día en la vegetación. Las larvas actúan en el cormo, a lo cual si se corta el pseudotallo y se explora en el cormo, son visibles las galerías. El ataque del picudo negro puede interferir en el establecimiento de las parcelas de banano y en el acortamiento de su vida útil. Se encuentran atraídos por los compuestos volátiles que exudan las plantas cortadas y dañadas. Los picudos vuelan raramente y los desplazamientos de los adultos son muy cortos, la diseminación se efectúa por medio del material de propagación infestado (Armendáriz, *et al.*, 2016).

Tanto los machos como las hembras poseen el mismo aspecto y el mismo comportamiento, tienen la forma típica de los escarabajos, con una apariencia alargada, de ahí el nombre de picudos. Existen alrededor de 100.000 especies de esta familia en la naturaleza. Los adultos

presentan una vida sumamente larga para un insecto (hasta 4 años). Durante el día se refugian en el interior de las plantas y en residuos de plantas. En los sustratos húmedos, el picudo puede sobrevivir sin tener que alimentarse durante algunos meses (Armendáriz, *et al.*, 2014).

Bajo las condiciones tropicales el tiempo que le toma a un huevo en convertirse en un adulto es de ocho semanas, aunque también puede alargarse varias semanas, esto según la variedad, las condiciones climáticas existentes, la edad y el estado en el que se encuentra la planta. El desarrollo respectivo de los huevos no se da en temperaturas inferiores de 12 °C (Armendáriz, *et al.*, 2016).

Los huevos de este insecto son blancos, de forma cilíndrica y su tamaño se aproxima a 1,8 x 0,7 mm, el periodo de incubación se da entre 3 y 12 días, la larva presenta un color blanco, su apariencia es ovalada con su parte abdominal ensanchada, cabeza amarillenta y mandíbulas muy fuertes. El ciclo de vida siendo larva varía entre 10 y 165 días, la pupa es blanca y presenta gran similitud a las características externas del adulto, en este estado dura alrededor de 4 a 22 días. En la fase de adulto presenta una pigmentación rojiza que varía a pardo oscuro o negro (Carballo, 2001).

2.1.8.4. Daños

El daño es causado por la larva, este con sus mandíbulas produce galerías y perfora el cormo. En las plantaciones infestadas, más del 20% de las plantas no llegan a florecer, el peso del racimo se ve disminuido en un 28% y la reducción de los rendimientos pueden alcanzar el 85%. La profundidad de las galerías que causan las larvas varía entre 8 y 10 cm lo cual hace que se retarde la emisión de nuevas raíces, acompañado de la poca capacidad de absorción de nutrientes y posibles volcamientos (Ubilla, 2007).

Los túneles producidos en el cormo (rizoma) permiten la entrada a microorganismos los cuales causan pudriciones, acelerando la muerte de la planta. De igual forma el daño en el cormo causado por la larva detiene el desarrollo de las yemas vegetativas, por consiguiente no existe emisión de brotes, lo que ocasiona que el periodo de vida del cultivo sea menor. En la región del Caribe, incluyendo Florida y América Central, las pérdidas que ocasiona

este insecto-plaga en los cultivos son del 30 al 90 % en áreas que han sido excesivamente infectadas (Carballo, 2001).

2.1.9. Picudo rayado (*Metamasius hemipterus*)

El picudo rayado (*M. hemipterus*) es considerado como una plaga secundaria dentro del cultivo de banano, por lo general su presencia se encuentra estrechamente relacionado con plantaciones en mal estado, con deficiencias o desbalances nutricionales, especialmente en elementos como potasio y boro, así como también en plantaciones donde no se realiza el destronque oportuno, y no se pican los residuos al momento de la cosecha (Alarcón y Jiménez, 2012).

2.1.9.1. Origen y distribución

El picudo rayado se encuentra distribuido en el mundo y en todas las zonas productoras de banano del país y en ciertos lugares puede tener una mayor importancia que el picudo negro, esto debido a malas labores agrícolas y la extensión del monocultivo. Al igual que el picudo negro es atraído por las fermentaciones segregadas de las heridas producidas en la planta por otros insectos (Andrade, 2013).

2.1.9.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del picudo rayado es la siguiente (Zarazaga y Lyal, 2016):

- Reino: Animalia
- Phylum: Artrópoda
- Clase: Insecta
- Orden: Coleoptera
- Familia: Dryophthoridae
- Género: *Metamasius*
- Especie: *hemipterus*
- Nombre científico: *Metamasius hemipterus*

2.1.9.3. Morfología y biología del picudo rayado

El huevo presenta una longitud de 1.5 mm y un grosor de 0.5 mm. Externamente presenta la misma forma ovalada que el picudo negro (*C. sordidus*), pero su tiempo de eclosión demora menos, entre 5 y 7 días, otra de las diferencias es que el picudo rayado solo vive de 2 a 3 meses y las hembras pueden llegar a poner 500 huevos en el pseudotallo (Palacios, 2018).

La larva presenta un color amarillo, contiene una mandíbula más grande y más fuerte que la del picudo negro. *M. hemipterus* tiene una tamaño medio de 13.2 mm de largo, aunque se puede encontrar insectos con 15 a 18 mm, en esta fase tienen una duración de 4 a 7 semanas. Al inicio del estado de pupa la coloración del picudo rayado se torna blanquecino; finalizando esta etapa y al llegar a la adultez su color cambia por un amarillo, la medida de la pupa llega hasta 25 mm (Palacios, 2018).

El adulto de picudo rayado muestra tres manchas negras en el tórax, una central que lo atraviesa y dos paralelas a ésta, a lado y lado pero de menor longitud. Las alas son de color amarillo rojizo, con manchas negras irregulares las cuales se unen hacia la parte posterior del insecto (Alarcón y Jiménez, 2012).

2.1.9.4 Daños

Los daños del picudo rayado es causado principalmente por las larvas que consumen el pseudotallo, lo debilitan y como resultado se da el doblamiento de las plantas al momento del llenado del racimo, lo cual imposibilita las exportaciones de la fruta (Alarcón y Jiménez, 2012).

Los síntomas se presentan en las hojas ya que estas se tornan de color amarillo y se secan, lo cual da como resultado un racimo pequeño, delgado y que se madura de forma apresurada. Su daño se inicia en las calcetas externas hacia adentro, por lo cual las hojas externas son afectadas, en estado larval consume el pseudotallo hasta un metro de altura, el ataque es más severo cuando la planta presenta desbalances nutricionales, pudriciones, restos de la cosecha y fermentos (Vergara, 2015).

2.1.10. Métodos de control

Para el control del picudo negro y picudo rayado existen distintos métodos, dentro de los cuales varían de sistema a sistema y muestran la importancia y el estado en la que se encuentra la plaga (Gold y Messiaen, 2000).

a) Control Químico

A nivel comercial, las aplicaciones químicas son las más utilizadas en las bananeras. Se utilizan nematicidas con actividad insecticida e insecticidas específicos, los cuales son aplicados a la altura de la base de la planta. Tiempo atrás se utilizaba de forma continua los insecticidas cyclodiélicos pero se los dejaron de utilizar por las implicaciones ambientales. Existe la disponibilidad de organofosforados menos persistentes pero con un costo mayor. Los insecticidas son de acción rápida y eficaz. En la actualidad estos insectos han mostrado la habilidad de desarrollar resistencia a la gran mayoría de moléculas químicas (Gold y Messiaen, 2000).

b) Control Cultural

El control cultural es de gran importancia para prevenir el establecimiento y resulta el único medio comúnmente disponible mediante el cual los productores pequeños logran reducir las poblaciones establecidas. Dentro de aquello la colocación de trampas con pedazos de rizoma pueden ser muy eficaces para disminuir las poblaciones de estos insectos. Sin embargo la realización de las trampas es un trabajo laborioso y a menudo limitado por la disponibilidad de los materiales (Gold y Messiaen, 2000).

c) Control Biológico

El control biológico básicamente es la regulación de un organismo que está afectando al cultivo y generando pérdidas económicas mediante la utilización de otro organismo el cual ha sido diseñado para cumplir dicha función. El control biológico se ha extendido a una gran cantidad de organismos para el control de insectos plaga. (Rodríguez, *et al.*, 2010).

Entre estos organismos que más son utilizados como agentes de control se incluyen bacterias, virus, hongos y otros microorganismos patógenos. Estos organismos tienen como efecto y resultado la muerte de la especie de insectos que atacan, también tienen una acción antagonista ya que inhiben el desarrollo de otros organismos a través de sustancias que excretan. Entre las alternativas más óptimas en el uso de controles biológicos encontramos los hongos, más de 750 especies de hongos se han documentado infectando insectos (González, *et al.*, 2012).

Entre los principales hongos entomopatógenos encontramos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium*, *Lecanicillium lecanii* los cuales mayormente son utilizados en el control de insectos plagas, además de bacterias como *Bacillus thuringensis* y *Corynebacterium paurometabolum* los cuales han tenido gran éxito en el control de nemátodos tanto en condiciones controladas como en campo (Meneses, 2003).

2.1.11. Hongos entomopatógenos

Los primeros microorganismos identificados como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, ya que fue posible observar su respectivo crecimiento en el cuerpo de los mismos. Los hongos patógenos de insectos, mas comúnmente llamados hongos entomopatógenos, penetran, invaden y se multiplican dentro de los insectos. Una característica de suma importancia de los hongos es que no necesitan ser ingeridos por el insecto para provocar la enfermedad, ya que son capaces de penetrar a través de su cutícula (Góngora, *et al.*, 2009).

Los hongos entomopatógenos son un amplio grupo de microorganismos que proveen diversos servicios a los sistemas agroecológicos, entre los cuales está la capacidad de regular las plagas para mantenerlas en niveles adecuados (Motta y Murcia, 2011).

Dentro de las características que poseen los hongos entomopatógenos es que pueden sobrevivir de forma parásita sobre insectos y en forma saprófita sobre material vegetal en descomposición. El crecimiento saprófito da como resultado la producción de conidioforos, conidias y desarrollo micelial, lo cual permite que el hongo se pueda cultivar bajo condiciones de laboratorio. Entre los hongos entomopatógenos mas utilizados como

controladores biológicos de insectos-plagas encontramos a *Metarhizium anisopliae* (González, *et al.*, 2012).

2.1.11.1. *Metarhizium anisopliae*

El hongo *Metarhizium anisopliae* tiene un extenso rango de control sobre insectos hospederos de diferentes órdenes. El ciclo biológico de este hongo entomopatógeno consta de una fase infectiva celular en el interior del insecto y otra saprófita cuando el hongo completa su ciclo al aprovechar los nutrientes del cadáver del insecto (Acuña, *et al.*, 2015).

2.1.11.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *M. anisopliae* es la siguiente (Mancillas, 2011):

- Reino: Fungi
- División: Ascomycota
- Clase: Sordariomycetes
- Orden: Hypocreales
- Familia: Clavicipitaceae
- Género: *Metarhizium*
- Especie: *anisopliae*
- Nombre científico: *Metarhizium anisopliae*

2.1.11.3. Condiciones favorables

La temperatura afecta directamente al proceso de desarrollo de *M. anisopliae*, la respuesta ante las alteraciones de temperatura se considera como un punto de partida en la selección de cepas fúngicas con potencial para el control biológico ya que incide en la persistencia en el campo y por tanto su eficacia (Márquez, *et al.*, 2016).

