

**EVALUACIÓN DEL EFECTO CONTROL CAUSADO POR DOS CEPAS DE HONGOS  
ENTOMOPATÓGENOS SOBRE POBLACIONES DE TRIPS (*Frankliniella occidentalis*)  
EN PLANTAS DE CRISANTEMO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO**

Proyecto de Trabajo de Grado para optar el título de

Bióloga

NATALIA JANETH RODAS POSADA

Asesor

Jaime Calle O MSc., PhD

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

MEDELLÍN- COLOMBIA

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Generalidades de los trips	8
1.2 Biología de los trips	9
1.3 Control biológico	10
1.4 Control y muestreo de los insectos trips	11
1.5 Hongos entomopatógenos	12
1.5.1 <i>Beauveria bassiana</i>	13
1.5.2 <i>Lecanicillium</i> sp.	14
1.6 Importancia económica de los insectos trips	14
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3. HIPOTESIS	17
4. OBJETIVOS	18
4.1 General	18
4.2 Específicos	18
5. JUSTIFICACIÓN	19
6. METODOLOGIA	21
6.1 Área de estudio	21
6.2 Material biológico	21
6.3 Cultivos monospóricos	21
6.4 Multiplicación de cepas	22
6.5 Preparación de solución de esporas	22
6.6 aplicación de solución de esporas	23
6.7 Pruebas de patogenicidad	24
7. RESULTADOS	26
7.1 Pruebas de patogenicidad	26
7.1.1 Obtención de conidias	26
7.1.2 Preparación de la solución madre	26
7.1.3 Bioensayo con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium</i> sp.	27
8. DISCUSION	43
9. CONCLUSIONES	47
10. RECOMENTACIONES	48
BIBLIOGRAFIA	49

LISTA DE TABLAS

PÁG.

**Tabla 1:** Tratamientos y repeticiones para cada uno de los días de evaluación. 24

**Tabla 2.** Promedios de conidios de la solución madre con los diferentes tratamientos, cada promedio fue calculado por seis lecturas. 26

**Tabla 3.** Porcentajes de mortalidad para los diferentes hongos entomopatógenos con sus respectivas concentraciones evaluadas sobre insectos trips, en 4 diferentes tiempos bajo condiciones de invernadero. 34

**Gráfica 1.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*). 27

**Gráfica 2.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*). 28

**Gráfica 3.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*). 29

**Gráfica 4.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*). 30

**Gráfica 5.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*). 31

**Gráfica 6.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*). 32

**Gráfica 7.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*). 33

**Gráfica 8.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*). 34

**Gráfica 9.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*). 35

**Gráfica 10.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*). 36

**Gráfica 11.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*). 37

**Gráfica 12.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*). 38

**Gráfica 13.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*). 39

**Gráfica 14.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*). 40

**Gráfica 15.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*). 41

**Gráfica 16.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*). 42

## **DEDICATORIA**

A Dios  
por donarme la vida.

A mi madre Marta  
por ser el puente del Altísimo para estar en este mundo  
y por la fortaleza que me da para lograr mis sueños y ser el motor de mi vida.

A mi hermano Carlos  
por brindarme apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer inmensamente y de corazón a la Compañía Flores Esmeralda, por el apoyo brindado durante mi estadía para el desarrollo de mi proyecto de trabajo de grado; al Director del laboratorio de Biocontrol y Microbiología Aplicada –BIOMA-, de la Universidad de Antioquia, Jaime de Jesús Calle O, asesor de mi trabajo de grado, por la inmensa colaboración prestada; a la Doctora Nadya Lorena Cardona B por el apoyo durante el desarrollo del proyecto; a los integrantes del grupo BIOMA por la colaboración y apoyo brindado; a mis amigos y compañeros que me acompañaron durante el desarrollo de mi formación como Bióloga; y a todas aquellas personas que directa o indirectamente aportaron y apoyaron brindándome confianza para el buen desarrollo de mi proyecto.