La humedad relativa resulta un factor esencial para la germinación de los conidios, no solo afecta la eficacia, sino también la sobrevivencia del entomopatógeno en condiciones

naturales; por lo general se necesita una alta humedad relativa para la germinación de los conidios. La óptima germinación ocurre con un 100% de humedad relativa, con un 92,5% puede observarse cierta germinación y con valores inferiores al 85% no se logran resultados satisfactorios (Márquez, *et al.*, 2016).

2.1.11.4. Mecanismo de acción

Los insectos muertos por este hongo son cubiertos de forma total por micelio, el cual en su inicio es de color blanco pero se torna verde, cuando el hongo esporula. Respecto al mecanismo de acción de *M. anisopliae* presenta una ventaja sobre virus y bacterias ya que estos deben ser ingeridos por el insecto para actuar, a diferencia de este hongo el cual puede ingresar por contacto debido a un proceso de infección en la cutícula del insecto. La eficiencia de los hongos entomopatógenos en campo se ve condicionada por diversos factores abióticos como la radiación solar, la temperatura y la humedad, por lo cual se busca adicionar adyuvante que permitan proteger el ingrediente activo para así mantener su persistencia residualidad (Acuña, *et al.*, 2015).

El proceso infectivo se da cuando las esporas del hongo son retenidas por contacto, a su vez encuentra un espacio ideal para establecer la asociación patógeno-hospedero e iniciar la formación del tubo germinativo. Es aquí cuando el hongo inicia la excreción de enzimas hidrolíticas las cuales van destruyendo la cutícula y proporcionando a su vez nutrientes al hongo. Estas enzimas ayudan al proceso de penetración por presión mecánica. Una vez en su interior el hongo desarrolla cuerpo hifales los cuales se diseminan a través del hemocoele e invaden diversos tejidos musculares y cuerpos grasos, lo cual ocasiona la muerte del insecto (Carrillo y Blanco, 2009).

2.1.11.5. Síntomas

Los síntomas mostrados por *M. anisopliae* son diversos: los adultos infectados presentan movimientos lentos, no se alimentan, las hembras no ovopositan y reducen su radio de vuelo; pueden morir en lugares distantes de donde fueron contaminados. El ciclo total de la enfermedad comprende en 8 a 10 días. Posterior a la muerte, los individuos presentan un crecimiento micelial blanco, que continua con la esporulación verde (Agüero, *et al.*, 2009).

2.1.11.6. Efectos de *M. anisopliae* en picudo negro y rayado

Diversos estudios han demostrado la efectividad de *M. anisopliae* en el control de picudos del orden Coleoptera, llegando con algunos aislamientos a obtener cerca del 100% de mortalidad, en investigaciones de laboratorio. En condiciones de campo la mortalidad ha sido levemente inferior a la mostrada en laboratorio (Ríos, 2007). *M. anisopliae* presenta un óptimo crecimiento a una temperatura de 25°C y puede crecer in vitro en un pH de 3.3-8.5, es indispensable una elevada humedad para que se puedan desarrollar los conidios (Acosta, 2006).

En Brasil se ha logrado resultados exitosos alcanzando entre el 85 y 95 % de mortalidad al usar *M. anisopliae* a una concentración de 5×10^8 permitiendo que los insectos caminaran sobre el cultivo del hongo o mediante trozos de pseudotallo tratados directamente, para que los picudos se infectaran durante la colonización (Ríos, 2007).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

La fase experimental se realizó en el laboratorio de Microbiología del Campus “La María” perteneciente a la Universidad Técnica Estatal Quevedo ubicada en el Km. 7 vía Quevedo – El Empalme cuyas coordenadas geográficas son 1° 04' 49.2 " S y 79° 30' 05.3" W, ubicada a una altura de 72 metros sobre el nivel del mar.

La fase de campo se llevó a cabo en la Hacienda “Oasis 1” ubicada en el sector La Esperanza, cantón Quevedo, provincia de Los Ríos, cuyas coordenadas geográficas son Norte 0° -58' 37.6", Este 79° 22' 32.5", con una altitud de 91 msnm, presenta un clima tropical húmedo con una temperatura media anual de 26 °C, humedad relativa de 78%, heliofanía anual de 884 horas, precipitación media anual de 2221 mm y topografía ligeramente regular.

3.2. Tipo de investigación

Se realizó una investigación de tipo exploratoria en condiciones de campo y laboratorio, donde se evaluó la eficacia de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* en el control del picudo negro (*C.sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*) en el cultivo de banano.

3.3. Método de investigación

Se utilizó el método deductivo, respaldándose en investigaciones realizadas anteriormente, donde presentan la capacidad de *M. anisopliae* como controlador biológico de picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*). Se empleó el método de observación para medir las variables que posibiliten el cumplimiento de los objetivos establecidos.

3.4. Fuente de recopilación de información

La información recolectada en el trabajo de investigación fue utilizando la observación directa de las variables analizadas (fuentes primarias), así como también de información extraída de revistas, libros, artículos científicos, sitios web, tesis de grado (fuentes secundarias).

3.7. Diseño de la investigación

En la fase de laboratorio se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con tres tratamientos y 25 repeticiones por cada especie. Para la fase de campo se utilizó el diseño de bloques completos al azar (DBCA) con tres tratamientos y seis repeticiones. El esquema del análisis de varianza para la fase de laboratorio y campo se detalla en la Tabla 1 y en la Tabla 2 respectivamente.

Tabla 1. Esquema del análisis de varianza utilizado en la fase de laboratorio:

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	2
Error experimental	48
Total	50

Tabla 2. Esquema del análisis de varianza utilizado en la fase de campo:

Fuentes de variación	Grados de libertad
Bloques	5
Tratamientos	2
Error experimental	10
Total	17

3.8. Instrumentos de investigación

3.8.1. Factores en estudio

Los factores de estudio se encuentran establecidos en la aplicación de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* en el control de picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*) en condiciones de campo y laboratorio.

3.8.2. Tratamientos en estudio

Fase de laboratorio:

T1 Aplicación de *M. anisopliae* (Cepa1) en individuos de *C. sordidus* y *M. hemipterus*.

T2 Aplicación de *M. anisopliae* (Cepa2) en individuos de *C.sordidus* y *M. hemipterus*.

T3 Aplicación de agua destilada (testigo) en individuos de *C. sordidus* y *M. hemipterus*.

Fase de campo:

T1 *M. anisopliae* (Cepa 1) pulverizadas en trampas de pseudotallo de banano.

T2 *M.anisopliae* (Cepa 2) pulverizadas en trampas de pseudotallo de banano.

T3 Pulverización de agua destilada (testigo) en trampas de pseudotallo de banano.

3.8.3. Descripción de los tratamientos

- Tratamiento 1: este tratamiento consistió en la aplicación del hongo entomopatógeno *M. anisopliae*, con una concentración de 1×10^8 . Esta cepa es originaria del cantón Quevedo (año 2014) y es distribuida por el laboratorio MCP (Cepa 1).
- Tratamiento 2: este tratamiento consistió en la aplicación del hongo entomopatógeno *M. anisopliae*, con una concentración de 1×10^8 . Esta cepa es originaria del cantón La Concordia (año 2019) y es distribuida por el laboratorio MCP (Cepa 2).
- Tratamiento 3: este tratamiento consistió en el uso de agua destilada que no contenía ningún residuo de agentes biológicos o químicos (Testigo).

3.8.4. Manejo del experimento

Fase de laboratorio

a) Elaboración de trampas

Se realizaron veinticinco trampas tipo sándwich, elaboradas con los pseudotallos de plantas de banano cosechadas, libres de residuos químicos o biológicos, únicamente con la finalidad

de capturar especímenes de *C. sordidus* y *M. hemipterus*, para el ensayo de laboratorio. Las trampas fueron ubicadas aleatoriamente en la plantación de banano.

b) Captura del picudo negro y picudo rayado en trampas de pseudotallo

Diariamente se realizaba colectas en las trampas de pseudotallo que fueron colocadas en campo hasta alcanzar un total de setenta y cinco especímenes de picudo negro y picudo rayado. Grupos de veinticinco insectos fueron separados y acondicionados en tarrinas plásticas con pequeñas aberturas, los insectos fueron alimentados con 50 gramos de cormo y 50 gramos de pseudotallo fresco para posteriormente realizar los procedimientos de desinfección e inoculación del hongo.

c) Desinfección de picudos negros y picudos rayados

Los especímenes de picudo negro y rayado fueron desinfectados por el método de inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante 30 segundos, posteriormente se enjuagó los insectos por tres ocasiones con agua destilada estéril. Una vez desinfectados los insectos fueron colocados en tarrinas plásticas con papel filtro para su respectivo secado. Se seleccionaron los insectos más activos para garantizar la homogeneidad en los tratamientos.

d) Aplicación de las cepas de *M. anisopliae* en los insectos

La inoculación del hongo en los insectos se realizó siguiendo la propuesta de Mendoza, *et al.* (2008), mediante el método de inmersión. Los insectos fueron inmersos en una solución de 5 ml de producto en 95 ml de agua durante 30 segundos. Después de la inoculación los adultos fueron confinados en recipientes plásticos con 25 gramos de pseudotallo y 25 gramos de cormo fresco previamente desinfectado en agua en estado de ebullición por un periodo de 30 segundos. En la base de las tarrinas se colocó papel filtro para absorber el exceso de humedad que se genera por la descomposición del pseudotallo y cormo.

e) Verificación de mortalidad en insectos capturados en trampas de pseudotallo

Se verificó la mortalidad de insectos por aplicación de *M. anisopliae* diariamente. Conforme existía mortalidad los adultos fueron acondicionados de forma independiente en cajas petri,

que en su interior contenían gasa humedecida con 1 ml de agua destilada, cada caja petri fue sellada con láminas de parafilm. Posteriormente las cajas petri con los insectos en su interior fueron colocados en una incubadora (Mettler BE600) a una temperatura de 25 °C. Diariamente se revisaba las cajas para observar el crecimiento del micelio del hongo.

Fase de campo

a) Material genético

El experimento en campo fue realizado en una plantación de banano variedad Williams, utilizando pseudotallo de plantas de banano cosechadas, se realizaron trampas tipo sándwich.

b) Elaboración de trampas

Para la captura de picudos negros y rayados se realizaron trampas de pseudotallos tipo sándwich utilizando la metodología propuesta por Guzmán (2019). Su ubicación fue aleatoria, se registró su ubicación geográfica utilizando el programa Avenza Maps (versión 3.7.2), para identificar la ubicación exacta de las trampas dentro de la plantación. Por cada tratamiento se realizaban 8 trampas, dispuestas en una hectárea. En total se utilizaron 24 trampas por cada bloque en estudio.

c) Aplicación de las cepas de *M. anisopliae* en los insectos

Una vez realizadas las trampas tipo sándwich, en la parte media de la trampa se aplicó el hongo *M. anisopliae* Cepa 1, Cepa 2 y el tratamiento testigo, según corresponda. La dosis utilizada fue de 5 ml del producto (Cepa 1 o Cepa 2) en 95 ml de agua, esta mezcla era pulverizada por medio de un atomizador. Concluido el proceso de pulverización de los tratamientos, cada trampa permaneció de lado de una planta de banano adulta.

d) Captura del picudo negro y picudo rayado en trampas de pseudotallo

Posterior a los dos días de colocar las trampas tipo sándwich pulverizadas con los diferentes tratamientos, se procedió a revisar cada trampa para verificar la presencia de picudos negros,

rayados y otras especies atraídas. Los insectos encontrados en cada trampa fueron identificados y contabilizados. Veinte insectos de picudo negro y rayado encontrados en cada tratamiento fueron escogidos aleatoriamente y acondicionados en tarrinas plásticas con 25 gramos de pseudotallo y 25 gramos de cormo, previamente desinfectado para su alimentación. El mismo procedimiento se lo realizó a los cinco, siete y diez días posteriores a la instalación de las trampas.

e) Verificación de mortalidad en insectos capturados en trampas de pseudotallo

Los registros de mortalidad de los picudos negros y rayados fueron diarios hasta alcanzar 40 días después de la colecta en campo. Los picudos que morían durante el periodo de tiempo antes mencionado fueron acondicionados de forma independiente en cámaras húmedas (caja petri conteniendo gasa humedecida con 1 ml de agua destilada estéril), con este procedimiento se esperó la esporulación del hongo y se lo identificó a través de claves taxonómicas.

f) Prácticas agronómicas

Todas las labores diarias del cultivo de banano (deshije, deshoje, deschante, control de malezas, etc.) estuvieron a cargo del personal de la hacienda en donde se realizó la investigación, esto con el fin de no alterar el proceso de producción. El uso de insecticidas en el área de estudio fue restringida.