## RESUMEN

Para el sector floricultor Colombiano, las plagas constituyen uno de los factores que afectan potencialmente la producción, debido a que se afecta el rendimiento del cultivo, la calidad de la flor y por consecuencia la economía debido a que se incrementan los costos de producción lo que obliga al uso de insumos que pueden afectar el medio ambiente y la salud humana. Todo ello da de manifiesto la gran necesidad ampliar la investigación en la agricultura en cuanto a la instauración y utilización de métodos biológicos que preserven y protejan los cultivos.

Los insectos trips, son una plaga que produce daños severos debido a que poseen una gran capacidad de reproducción ocasionando grandes daños en el cultivo de flores ya que son transmisores de virus y causantes de deformaciones en el follaje. Estos fueron utilizados para la llevar a cabo pruebas de patogenicidad bajo condiciones de invernadero con dos hongos (*Lecanicillium sp.* y *Beauveria bassiana*) pertenecientes al cepario del laboratorio de Biocontrol y Microbiología Aplicada –BIOMA-, de la Universidad de Antioquia.

Los resultados obtenidos muestran que ambas cepas de hongos tienen efecto virulento y gran potencial controlador sobre la plaga manifestando porcentajes de mortalidad y micosis cercanos, pero exhibió porcentajes mayores *Lecanicillium sp.*, en tiempo de evaluación y dosis aplicadas alcanzando hasta el 100% de mortalidad y 94,28% de micosis luego de la aplicación de la dosis más alta, y la dosis más baja obtuvo porcentaje de mortalidad de 45,71% y de micosis de 71,67% pasados 8 días de evaluación.

**Palabras claves:** Floricultura, Plagas, Trips, Entomopatógenos, Control biológico, *Lecanicillium sp.*, *Beauveria bassiana*.



## **1. INTRODUCCIÓN**

La floricultura es sin dudarla una de las industrias con más éxito del país (Vélez 2007). En el transcurso de aproximadamente 35 años esta industria colombiana ha pasado de exportar unos cuantos miles de dólares a exportar más de 967 millones de dólares por año, lo que hace a Colombia en la actualidad el segundo país exportador de flores en el mundo después de Holanda. Colombia lleva a cabo la mayor parte de la producción en invernaderos que tienen un debido control de las condiciones abióticas, pero esto ha conllevado a generar condiciones que favorecen el crecimiento y desarrollo de enfermedades y plagas artrópodas (Asocolflores 2009).

Teniendo en cuenta que las flores cortadas tienen un elevado valor comercial y además son destinadas en su mayoría a la exportación, se hace importante evitar pérdidas de la productividad o daños que son producidos por plagas y enfermedades, estos daños no son aceptables en el producto final y por ello el control de estos se ha convertido en el objetivo primordial de muchos productores, ya que la sola presencia de unos cuantos individuos plaga y/o el daño que causan es el principal motivo de devoluciones en los puertos internacionales (Parrella y Jones 1987). Por todo ello un productor eficiente debe trabajar dentro del concepto de tolerancia cero en cuanto a las diferentes plagas que afectan su industria. Para esto se han implementado diferentes métodos que ayudan a contrarrestar dichos daños, uno de ellos es el uso de agroquímicos, representando un papel significativo en la disminución de los daños económicos en los cultivos. Sin embargo, la persistencia en el medio, su elevada toxicidad y el mal uso aplicado ha llevado a replantear algunas estrategias de control de plagas (Abad 1991).