3.8.5. Registro de datos y formas de evaluación

a) Porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* y *M. hemipterus* en condiciones de laboratorio y campo usando dos cepas comerciales de *M. anisopliae*

Se registró el porcentaje de mortalidad de los insectos en estudio (*C. sordidus* y *M. hemipterus*) en condiciones de laboratorio y campo, para lo cual se contabilizó el número de insectos muertos por acción de los tratamientos, empleando la fórmula:

$$\%M = (X - Y/X) * 100$$

Donde:

% **M**= Porcentaje de mortalidad

X= Porcentaje de insectos vivos en el control

Y= Porcentaje de insectos vivos en el tratamiento

b) Eficacia de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* aplicadas en *C. sordidus* y *M. hemipterus* en condiciones de laboratorio y campo

Utilizando los porcentajes de mortalidad de los insectos de *C. sordidus* y *M. hemipterus* evaluados en condiciones de laboratorio y campo se calculó el porcentaje de eficacia dado por la acción de los tratamientos, para ello se utilizó la fórmula propuesta por Schneider-Orelli's (Barrera, *et al.*, 2014).

$$\%EC = \left(\frac{\% \text{ de mort. en parcela tratada} - \% \text{ de mort. en parcela testigo}}{100 - \% \text{ de mort. en parcela testigo}} \right) * 100$$

Donde:

% **EC**: Porcentaje de eficacia corregida

% **de mort. en parcela tratada**: Porcentaje de mortalidad en parcela tratada

% **de mort. en parcela testigo**: Porcentaje de mortalidad en parcela testigo

c) Curvas de supervivencia y tiempo letal medio (TL50) de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* sobre insectos de *C. sordidus* y *M. hemipterus* en condiciones de laboratorio y campo

Con los registros de mortalidad de los insectos expuestos a los diferentes tratamientos, se realizaron las curvas de supervivencia. Las curvas generadas indican la probabilidad de supervivencia de una determinada población con respecto al tiempo; fueron realizadas para especímenes de *M. hemipterus* capturados dos días después de instalar las trampas para cada tratamiento.

El tiempo letal medio (TL50) fue comprobado al utilizar la información de las curvas de supervivencia de cada tratamiento.

d) Identificación de especies colectadas en trampas de pseudotallo de banano

Mediante la observación directa y a través de un estereomicroscopio se identificaron las especies colectadas de picudos capturadas en las trampas. Se usaron características morfológicas que presentaban los especímenes, para ello se utilizó las claves de identificación propuestas por Sepúlveda y Rubio (2009). Se usó el microscopio con cámara Dinoxcope para capturar las imágenes de un ejemplar de cada especie de picudo encontrado.

3.9. Tratamientos de los datos

Para analizar los resultados de porcentaje de mortalidad y eficacia del hongo *M. anisopliae* en especímenes de picudos negros y rayados capturados en campo se realizó un análisis de varianza, además se empleó la prueba de Tukey para la comparación de las medias obtenidas. El análisis descrito anteriormente se utilizó para los datos de especímenes capturados en campo a los dos, cinco, siete y diez días posteriores a la instalación de las trampas con los distintos tratamientos.

Para analizar los resultados de porcentaje de mortalidad y eficacia del hongo *M. anisopliae* en especímenes de picudos negros y rayados inoculados en laboratorio se realizó pruebas de Chi² de Pearson, de esta forma se verificó si los tratamientos en estudio contribuyen a la mortalidad de *C. sordidus* y *M. hemipterus*.

Los resultados de supervivencia de picudos rayados en condiciones de campo capturados en trampas tratadas a los dos días posteriores a la instalación se lo realizó utilizando el análisis de curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. Similitudes entre las curvas obtenidas fueron sujetas a la prueba de Chi² Long Rank ($P < 0.05$), para las comparaciones entre los tratamientos se usó el método de Holm-Sidak ($P < 0.05$). Los resultados del análisis permitieron identificar el tiempo letal medio (TL50) entre los tratamientos.

Los datos obtenidos fueron tabulados en tablas de Microsoft Excel, posteriormente se analizaron estadísticamente con herramientas de análisis de este programa, además se usó el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo, *et al.*, 2018).

3.10. Recursos humanos y materiales

3.10.1. Recursos humanos

- Docente Directora del Proyecto de investigación.
- Estudiante a cargo de la investigación.
- Personal del Departamento Técnico designado por la empresa.
- Jornales de campo.

3.10.2. Recursos materiales

a) Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitación.
- Pinzas finas.
- Cajas petri.
- Agua destilada.
- Parafilm.
- Incubadora Memmert BE600.
- Estereomicroscopio
- Alcohol.
- Hipoclorito de sodio.
- Balanza.
- Tarrinas plásticas.
- Gasa.
- Microscopio Dinoxcope

b) Materiales de campo

- Machete.
- Atomizadores.
- Cámara fotográfica.

- Guantes.
- Pintura en spray.
- Tarrinas plásticas.
- Botellas plásticas.
- Gasa.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Porcentaje de mortalidad de picudo negro y rayado capturados en trampas de pseudotallo tratadas con *M. anisopliae* en laboratorio

a) Análisis en especímenes de picudo negro

Las evaluaciones de mortalidad en individuos de picudo negro se realizaron diariamente hasta completar 40 días. Al iniciar las pruebas de laboratorio con una población constante se definió la mayor eficacia al porcentaje de mortalidad del 64 % de picudos por la aplicación de la Cepa 2 (tratamiento 2), seguido por la Cepa 1 (tratamiento 1) con 40 % (Figura 1).

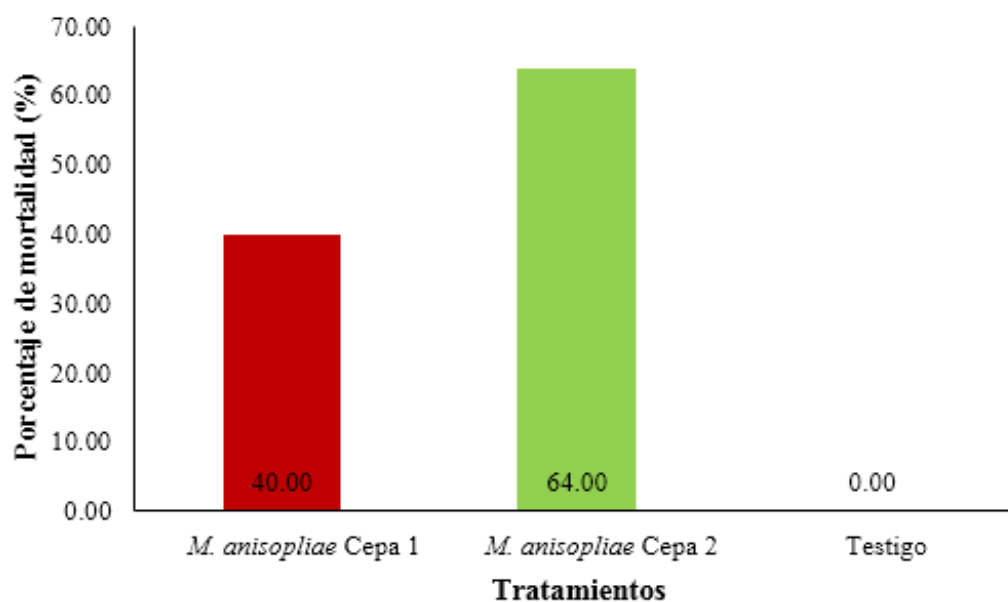


Figura 1. Medias de porcentaje de mortalidad de especímenes de picudo negro (*C. sordidus*) tratadas con diferentes cepas de *M. anisopliae* y agua destilada (testigo).

b) Análisis en especímenes de picudo rayado

Las evaluaciones de mortalidad en individuos de picudo rayado se realizaron diariamente hasta completar 40 días. Al iniciar las pruebas de laboratorio con una población constante se

definió la mayor eficacia al porcentaje de mortalidad del 88 % de picudos por la aplicación de la Cepa 2 (tratamiento 2), seguido por la Cepa 1 (tratamiento 1), con 52 % (Figura 2).

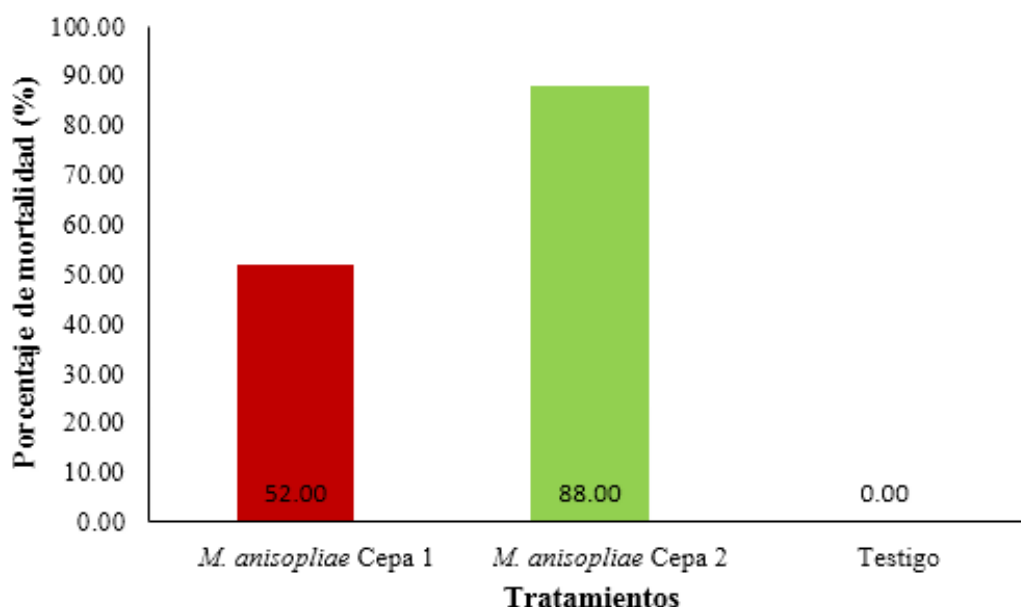


Figura 2. Media de porcentajes de mortalidad de especímenes de picudo rayado (*M. hemipterus*) tratados con diferentes cepas de *M. anisopliae* y agua destilada (Testigo).