### **1.1 Generalidades de los trips**

Las especies del orden Thysanoptera (trips) se clasifican en aproximadamente 750 géneros y 9 familias (Mound y Morris 2007). De todas ellas, el suborden Terebrantia comprende 8 familias incluyendo la familia Thripidae, mientras que el suborden Tubulifera comprende una sola familia, Phlaeothripidae. Los trips se caracterizan por tener un ciclo de vida corto, variando entre 25 y 35 días, (Madrigal 2003) y una gran capacidad de reproducción ocasionando grandes daños en el cultivo de flores debido a que son transmisores de virus, causantes de deformaciones en el follaje debido a sustancias fitotóxicas que contienen en la saliva, disminuyen la tasa de fotosíntesis, la conductancia estomática, la tasa de transpiración, (Arévalo et al.2003, Gamundi y Perotti 2009),

además de ello el aparato bucal raspador-chupador succiona el contenido celular de los tejidos, produciendo lesiones superficiales de color blanquecino en la epidermis, que más tarde se necrosan (Broadbent et al 1987). Habitualmente, los potenciales de daño de las diferentes especies de trips, aumentan durante las épocas secas, debido a que las temperaturas altas favorecen su crecimiento (Pedro et al 1998).

Los trips de las flores (*F. occidentalis*) es, sin dudar, uno de los insectos que produce grandes pérdidas económicas, principalmente en cultivos hortícolas y plantas ornamentales, debido a la baja calidad del producto caracterizándolo como no apto para comercializar (Yudin et al. 1987, Bayer 2008, Castresana et al. 2008).

## **1.2 Biología de los trips**

*F. occidentalis* se caracteriza por tener una gran capacidad de reproducción (Arévalo et al. 2003). Los huevos son reniformes, de color blanco hialino y de aproximadamente 0,2 milímetros de longitud, se hallan aislados e incrustados al interior de los tejidos de las plantas atacadas. Las ninfas se caracterizan por pasar por dos estadios, el primero muy pequeño y de color blanco o amarillo pálido. El segundo estadio es de tamaño parecido al de los adultos y de color amarillo (Bustillo 2009). A su vez las ninfas se diferencian de los estadios de prepupa y pupa. Estos estadios son inmóviles no se alimentan y comienzan a presentar los indicios de las alas, las cuales se desarrollan plenamente en el estadio de adulto. Este estado se desarrolla usualmente en el suelo, en lugares húmedos o en grietas naturales bajo el nivel del suelo (Gaum et al. 1994, Rijn et al. 1995). El estadio adulto de *F. occidentalis* es de forma alargada, de aproximadamente 1,2 mm las hembras y 0,9 mm de longitud, los machos exhiben dos pares de alas de aspecto plumoso replegadas sobre la parte dorsal, en estado de reposo. Las hembras son de color amarillento-ocre con manchas oscuras en la parte superior abdominal (Bustillo 2009). Estos organismos tienen un comportamiento particular, se trata de dejar la planta cuando la misma está madurando o no posee follaje juvenil, posteriormente migran hacia plantas con flor. Este comportamiento acontece normalmente en tiempo de primavera (Teerling 1995, Bustillo 2009). Estos insectos tienen la capacidad de colonizar partes superiores de las plantas, teniendo preferencia por las flores y el polen del que se alimentan (Senasa 2005).

En *F. occidentalis* la reproducción puede ser tanto sexual como asexual. De acuerdo a si hay fecundación o no las hembras presentan diferentes tipos de descendencias, es decir, aquellas

hembras que son fecundadas tienen descendencia en proporción 1:2, donde por cada macho habrán dos hembras, mientras que aquellas que no sean fecundadas darán solo descendencia masculina. La fecundidad de este grupo de insectos fluctúa entre 33 a 135 huevos/hembra (Sanderson 1990). La duración del ciclo de vida de *F. occidentalis* está influenciado por la temperatura, desarrollándose con mayor rapidez a 30°C, efecto contrario que ocurre cuando están por encima de 35°C, es decir, no hay desarrollo. Bajo temperatura de 18°C su desarrollo es doblemente largo, efecto opuesto bajo temperatura de 25°C, temperatura óptima donde el ciclo de vida tarda en completarse entre 13 y 15 días. La longevidad de los adultos puede estar en un rango de 32 a 57 días (Gerin et al. 1994, Shipp 1995).