4.1.2. Porcentaje de mortalidad de picudo negro y rayado inoculados con *M. anisopliae* en campo

a) Análisis en especímenes de picudo negro

La ubicación de las trampas en plantaciones de banano tratadas con *M. anisopliae* Cepa 2 (tratamiento 2) alcanzó un porcentaje de 32.33 % con relación al tratamiento testigo de *C. sordidus*, siendo este el mayor porcentaje de mortalidad entre los 2 a 10 días de muestreo. Este resultado define la eficiencia de la cepa desde el segundo hasta el décimo día de captura evidenciando una alta tasa de mortalidad de picudos comparado con la Cepa 1 (tratamiento 1) (Figura 3).

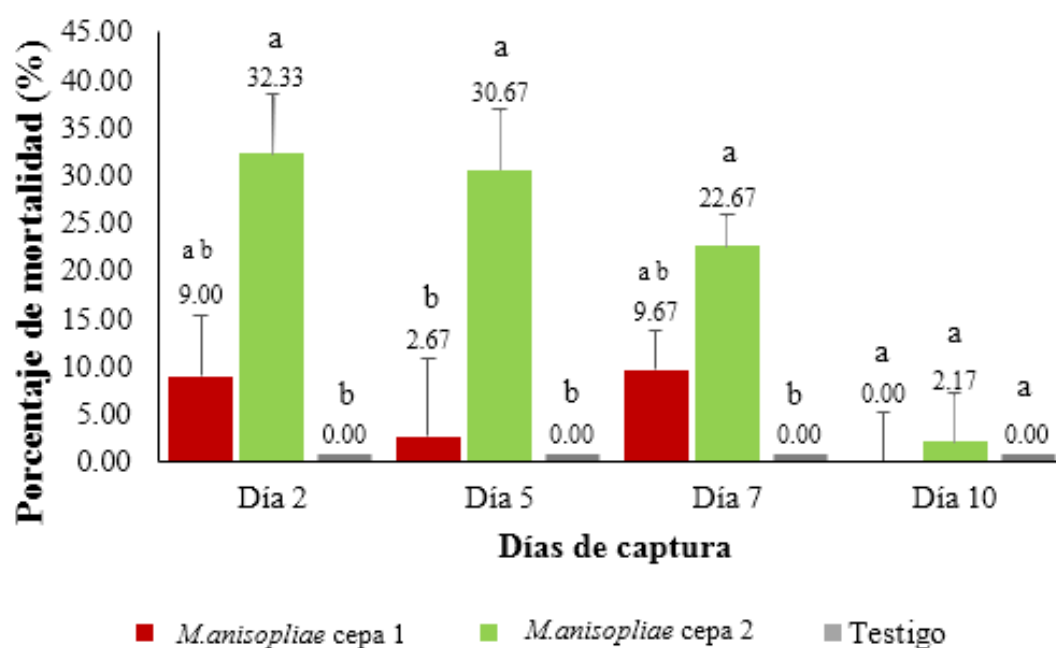


Figura 3. Medias de porcentajes de mortalidad de los tratamientos de *M. anisopliae* en especímenes de picudo negro en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Prueba de Tukey; $P < 0,05$).

b) Análisis en especímenes de picudo rayado

La ubicación de las trampas en plantaciones de banano tratadas con *M. anisopliae* Cepa 1 (tratamiento 1) y *M. anisopliae* Cepa 2 (tratamiento 2) se comportaron de forma similar al segundo y quinto día en individuos de *M. hemipterus*.

A medida que transcurren los días, la Cepa 2 continúa causando mortalidad en los individuos mientras que la Cepa 1 reduce su acción. Se destacan los mayores porcentajes de mortalidad con la aplicación de *M. anisopliae* Cepa 2 y *M. anisopliae* Cepa 1 con registros del segundo día con 51.83 y 30.67 % respectivamente (Figura 4).

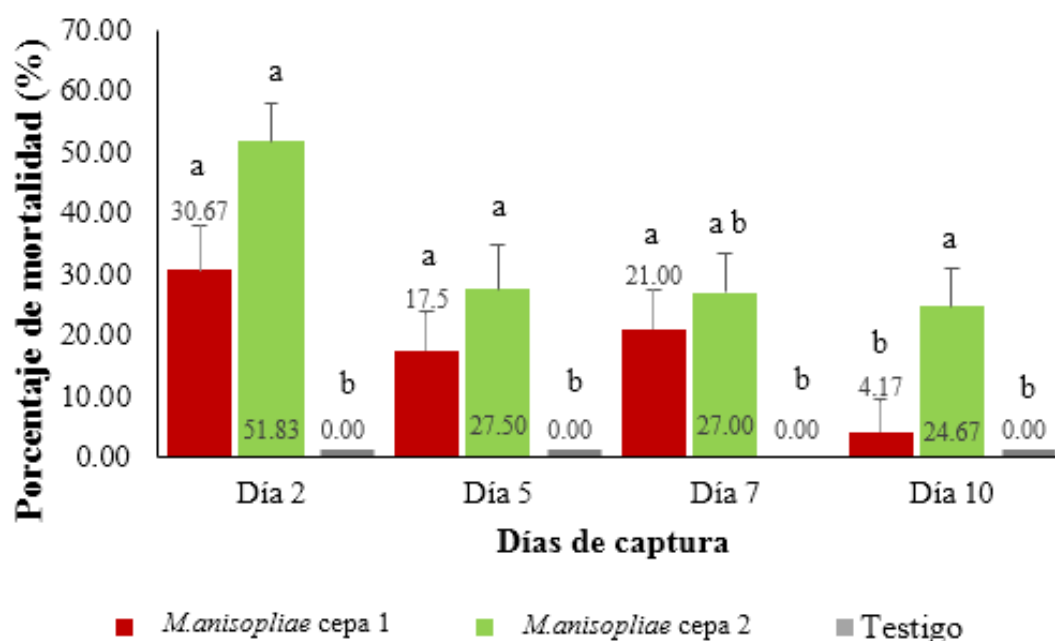


Figura 4. Medias de porcentajes de mortalidad de los tratamientos de *M. anisopliae* en especímenes de picudo rayado en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Prueba de Tukey; $P < 0,05$).

4.1.3. Porcentaje de eficacia de *M. anisopliae* aplicado en picudos negros y rayados en condiciones de laboratorio

Las evaluaciones de eficacia en individuos de picudo negro y rayado se realizaron diariamente hasta completar 40 días de análisis. Al iniciar las pruebas de laboratorio con una población constante se definió el mayor porcentaje de eficacia del 64 % de picudos negros y 88 % en picudos rayados, al utilizar la Cepa 2 (tratamiento 2) del hongo *M. anisopliae*, marcada superioridad con la Cepa 1 (tratamiento 1).

Los resultados de porcentajes de eficacia en condiciones de laboratorio son iguales a los resultados de porcentajes de mortalidad tanto en picudo negro como rayado debido a que no se registró mortalidad en el tratamiento testigo.

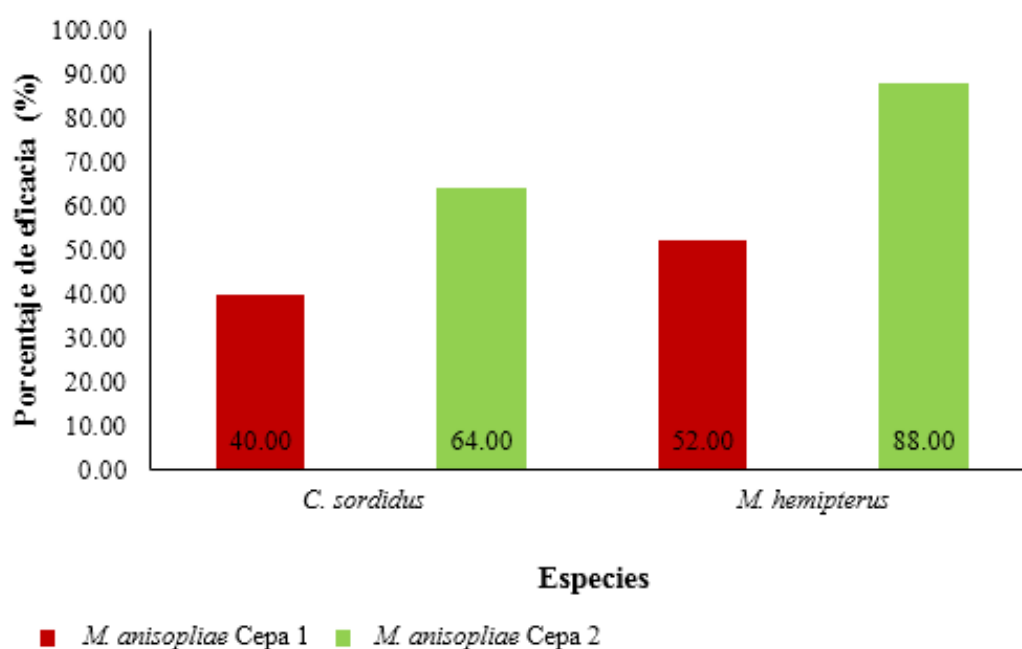


Figura 5. Porcentajes de eficacia de los tratamientos de *M. anisopliae* en especímenes de picudo negro y rayado en condiciones de laboratorio.

4.1.4. Porcentaje de eficacia de *M. anisopliae* aplicado en picudos negros y picudos rayados en condiciones de campo

a) Análisis en especímenes de picudo negro

Los porcentajes de eficacia por la acción de dos cepas comerciales de *M. anisopliae* sobre especímenes de picudo negro evidencian que la Cepa 2 (tratamiento 2) mostró el mayor porcentaje de eficacia con una media de 30.50% estadísticamente superior a la aplicación de la Cepa 1 (tratamiento 1) que presentó 8.00%, una vez transcurrido los 40 días de análisis (Figura 6).

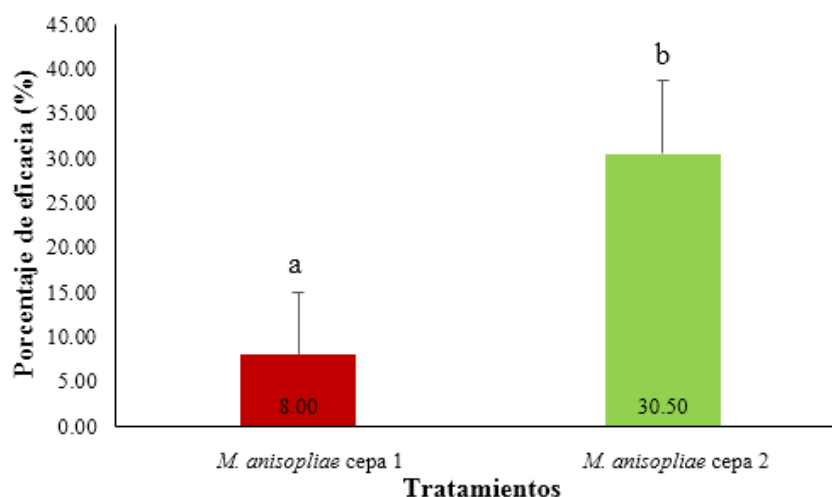


Figura 6. Media de porcentajes de eficacia de los tratamientos de *M. anisopliae* en especímenes de picudo negro en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$).

b) Análisis en especímenes de picudo rayado

Los porcentajes de eficacia por la acción de dos cepas comerciales *M. anisopliae* sobre especímenes de picudo rayado evidencian que la Cepa 2 (tratamiento 2) mostró el mayor porcentaje de eficacia con una media de 28,17% estadísticamente superior a la aplicación de la Cepa 1 (tratamiento 1) que presentó 18,17%, una vez transcurrido los 40 días de análisis (Figura 7).

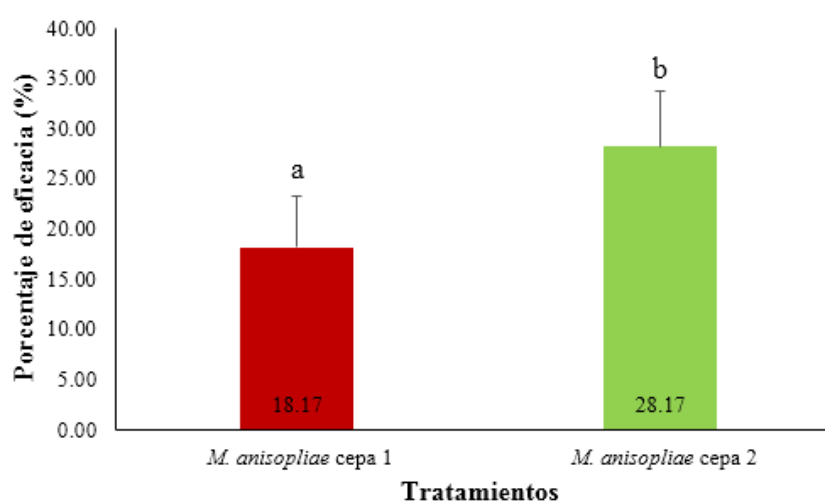


Figura 7. Medias de porcentajes de eficacia de los tratamientos de *M. anisopliae* en especímenes de picudo rayado en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$).

4.1.5. Curvas de supervivencia y tiempo letal medio de especímenes de picudos negros y rayados tratados con *M. anisopliae* en laboratorio

a) Análisis de especímenes de picudo negro

La Cepa 2 de *M. anisopliae* provocó la mayor mortalidad de picudos negros, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos en estudio. Iniciando con una población constante, la probabilidad de supervivencia de los insectos en el caso de la Cepa 1 y Cepa 2 es del 60 % y 44 % respectivamente. En condiciones de laboratorio la probabilidad de supervivencia es menor, debido a las condiciones controladas las cuales favorecen a la colonización y desarrollo del hongo. Solo fue posible determinar el tiempo letal medio (TL50) en la Cepa 2, el cual fue de 20 días (Figura 8B).

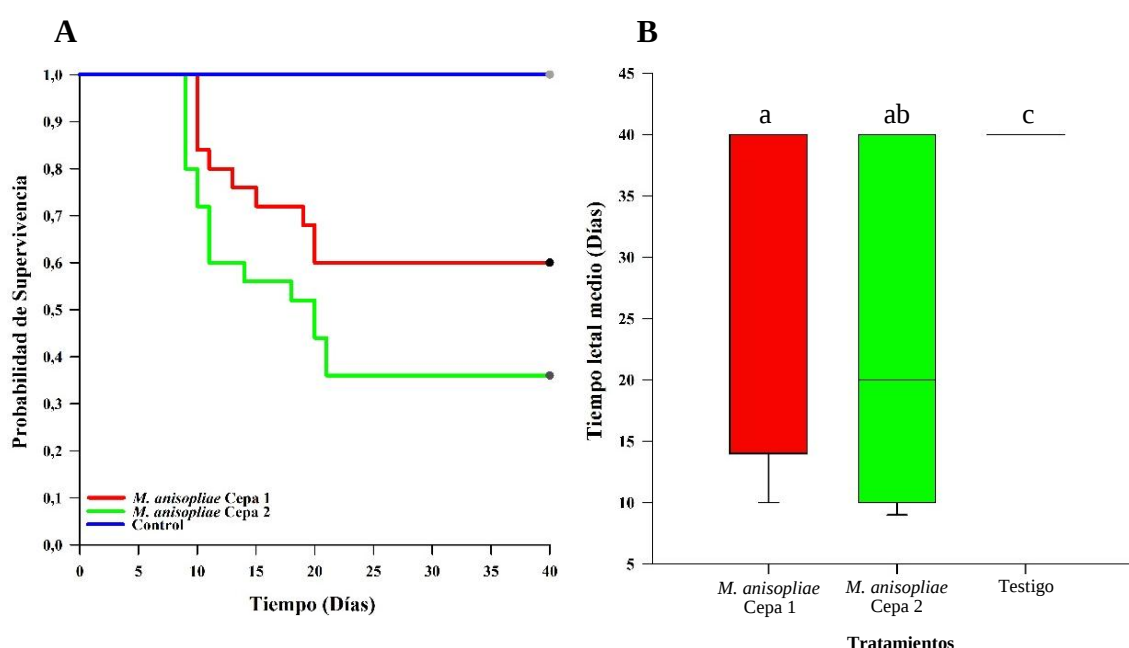


Figura 8. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo negro tratados con cepas comerciales de *M. anisopliae* y agua destilada (testigo) en condiciones de laboratorio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0,05).

b) Análisis en especímenes de picudo rayado

La Cepa 2 de *M. anisopliae* provocó la mayor mortalidad de picudos rayados, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos en estudio. Iniciando con una población constante, la probabilidad de supervivencia de los insectos en el caso de la Cepa 1 y Cepa 2 fue del 48 % y 12 % respectivamente. En condiciones de laboratorio la probabilidad de supervivencia es menor, debido a las condiciones controladas las cuales favorecen a la colonización y desarrollo del hongo. El tiempo letal medio (TL50) fue de 17 días para la Cepa 1 y de 9 días para la Cepa 2 (Figura 9B).

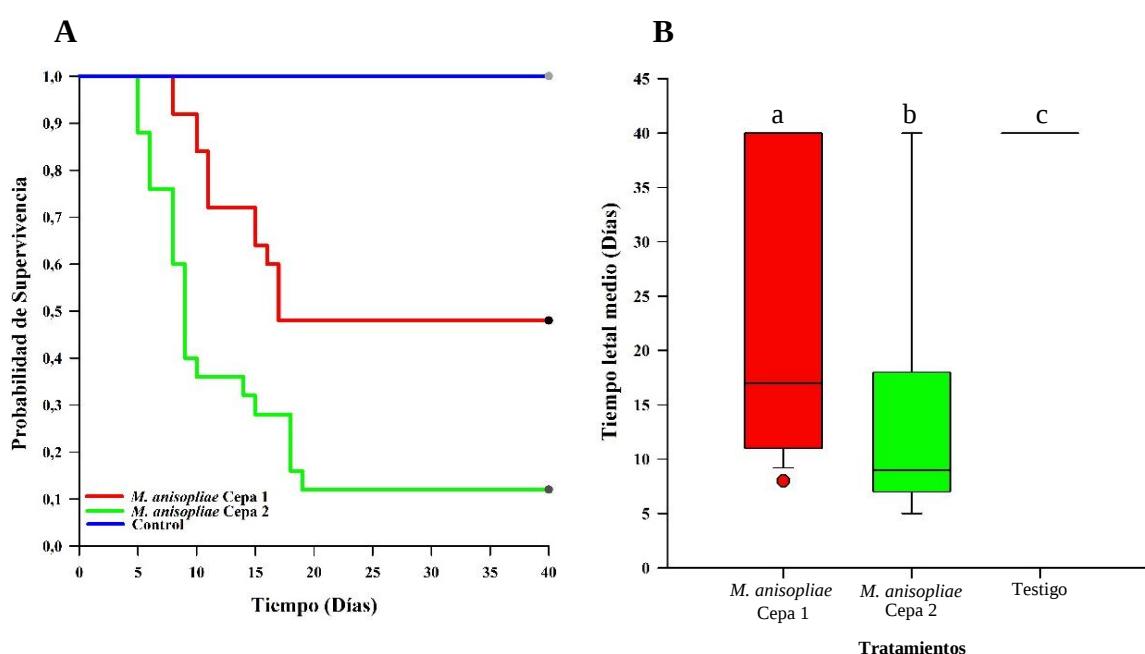


Figura 9. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo rayado tratados con cepas comerciales de *M. anisopliae* y agua destilada (testigo) en condiciones de laboratorio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

4.1.6. Curvas de supervivencia y tiempo letal de especímenes de picudo rayado inoculados con *M. anisopliae* en campo

La Cepa 2 de *M. anisopliae* provocó la mayor mortalidad de picudos negros colectados en campo, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos en estudio. Iniciando con una población constante, la probabilidad de supervivencia de los insectos en el caso de la

Cepa 1 y Cepa 2 fue del 82 % y 72 % respectivamente. Cabe acotar que los insectos en mención poseen una alta probabilidad de supervivencia en condiciones de campo debido a la exposición de las cepas a condiciones ambientales que pueden reducir la actividad patogénica en los insectos. No fue posible determinar el tiempo letal medio (TL50) en ninguno de los tratamientos debido a que los insectos en estudio no alcanzaron el 50 % de mortalidad (Figura 10B).

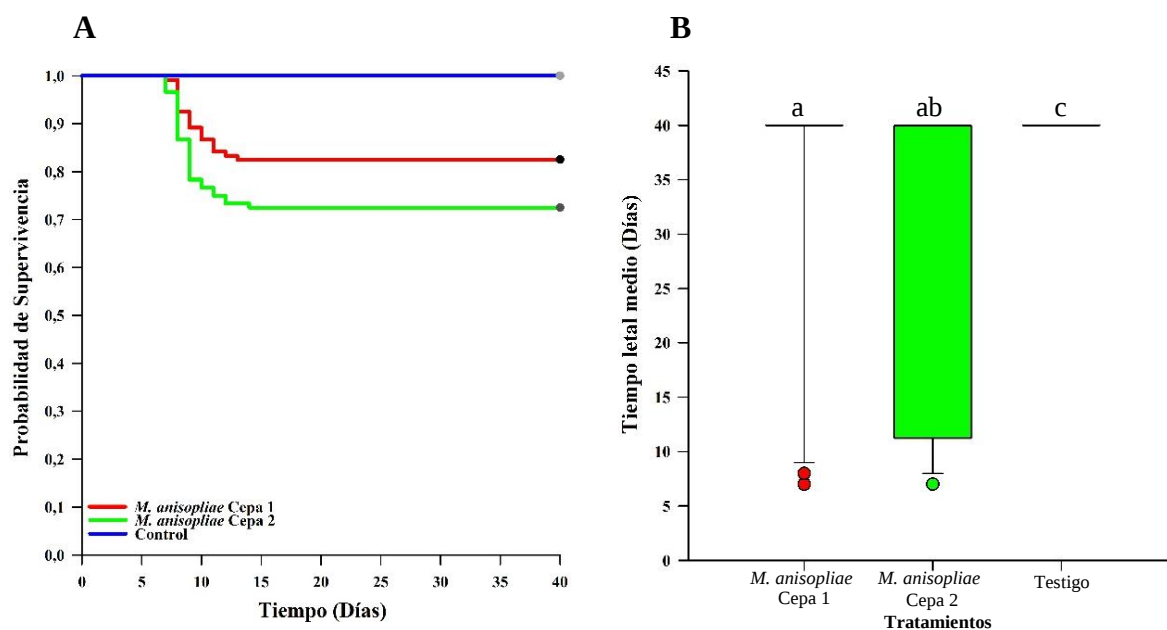


Figura 10. A) Curvas de supervivencia y B) boxplot del tiempo letal medio (TL50) de especímenes de picudo rayado tratados con dos cepas comerciales de *M. anisopliae* y agua destilada (testigo) en condiciones de campo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

4.1.7. Identificación y cuantificación de especies de picudos capturados en trampas de pseudotallo de banano

Los especímenes de picudos capturados en las trampas de pseudotallo tipo sándwich fueron identificados utilizando la guía de Sepúlveda y Rubio (2009). Fue posible identificar tres especies de picudos: *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* y *Polytus mellerborgii*.