### **1.3 Control biológico**

A medida que la modernización agrícola progresa, los principios ecológicos son ignorados y/o desestimados continuamente y como resultado de ello los ecosistemas agrícolas se están transformando en inestables. Esa inestabilidad se exhibe como enfermedades en muchos cultivos, apariciones de plagas, contaminación del recurso agua, la erosión y salinización del suelo, entre otros problemas ambientales. Con esto se hace evidente que el uso de pesticidas tiene tantos efectos negativos que ha llegado al límite (Altieri 1992). Debido a todo lo anterior se hace necesaria una estrategia alternativa que tenga como prioridad los principios ecológicos, donde se haga aprovechamiento máximo de todos los beneficios que la biodiversidad en la agricultura ofrece. Este, es un gran motivo para que el control biológico se considere una herramienta fundamental e imprescindible en cualquier estrategia de agricultura sostenible basándose en agroecología (Altieri 1992).

La protección del medio ambiente y el desarrollo humano sustentable son procesos que van de la mano. Sin embargo, existe un problema sumamente importante que se vive de manera global, este problema es la salud humana y la conservación del medio ambiente, de lo que resulta de forma indiscutible la gran necesidad aumentar la investigación en la agricultura acerca de la creación y aplicación de métodos biológicos que protejan los cultivos (Guédez et al. 2008). El control biológico es una práctica en constante crecimiento que tiene como objetivo reducir la población de los insectos plaga o patógenos por debajo de los niveles donde causan daño económico, todo

ello se realiza por medio del uso de sus enemigos naturales (Fischbein 2012). Esta práctica es un elemento importante de los sistemas sustentables, ya que es un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable para reducir los costos externos y mejorar la calidad y cantidad de los recursos internos, a través del uso de microorganismos adecuadamente seleccionados por su inocuidad y gran eficiencia (Guédez et al. 2008).

#### **1.4 Control y muestreo de los insectos trips**

El control de trips debe estar enmarcado en una estrategia de manejo integrado, combinando con diferentes métodos de control (Sanderson 1990). Se recomienda acudir a prácticas culturales como la puesta de bandas de plástico azules con adhesivos, para realizar un seguimiento de las poblaciones de adultos y bajar así un poco la infestación de estos (Carrizo 1998), como también a la diversificación de los cultivos con plantas que puedan servir de refugio a la fauna benéfica (Ripa et al. 2001). El uso de insecticidas exhibe problemas en el control del insecto debido a su comportamiento, debido a que las ninfas se localizan en el follaje refugiándose, las pupas en el suelo, y el adulto presenta gran movilidad (López et al. 2003). Además la dificultad del control químico de trips ha sido señalada por varios autores (Sakimura et al. 1986, Guyot 1988, Cermeli et al. 1995, Salas y Cermeli 1995), por lo que también se ha señalado la importancia de la implementación de métodos suplementarios de control (Díaz et al. 1989). Esta situación se complica más debido a la capacidad de adquirir resistencia a los insecticidas, que ha sido documentada por varios autores, por el mal uso de estos, la diversidad de hospedantes que ataca, su alta tasa de reproducción y la baja calidad de las aplicaciones de los plaguicidas (Guangyu et al. 1995, Kontsedalov et al. 1998). El control resulta también dificultoso principalmente durante los primeros tiempos luego de su detección (Vázquez 2003), y el uso de estos productos químicos provoca mayores costos y contaminación en el medio ambiente, haciendo que la opinión pública y el movimiento ambientalista generen un renovado interés por el control biológico al nivel mundial el cual permite buscar un equilibrio biológico en las poblaciones de las plagas sin tener mayor interferencia en el ecosistema, respetando al máximo los reguladores naturales de control como parasitoides, depredadores o patógenos (Murcia y Salamanca 2006).

## 1.5 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son hongos de distribución cosmopolita, representan los principales microorganismos descritos como causantes de enfermedades de insectos (Tanada y Kaya 1993, Nicholls 2008, Sun et al. 2008). El primer registro de un hongo sobre insectos fue realizado por el ruso Metschnikoff en 1978 quien utilizó a *Metarhizium anisoplae* contra el escarabajo *Anisoplae austriaca* plaga del trigo (Azevedo et al. 1985, Toledo et al. 2008) además estos están asociados con insectos que habitan en diversos ambientes. La investigación para lograr desarrollarlos como agentes de control microbiano es intensivo, por lo que son utilizados como una alternativa de agentes de control biológico (Hajek y Leger 1994). El comportamiento o potencialidad que tienen estos microorganismos sobre los insectos, llamado comúnmente virulencia, está determinado por las características genéticas del individuo (Bedding et al. 1993, Lecouna 1996 y Burges 1998).

Los hongos entomopatógenos poseen la capacidad de infectar artrópodos de forma directa por medio de penetración en la cutícula y además de ello, otros mecanismos de acción como la penetración por ano y boca, convirtiendo a estos hongos en excelentes fuentes de control biológico, ejerciendo el papel de bioinsecticida de contacto (Alves et al. 1998, Charnley y Collins 2007).

El ciclo vital de estos hongos es simple, posee una unidad infecciosa que es asexual, un conidióforo haploide que se forma en cadenas o fiálides, que germina en la cutícula del insecto susceptible, además produce un tubo germinativo que penetra dentro las cavidades del cuerpo donde el hongo se disemina como hifas hasta matar al huésped; posteriormente si las condiciones de humedad y temperaturas son adecuadas, el hongo crece a través de la cutícula formando nuevos conidios de forma aérea (Driver et al. 2000), también la capacidad de un hongo entomopatógeno para superar los mecanismos de defensa de sus hospederos es debido en su mayoría a la producción de toxinas, las cuales son importantes componentes de la patogenicidad y a enzimas extracelulares como las lecitinas y coagulasas entre otras, sustancias asociadas a entomomicosis (Murcia y Salamanca 2006).

La investigación con hongos entomopatógenos cada día llama más atención debido a los efectos permanentes que causan en las poblaciones de insectos plagas de importancia económica (Acosta 2006) como lo son los trips. Esto conlleva al uso limitado de productos químicos y a la disminución

de los efectos adversos tal como la contaminación del ambiente, lo que contribuye a la conservación de los recursos y a mantener el equilibrio de los ecosistemas (Acosta 2006); además que su importancia también radica en las ventajas que tienen estos microorganismos tales como la especificidad de un grupo de especies sin afectar a los enemigos naturales, la persistencia que tienen al hallar las condiciones apropiadas para parasitar a su hospedero, logrando así su reproducción y renovación de forma continua, haciendo innecesarias nuevas aplicaciones, la compatibilidad que tiene con insecticidas para lograr efectos superiores a los logrados con aplicaciones por separado de cada producto y no contamina el medio ambiente no afecta al hombre ni animales superiores (Cañedo y Ames 2004).

Los géneros de hongos entomopatógenos que se conocen, están aproximadamente entre 100 y 700 especies. Dentro de los que más se destacan y son importantes agentes de control biológico están: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoopthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium (Lecanicillium)* (Monzón 2001, Asaff et al. 2002, Pucheta et al. 2006).

### **1.5.1 *Beauveria bassiana*.**

*Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno que tiene una gran gama de hospederos y distribución geográfica, pertenece a la familia *Cordycipitaceae* (Index fungorum) acorde a la morfología de la estructura reproductora (conidial). Este hongo se caracteriza por exhibir células conidiógenas globosas a sub-globosas (2-3 x 2.0-2.5  $\mu\text{m}$ ) con un cuello corto, las estructuras conidiógenas forman grandes grupos, conidióforos apiñados formando sinnemas o grupos de conidióforos contiguos, las conidias son hialinas y lisas, globosas elipsoidales, raquis en zigzag y el crecimiento en medio de cultivo es elevado de color blanquecino, tomando coloraciones amarillentas en el reverso de la placa, además de tener textura pulverulenta (Kühne et al. 2007).