La cantidad de especímenes colectados se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Cantidad de ejemplares de picudos capturados en trampas de pseudotallo.

Especies colectadas	Total
<i>Cosmopolites sordidus</i>	297
<i>Metamasius hemipterus</i>	680
<i>Polytus mellerborgii</i>	119



Figura 11. Vista dorsal de ejemplar de *C. sordidus* capturados en trampas de pseudotallo.



Figura 12. Vista dorsal de ejemplar de *M. hemipterus* capturado en trampas de pseudotallo.



Figura 13. Vista dorsal de ejemplar de *P. mellerborgii* capturado en trampas de pseudotallo.

4.1.8. Discusión

En el experimento de mortalidad en laboratorio se evidenció que la Cepa 2 de *M. anisopliae* permitió la mayor mortalidad de picudos negros con valores de 40 y 64% (Cepa 1 y 2 respectivamente) y en picudos rayados con valores de 52 y 88% (Cepa 1 y 2 respectivamente). Estos resultados demuestran que *M. anisopliae* es más eficiente en condiciones de laboratorio que en condiciones de campo. Las condiciones climáticas juegan un papel importante en el correcto desarrollo de hongos entomopatógenos en condiciones de campo (Bustillo, 2006). Posiblemente las condiciones ambientales interfirieron en el correcto desarrollo del hongo entomopatógeno, la humedad relativa es un factor determinante en la germinación de los conidios. La óptima germinación ocurre con un 100% de humedad relativa, con un 92,5% puede observarse cierta germinación y con valores inferiores al 85% no se logran resultados satisfactorios (Márquez, *et al.*, 2016).

En la fase de campo, fue posible evidenciar que al realizar aplicaciones del hongo *M. anisopliae* pulverizadas en trampas de pseudotallo, los insectos *C. sordidus* y *M. hemipterus* son atraídos por los exudados de las plantas recién cortadas así como lo mencionan (Gold y Messiaen, 2000). Una vez dentro de la trampa, los insectos logran infectarse por acción del hongo, el cual penetra, invade y se multiplica en su interior. Este proceso ocurre debido a que las esporas del hongo son retenidas por contacto y se establece la asociación patógeno-hospedero, la cual inicia con la formación del tubo germinativo. Posteriormente da lugar a la excreción de enzimas hidrolíticas las cuales destruyen la cutícula y se apoderan de los nutrientes de su hospedero para desarrollarse, lo cual lo lleva a la muerte (Carrillo y Blanco, 2009).

El porcentaje de mortalidad tanto en condiciones de campo como en laboratorio varía entre las cepas de *M. anisopliae*. En este estudio se usaron cepas comerciales aisladas en diferentes años y localidades. La Cepa 1 fue aislada en el año 2014 y es procedente del cantón Quevedo (Los Ríos), mientras que la Cepa 2 fue aislada en el año 2019 y es procedente del cantón La Concordia (Esmeraldas). Aunque la Cepa 1 pertenezca a la misma provincia en la que se realizó el estudio no mostró alta patogenicidad en los picudos negros y rayados, posiblemente la eficiencia de esta cepa al ser guardada no se utilizó el inóculo suficiente o no se respetó el tiempo óptimo de crecimiento de los mismos para obtener una esporulación

adecuada, lo cual con el paso del tiempo da lugar a la pérdida de la cepa, tal como lo mencionan Panizo, *et al.*, (2005), quienes aseguran que para mantener y conservar hongos durante largos años, es de vital importancia la utilización de una alta fuente de inóculo.

En los experimentos de mortalidad de *C. sordidus* en campo se pudo observar que la Cepa 2 de *M. anisopliae* mostró el mayor porcentaje de mortalidad, conforme pasaron los días los valores fueron decreciendo y no logró mantener los porcentajes de mortalidad, coincidiendo con (Delgado, 2000), quien manifiesta que *M. anisopliae* no logra mantener bajos los niveles poblacionales de plaga. En el caso de picudo rayado la situación fue similar, la Cepa 2 mostró mayor porcentaje de mortalidad alcanzando el valor de 51.83%; resultado similar al obtenido por Castro (2012), quien en su trabajo de investigación reportó valores que fluctúan entre 40 y 57% de mortalidad.

En lo que respecta a porcentaje de eficacia de las cepas de *M. anisopliae* en condiciones de campo, la Cepa 2 mostró mayor eficacia para picudo negro (30.50%) y para picudo rayado (28.17%). Estos resultados están directamente relacionados con los resultados obtenidos en porcentaje de mortalidad. Es necesario mencionar que la eficacia en condiciones de campo de las cepas de hongos entomopatógenos es poco controlable y depende de una serie de factores como la patogenicidad de la cepa, el sustrato, conservación, aplicación del producto, la temperatura, el desarrollo del insecto, la humedad y radiación solar (Perera, *et al.*, 2011).

Los resultados de curva de supervivencia también están relacionados con los valores de mortalidad obtenidos en los diferentes ensayos con las dos especies de picudos (negro y rayado). Las curvas obtenidas muestran que existe menor probabilidad de supervivencia tanto de picudo negro en condiciones de laboratorio como de picudo rayado en condiciones de campo y laboratorio al ser infectados con la Cepa 2 del hongo *M. anisopliae*. Lo expuesto anteriormente coincide con otros estudios en donde es posible evidenciar el potencial del hongo mostrando un grado de infestación alto debido al desplazamiento y contactos entre insectos, además la ventaja que supone el hecho de que *M. anisopliae* pueden ser encontrados en condiciones naturales del suelo (López, 2018).

Utilizando el análisis de supervivencia fue posible identificar el tiempo letal medio de las especies de picudo negro y rayado tratadas con diferentes cepas de hongo entomopatógeno. Los resultados obtenidos muestran que el tiempo letal medio (TL50) de picudos negros

inoculados con la Cepa 2 en condiciones de laboratorio fue de 20 días, estos resultados se aproximan a los obtenidos por Castiñeiras, *et al.*, (1991), quienes obtuvieron rangos entre 10 y 23 días y a los de Vargas, (2017) que evidenció un resultado de 18 días, lo que indica que la cepa utilizada no tiene una buena velocidad para alcanzar la mortalidad del 50 % de individuos en estudio. La cepa evaluada no presentó una buena adaptabilidad al ambiente del ensayo. El tiempo letal medio de picudos rayados inoculados con la Cepa 1 fue de 17 días y con la Cepa 2 el resultado fue de 9 días, para esta especie la Cepa 2 presentó una rápida patogenicidad comparada con la Cepa 1. No existen registros del tiempo letal medio utilizando el hongo *M. anisopliae* en picudos rayados. Los resultados obtenidos muestran que el tiempo letal medio también varía entre las cepas de hongos entomopatógenos.

En el presente estudio, fue posible identificar las especies *C. sordidus*, *M. hemipterus* y *P. Mellerborgii*, esta última especie ha sido reportada en otros países atacando plátano (Muñoz, 2007), lo que indica que posiblemente esta especie también está relacionada con los daños de cormos o pseudotallos de banano en la región. En países como Colombia existen registros de seis especies de la subfamilia Dryophthorinae asociadas a plantas de plátano y banano: *C. sordidus*, *M. hemipterus*, *Metamasius hebetatus*, *Metamasius submaculatus*, *Rhyncophorus palmarum* y *Polytus mellerborgii* (Sepúlveda y Rubio, 2009).

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la Cepa 2 del hongo *M. anisopliae* con procedencia del cantón La Concordia tiene un alto potencial en el control del picudo negro y rayado y se puede utilizar dentro de los planes de manejo integrado de plagas en el cultivo de banano de la región. Es necesario considerar que picudos negros son más resistentes al efecto del hongo *M. anisopliae* y que en condiciones de campo la eficacia del hongo puede ser afectada por las condiciones ambientales. Se requieren otros estudios que permitan potencializar el efecto de las diferentes cepas de hongos entomopatógenos en condiciones de campo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El mayor porcentaje de mortalidad en condiciones de laboratorio para picudo negro y rayado se produjo al utilizar la Cepa 2 de *M. anisopliae* con valores de 64 % y con 88% respectivamente.
- El mayor porcentaje de mortalidad en condiciones de campo para picudo negro y rayado se produjo al utilizar la Cepa 2 de *M. anisopliae* capturados a los dos días después de colocadas las trampas con valores de 32,33 % y 51,83 % respectivamente.
- El mayor porcentaje de eficacia utilizando el hongo *M. anisopliae* en condiciones de campo se produjo utilizando la Cepa 2 tanto para picudo negro con 30.50 % como para picudo rayado con 28,17 %.
- El tiempo letal medio (TL50) para picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*) inoculados con la Cepa 2 de *M. anisopliae* en condiciones de laboratorio fue de 20 días y 9 días respectivamente.
- Se identificaron 3 especies de picudos asociados en trampas de pseudotallo de banano: *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* y *Polytus mellerborgii*.
- Esta investigación aporta resultados útiles para el manejo integrado de cultivo de Musáceas en zonas tropicales que ayudaran a mejorar la regulación del manejo de plagas y contribuir así a una mejor calidad de los sistemas agrícolas más sostenibles de este sector.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda utilizar la cepa 2 de *M. anisopliae* y probar otro tipo de formulación para aplicaciones en campo, sin embargo, es necesario explorar el uso de diferentes cepas, dosis y diferentes zonas ecológicas en las que se cultive banano.
- Se recomienda realizar las aplicaciones de la Cepa 2 de *M. anisopliae* en condiciones de campo cada 8 días durante las primeras horas de la mañana, considerar la dosis utilizada en la presente investigación (5 ml de producto comercial / en 95 ml de agua).
- Considerar el manejo y control biológico no solamente de *C. sordidus* y *M. hemipterus*, sino también para otras especies como *P. mellerborgii* que también pueden afectar el correcto desarrollo de las plantaciones de banano del país.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

- Acosta, J. (2006). Evaluación de hongos entomopatógenos como controladores biológicos de *Scutigerella immaculata*. Tesis Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. p. 32.
- Acuña, M; García, C; Rosas, N; López, M y Saínz, J. (2015). Formulación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra *Heliothis virescens* (Fabricius). Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 31 (3): 219-226.
- Agüero, J; Escoto, J y Juárez, E. (2009). Evaluación de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa, Monte Rosa, de *Metarhizium anisopliae* para el manejo de *Cosmopolites sordidus*. Campus Agropecuario 1 y 2 de la UNAM León, 2009. Tesis Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. León, Nicaragua. p. 23-31.
- Alarcón, J y Jiménez, Y. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo del plátano. (En línea). Consultado el 24 de Septiembre de 2019. Disponible en http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/Docs_Resources_2015/TR4/cartilla-platano-ICA-final-BAJA.pdf
- Alvarado, A y Díaz, M. (2007). Guía práctica de plagas y enfermedades en plátano y guineo. (En línea). Consultado el 30 de Septiembre del 2019. Disponible en [file:///C:/Users/user/Downloads/4889523_778763%20\(2\).PDF](file:///C:/Users/user/Downloads/4889523_778763%20(2).PDF)
- Andrade, R. (2013). Evaluación del picudo negro y rayado en el cultivo de banano. (En línea). Consultado el 3 de Octubre del 2019. Disponible en https://www.academia.edu/5355955/EVALUACION_DE_PICUDO_NEGRO_Y_RAYADO_EN_EL_CULTIVO_DE_BANANO
- Armendáriz, I; Landázuri, P y Ulloa, S. (2014). Buenas prácticas para el control del picudo del Plátano, *Cosmopolites sordidus*, en Ecuador.

- Armendáriz, I; Landázuri, P; Taco, J y Ulloa, S. (2016). Efectos del control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) en el plátano. *Agronomía Mesoamericana*, 27 (2): 319-327.
- Badii, M; Landeros, J. (2015). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Cultura científica y tecnológica*, (19).
- Balcazar, J. (2014). Plan de exportación de banano variedad Cavendish Valery de Ecuador a Adriafruit Italia SpA. Tesis en Administración de Agronegocios. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Zamorano, Honduras. p. 1.
- Barrera, G; Gómez, J; Cuartas, P; León, G y Villamizar, L. (2014). Caracterización morfológica, biológica y genética de un aislamiento Colombiano de granulovirus de *Erinnyis ello* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(2): 129-140.
- Bustillo, A. (2006). Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2): 101-116.
- Carballo, M. (2001). Opciones para el manejo del picudo negro del plátano. Hoja técnica N° 36. (En línea). Consultado el 2 de Octubre del 2019. Disponible en <http://www.sidalc.net/REPDOCA/A1750E/A1750E.PDF>
- Carrillo, M y Blanco, A. (2009). Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el control de insectos plaga. *Acta Universitaria*, 19 (2): 40-49.
- Castiñeiras, A; Ponce, E y Calderón, A. (1991). Control biológico de *Cosmopolites sordidus* (Germ) con *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sor. *Revista de protección vegetal*, 6 (2): 102-106.
- Castro, L. (2012). Potencial de disseminación de hongos entomopatógenos con picudos (*Metamasius hemipterus*). (En línea). Consultado el 08 de Agosto del 2020. Disponible en <https://servicios.laica.co.cr/laica-cv-biblioteca/index.php/Library/download/EgmBgeVYEfhJuugJIQibksDBiUsJplZb>

- DANE. (2016). Enfermedades y plagas del plátano (*Musa paradisiaca*) y el banano (*Musa acuminata*; *M. sapientum*) en Colombia. Boletín mensual. Insumos y factores asociados a la producción Agropecuaria. (En línea). Consultado el 30 de Septiembre del 2019. Disponible en https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_sep_2016.pdf
- Delgado, W. (2000). Control Microbial del picudo negro *Cosmopolites sordidus*, (Germar, 1824) usando Hongos Entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals Vuill) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch Sokorin) en el cultivo de plátano. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. p. 23.
- Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzales, L; Tablada, M y Robledo, C. Infostat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <https://www.infostat.com.ar>
- Gold, C y Messiaen, S. (2000). El picudo negro del banano: *Cosmopolites sordidus*. Plagas de Musa. Hoja divulgativa No. 4. (En línea). Consultado el 24 de Septiembre del 2019. Disponible en https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/user_upload/online_library/publications/pdfs/696_ES.pdf
- Gómez, M. (2017). Efectos de la suma térmica en el desarrollo de racimos de banano (*Musa acuminata* AAA) en dos zonas productoras distintas. Tesis Ingeniería Agropecuaria. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. p. 19-22.
- Góngora, C; Marín, P y Benavides, P. (2009). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. (En línea). Consultado el 7 de Octubre del 2019. Disponible en <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/346/1/avt0384.pdf>
- Gonzáles, C; Aristizábal, J y Aristizábal, M. (2009). Evaluación biológica del manejo de picudos nematodos fitopatógenos en plátano (*Musa* AAB). Acta agronómica, 58 (4): 260-269.

- González, M; Aguilar, C y Rodríguez, R. (2012). Control de insectos-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 4 (8): 42-55.
- Guzmán, C. (2019). Alternativas para el control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) en el cultivo del banano convencional. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador. p. 17.
- López, S. (2018). Dinámica poblacional del complejo de picudos en el cultivo de plátano (*Musa AAB*), mediante el manejo químico y biológico en el municipio de Cartago, Valle del Cauca. Tesis Ingeniería Agroforestal. Universidad Nacional Abierta y a Distancia- UNAD. Colombia. p. 43.
- Mancillas, J. (2011). Caracterización de secreciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con actividad patogénica contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus*. Tesis Maestría en Recursos naturales y medio ambiente. Instituto Politécnico Nacional. Sinaloa, México. p. 16.
- Manzo, G; Orozco, M; Martínez, L; Garrido, E y Canto, B. (2014). Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano (*Musa sp.*) en México. Revista mexicana de Fitopatología, 32 (2): 89-107.
- Márquez, M; Cárdenas, G y Lequerque, A. (2016). El género *Metarhizium* Sorokin y su aplicación en el control de insectos plagas. Revista cubana de ciencias biológicas, 5(2): 1-13.
- Martínez, O; Lapo, B; Pérez, J; Zambrano, C y Maza, F. (2015). Mecanismo de gelatinización del almidón nativo de banano exportable en el Ecuador. Revista Colombiana de Química, 44 (2): 16-21.
- Mendoza, J; Gómez, P y Gualle, D. (2008). Posibilidades del uso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de Picudo rayado, *Metamasius hemipterus*, en caña de azúcar. (En línea). Consultado el 10 de Octubre del 2019. Disponible en

<https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Posib.-uso-B.-bassiana-para-Metamasius.pdf>

Meneses, A. (2003). Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne. Tesis Magister en Ciencias. Centro Agronómico Tropical de la investigación y enseñanza. p. 19.

Merchán, M y Ochoa, J. (2016). Análisis de las características organolépticas del banano tipo Cavendish para su aplicación en la repostería y pastelería de autor. Tesis Licenciatura en Gastronomía y Servicios de Alimentos y Bebidas. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. p. 19.

Ministerio de Comercio Exterior. (2017). Informe sector bananero ecuatoriano. (En línea). Consultado el 24 de Septiembre del 2019. Disponible en <https://www.comercioexterior.gob.ec/wp-content/uploads/2017/12/Informe-sector-bananero-esp%C3%B1ol-04dic17.pdf>

Molina, M. (2019). Incidencia del picudo negro y picudo rayado en plantación de banano con manejo orgánico y convencional. Tesis Ingeniería Agropecuaria. Universidad Católica Santiago de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. p. 6.

Motta, P y Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Revista Ambiente y Agua – An Interdisciplinary Journal of Applied Science, 62 (2): 77-90.

Muñoz, C. (2007). Fluctuación poblacional del picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) del plátano (*Musa ABB*) en San Carlos, Costa Rica. Tecnología en Marcha, 20 (1): 24-41.

Osorno, M y Mejía, G. (2006). Guía para el reconocimiento de algunos de los problemas fitosanitarios del cultivo de banano. (En línea). Consultado el 30 de Septiembre del 2019. Disponible en <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/11690>

- Palacios, J. (2018). Uso de trampas con atrayentes para el control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) y rayado (*Metamasius hemipterus* L) en el cultivo de plátano. Tesis Ingeniería Agropecuaria. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. Manta, Ecuador. p. 12-13.
- Panizo, M; Vera, M; Montes, W y Gonzáles, G. (2005). Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 25 (1); 136-145 pág.
- Perera, S; Suárez, T; Padilla, M y Carnero, A. (2011). Evaluación de distintos métodos de aplicación de un formulado de *Beauveria bassiana* para el control del picudo de la platanera *Cosmopolites sordidus* en Tenerife (Islas Canarias). (En línea). Consultado el 7 de Octubre del 2019. Disponible en http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/subt_384_Evaluacionpicudoplatanera.pdf
- Plenge, F; Sierra, J y Castillo, Y. (2007). Riesgos a la salud humana causada por plaguicidas. Tecnociencia Chihuahua, 1 (3): 4-6.
- Ponce, G; Cantú, P; Flores, A; Badii, M; Zapata, R; López, B y Fernández, I. (2006). Modo de acción de los insecticidas. Revista Salud Pública y Nutrición, 7 (4).
- Rentería, Y. (2019). Efecto de la interacción de nitrógeno y potasio y su influencia sobre parámetros de crecimiento en el cultivo del banano. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador. p. 19-22.
- Ríos, R. (2007). Control del gorgojo *Cosmopolites sordidus* G. y *Metamasius hemipterus* L. en plátano con hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium* spp. En san Martín. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto, Perú. p. 20-51.
- Rodríguez, A. (2009). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de banano (*Musa* sp.), variedad Gran enano Cavendish, en Quevedo, provincia de Los

Ríos. Tesis Ingeniería en Agroempresas. Universidad San Francisco de Quito. Cumbayá, Ecuador. p. 19.

Rodríguez, A; Guillén, C; Uva, V; Segura, R; Laprade, S y Sandoval, J. (2010). Proyecto demostrativo con implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de banano. Hoja divulgativa N°2. (En línea). Consultado el 6 de Octubre del 2019. Disponible en <http://cep.unep.org/repcar/proyectos-demostrativos/costa-rica-1/publicaciones-corbana/HOJA%20DIVULGATIVA%20Nb02-2010%20-CONTROL%20BIOLOGICO.pdf>

Sepúlveda, P y Rubio, J. (2009). Especies de Dryophthorinae (Coleoptera: Curculionidae) Asociadas a plátano y banano (*Musa* spp.) En Colombia. Acta biológica Colombiana, 14(2): 49-72pág.

Tazán, L. (2003). El cultivo de plátano en el Ecuador: Características vegetativas y de producción de algunos cultivares e híbridos de plátano. Editorial raíces. Guayaquil, Ecuador. p. 72.

Torres, S. (2012). Guía práctica para el manejo de banano orgánico en el valle del Chira. (En línea). Consultado el 29 de Septiembre del 2019. Disponible en https://www.swisscontact.org/fileadmin/user_upload/COUNTRIES/Peru/Documents/Publications/manual_banano.pdf

Ubilla, P. (2007). Control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) con barrera de polietileno y Bazan (*Beauveria bassiana*) en plátano para condiciones de Zamorano. Proyecto especial del programa de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Zamorano, Honduras. p. 12.

Vargas, J. (2017). Evaluación de dos cepas de *Beauveria bassiana* (Báls) y una cepa de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) en el control de adultos del gorgojo del banano, *Cosmopolites sordidus* (Coleóptera, Curculionidae) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú. p. 25-30.

- Vera, A. (2019). “Los acuerdos comerciales y su incidencia en las exportaciones de banano ecuatoriano. Periodo 2012-2017”. Tesis Economía. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. p. 2.
- Vergara, E. (2015). “Evaluación de dosis de insecticidas y tipos de trampas en el manejo de picudos (*Cosmopolites sordidus* y *Metamasius hemipterus*), en el cultivo de banano (Musa AAA), en la zona de Babahoyo”. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad de Guayaquil. Vines, Ecuador. p. 20-21.
- Zarazaga, A y Lyal, C. (2016). Catalogue of life: 2019 Annual Checklist. (En línea). Consultado el 30 de Septiembre del 2019. Disponible en <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/details/species/id/6ff4723b07c3f69b6500dba08907d74b>
- Zapata, K. (2016). Control biológico y etológico del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) en el cultivo de banano en la provincia del Oro. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica Santiago de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. p. 19.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo 1. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* en condiciones de campo. (Interacción tratamientos-días).

F.V.	S.C	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	10156,82	11	923,35	7,42	0,0001
Tratamientos	6296,03	2	3148,01	25,30	0,0001
Días	1780,71	3	593,57	4,77	0,0048
Tratamientos*Días	2080,08	6	346,68	2,79	0,0186
Error	7465,50	60	124,43		
Total	17622,32	71			

Anexo 2. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *C.sordidus* en condiciones de campo capturados 2 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3341,78	2	1670,89	5,82	0,0135
Tratamientos	3341,78	2	1670,89	5,82	0,0135
Error	4307,33	15	287,16		
Total	7649,11	17			

Anexo 3. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* en condiciones de campo capturados 5 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3463,11	2	1731,56	26,22	0,0001
Tratamientos	3463,11	2	1731,56	26,22	0,0001
Error	990,67	15	66,04		
Total	4453,78	17			

Anexo 4. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* en condiciones de campo capturados 7 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1552,44	2	776,22	5,75	0,0140
Tratamientos	1552,44	2	776,22	5,75	0,0140
Error	2026,67	15	135,11		
Total	3579,11	17			

Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *C. sordidus* en condiciones de campo capturados 10 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18,78	2	9,39	1,00	0,3911
Tratamientos	18,78	2	9,39	1,00	0,3911
Error	140,83	15	9,39		
Total	159,61	17			

Anexo 6. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de la interacción tratamientos-días de *M. anisopliae* sobre insectos de *M. hemipterus* en condiciones de campo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18036,61	11	1639,69	8,80	0,0001
Tratamientos	12932,11	2	6466,06	34,69	0,0001
Días	3057,17	3	1019,06	5,47	0,0022
Tratamientos*Días	2047,33	6	341,22	1,83	0,1082
Error	11183,33	60	186,39		
Total	29219,94	71			

Anexo 7. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *M. hemipterus* en condiciones de campo capturados 2 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8150,33	2	4075,17	12,70	0,0006
Tratamientos	8150,33	2	4075,17	12,70	0,0006
Error	4812,17	15	320,81		
Total	12962,50	17			

Anexo 8. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *M. hemipterus* en condiciones de campo capturados 5 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2325,00	2	1162,50	24,05	0,0001
Tratamientos	2325,00	2	1162,50	24,05	0,0001
Error	725,00	15	48,33		
Total	3050,00	17			

Anexo 9. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *M. hemipterus* en condiciones de campo capturados 7 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2412,00	2	1206,00	4,81	0,0243
Tratamientos	2412,00	2	1206,00	4,81	0,0243
Error	3762,00	15	250,80		
Total	6174,00	17			

Anexo 10. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *M. hemipterus* en condiciones de campo capturados 10 días después de instaladas las trampas de pseudotallo.

F.V.	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2092,11	2	1046,06	8,33	0,0037
Tratamientos	2092,11	2	1046,06	8,33	0,0037
Error	1884,17	15	125,61		
Total	3976,28	17			

Anexo 11. Análisis de varianza del porcentaje de eficacia de *C. sordidus* en condiciones de campo.

F.V.	S.C	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	1518,75	1	1518,75	12,43	0,0055
Tratamientos	1518,75	1	1518,75	12,43	0,0055
Error	1221,50	10	122,15		
Total	2740,25	11			

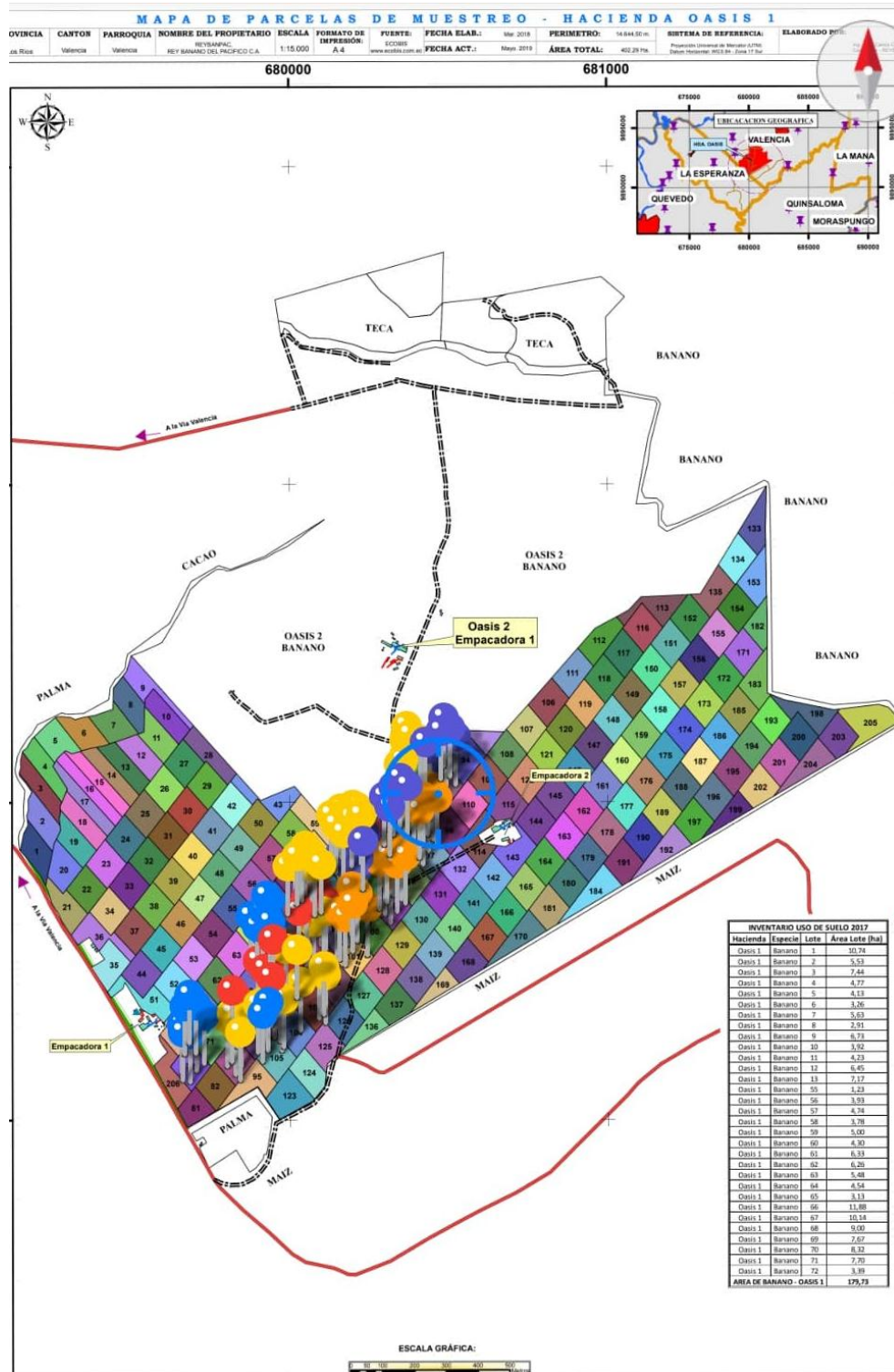
Anexo 12. Análisis de varianza del porcentaje de eficacia de *M. hemipterus* en condiciones de campo.

F.V.	S.C	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	300,00	1	300,00	10,73	0,0084
Tratamientos	300,00	1	300,00	10,73	0,0084
Error	279,67	10	27,97		
Total	579,67	11			

Anexo 13. Ficha técnica del hongo *M. anisopliae*.

LABORATORIO MCP		
FICHA TÉCNICA		
Nombre Comercial	Metarizium	
Descripción	<i>Metarhizium anisopliae</i>	
Propiedades fisicoquímicas	Olor	Suigéneris
	Estado	Líquido
	Color	Verde
	pH	7
Control de calidad biológico	Concentración	≥ 1x10 ⁸ unidades formadoras de colonias
	Pureza	≥ 95%
	Viabilidad	≥ 95%
Mecanismos de acción	Comienza por la adhesión del tegumento y la germinación de los conidios o esporas sobre este. Luego se produce la penetración a través de la cutícula del insecto, la multiplicación del hongo en el hemocele y la producción de toxinas (en ciertos hongos y cepas). Sobreviene la muerte del insecto y el hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente, el micelio sale hacia el exterior pasando a través del tegumento, esporula sobre la superficie del insecto y finalmente los propágulos son diseminados al medio.	
Objetivos biológicos	Afecta a insectos del orden Coleóptera y Homóptera.	
Dosis y aplicación	Foliar o Suelo: El líquido se disuelve 1 L en 100-200 L de agua para 1 hectárea. / Semillas: 1 l para 15-20 kg de semilla / Plántulas: 250 ml en 2,5 litros. Frecuencia recomendada: Cada 8-15 días para rápida colonización. Más información consultar con el técnico responsable Debido a que se trata de un organismo vivo, es necesario que exista un mínimo de materia orgánica en el suelo, si esta se encuentra baja, se recomienda repetir al menos una vez	
Formas de aplicación	Vía	Líquida
	Recomendación	Las aplicaciones siguientes se deben realizar a partir de la primera, a ritmo regular, en dependencia siempre de la velocidad de desarrollo del cultivo (aparición de nuevas áreas no protegidas) y de las condiciones ambientales existentes Agite bien el producto antes de su uso. Es recomendable su aplicación a una temperatura optima mayor a los 20°C con una Humedad Relativa entre el 70-80%
Estabilidad	El producto permanece estable durante 90 días bajo condiciones de refrigeración, almacenamiento y manejo establecidos	
Compatibilidad	El producto no es compatible con fertilizantes, fungicidas o plaguicidas químicos. El producto puede ser aplicado con otros productos biológicos y abonos orgánicos, siempre en cuando el pH sea entre 5-7 para hongos y 6-7 para bacterias.	
Aviso al comprador	El fabricante garantiza la composición y calidad del producto. No se responsabiliza por el uso imprudente, excesivo o indebido por parte del consumidor	
Categoría toxicológica	IV (Franja verde)	

Anexo 14. Mapa de la hacienda Oasis 1. Ubicación geográfica de trampas de pseudotallo utilizando el programa Avenza Maps.



Anexo 15. Preparación y aplicación de solución de *M. anisopliae* (Cepa 1 y 2) en trampas de pseudotallo en condiciones de campo.



Anexo 16. Ubicación de especímenes de picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*) en cajas Petri en condiciones de laboratorio.



Anexo 17. Colocación de cajas Petri con especímenes de picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*) en incubadora Memmert BE600.



Anexo 18. Esporulaci3n del hongo *M. anisopliae* en espec3menes de picudo negro (*C. sordidus*) y picudo rayado (*M. hemipterus*).