*B. bassiana*, es uno de los patógenos con mayor importancia para el control de insectos. Es usual encontrarlo en restos de insectos o en insectos que quedan adheridos a las hojas de la planta. Puede crecer y desarrollarse tanto en su hospedante como en medios artificiales (Alves 1998). Puede penetrar el insecto por cualquiera de sus partes (ano o boca), pero la más común es a través de la cutícula. Continúa llevando a cabo la germinación de las conidias en la cutícula, los tubos

germinativos penetran el tegumento, por acción mecánica y efectos enzimáticos, pasando a la hemolinfa donde ataca tejidos (Bustillo et al. 1991). El tiempo de duración de cada una de las fases del ciclo del hongo dependerá de la especie y de las condiciones ambientales que estén presentes durante la infección (Constantine 1977, Castillo et al. 2012). En condiciones apropiadas para el hongo se desarrollará micelio, conidióforos y conidias sobre la cutícula del insecto, proporcionando otra fuente de inóculo para afectar otros individuos (Ferron 1981).

### **1.5.2 *Lecanicilium* sp.**

Es un hongo entomopatógeno de amplia distribución, pertenece a la familia *Cordycipitaceae* (Index fungorum), produce epizootias especulares en áfidos, escamas y cochinillas en regiones tropicales y subtropicales (Aguirre y Krugg 2014). Se caracteriza por presentar estructuras fiálidas con apariencia de ramas, células conidiógenas donde se forman los conidios. Las fiálidas son alargadas y estrechas desde la base, presentándose en verticilos de 2-6, apareados o solitarios sobre hifas o apicalmente sobre ramas cortas. Los conidios son hialinos, cilíndricos o elipsoides, aseptados y son producidos dentro de gotas en los ápices de las fiálidas (Carballo et al. 2004). La forma de ataque de *Lecanicillium* es penetrando por medio de la cutícula, siendo esta la única vía de infección del hongo a diferencia de *B. bassiana* que puede penetrar por diferentes partes del insecto. La penetración al interior del insecto se lleva a cabo por acción química donde participan las enzimas lipasas, proteasas y quitinasa, además también se puede dar por la acción física mediante las estructuras propias del hongo. Después de la penetración comienza un crecimiento acelerado del hongo dentro del cuerpo del insecto invadiendo órganos y tejidos y probablemente una acción tóxica de la toxina (bassinolide) que produce este hongo, que va a provocar la muerte. Los insectos muertos por este entomopatógeno dejan de alimentarse y se quedan adheridos a la hoja en que se encuentran (Cano et al. 2004).

## **1.6 Importancia económica de los insectos trips**

La importancia económica de este insecto ha aumentado considerablemente en las últimas décadas debido a que es un agente vector del virus del tomate –TSWV, un virus polífago que ataca principalmente a hortalizas, cultivos de flores y ornamentales (Rodríguez et al. 2007). Es por esto que se ha incrementado el interés por el conocimiento de los trips ya que el comercio de los cultivos

anteriormente mencionados se ha visto en aumento (Hollingsworth et al. 2002, González 2008). Existen diversas especies de trips que hasta el momento no eran considerados de importancia económica, pero debido a que se han convertido en plagas, ha sido necesaria la profundización en el estudio de los mismos en muchos cultivos y regiones del mundo, donde América latina ha sido incluida (Jiménez, Osorio y Cardona 2003).

En Colombia se tienen grandes áreas dedicadas a la producción para el mercado nacional e internacional de flores. En el caso del departamento de Antioquia, específicamente la región de Oriente, dedican la producción a exportación de flores a varios países, entre ellos Estados Unidos (aproximadamente un 90% de la producción).

Teniendo en cuenta la gran importancia que han adquirido estos insectos para la floricultura colombiana, en este estudio se evaluó el efecto control que ejercen dos cepas de hongos entomopatógenos sobre poblaciones de trips (*F. occidentalis*) en plantas de Crisantemo bajo condiciones de invernadero, dichas cepas de hongos se encuentran en el cepario del laboratorio de Biocontrol y Microbiología Ambiental –BIOMA-de la Universidad de Antioquia.



## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando que Colombia es uno de los mayores productores de flores a nivel mundial, y que como tal la agricultura juega un papel estratégico en el desarrollo del país, se hace evidente la importancia de evitar pérdidas de la productividad o daños que son producidos por plagas y enfermedades, y la conservación del medio ambiente y la salud humana, lo que da de manifiesto la gran necesidad incrementar la investigación en la agricultura acerca del establecimiento y empleo de métodos biológicos que preserven y protejan los cultivos. Actualmente, hacer uso de controladores biológicos se ha convertido en una necesidad económica y más que ello ecológica, lo que está convirtiendo al control biológico una fuerte herramienta en cualquier estrategia de agricultura sostenible, fundamentándose en agroecología.

Los trips son una plaga a la que se le puede asignar varias características, entre las cuales se incluyen su alto potencial reproductivo, la capacidad invasiva, la rapidez en desarrollar resistencia a los químicos (insecticidas) y además de ello la gran habilidad para la transmisión de virus a las plantas. Dichas particularidades se interrelacionan convirtiéndolo en una plaga difícil de manejar y altamente importante por el daño que ocasiona ya que puede ser directo, el cual es ocasionado por el aparato bucal pues parte de su ciclo lo cumple dentro de los tejidos vegetales y lleva a cabo su alimentación, o el daño indirecto el cual es ocasionado por la trasmisión de virus (Vincini 2014). El grupo BIOMA (Biocontrol y Microbiología Ambiental) de la Universidad de Antioquia, cuenta con dos cepas de hongos biocontroladores *Lecanicillium* sp. y *Beauveria bassiana*, las cuales tienen la capacidad de infectar a los artrópodos directamente a través de la penetración de la cutícula además de ello por boca y ano (*Beauveria* sp.), confiriéndoles una elevada capacidad entomopatógena para evitar que el hospedero desarrolle resistencia alguna (Charnley y Collins 2007). Por ello se pueden utilizar como agentes de control biológico con la elaboración de soluciones concentradas para obtener un buen resultado.

Debido a que la preservación del medio ambiente es de gran importancia y que la floricultura desempeña un papel muy importante en la economía del país, se llevó a cabo el presente proyecto el cual evaluó el efecto control que ejercen dos cepas de hongos entomopatógenos *Lecanicillium* sp. y *Beauveria* UdeA 21R3 a diferentes concentraciones sobre poblaciones de trips (*F. occidentalis*) en plantas de crisantemo bajo condiciones de invernadero, con el fin de encontrar la concentración que logra disminuir de manera significativa dicha plaga.

### **3. HIPÓTESIS**

En plantas de crisantemo bajo condiciones de invernadero, las soluciones de esporas de los hongos *Lecanicillium* sp. y *Beauveria* UdeA 21R3 disminuye significativamente el número de trips (*Frankliniella occidentalis*).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Evaluar el efecto control causado por dos cepas de hongos entomopatógenos, *Lecanicillium* sp. y *Beauveria bassiana* UdeA 21R3, sobre poblaciones de trips (*Frankliniella occidentalis*) en plantas de crisantemo bajo condiciones de invernadero.

### **4.2 Específicos**

- Comprobar si existe algún efecto control por parte de los hongos entomopatógenos *Lecanicillium* sp. y *Beauveria bassiana*.
- Establecer bajo invernadero, cuál de las dos cepas de hongo entomopatógeno posee una mayor actividad controladora sobre las poblaciones de trips (*F. occidentalis*).

## 5. JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta que los trips son una plaga a la cual se han dado rigurosas restricciones cuarentenarias en diversos países importadores de flores colombianas, y que los trips han sido reportados atacando cultivos ornamentales como las rosas, claveles y crisantemos, entre otros; se ha creado conciencia de la implementación de programas de acción preventiva contra dicha plaga, donde se refleje la calidad del producto floricultor de un país que se encuentra entre los grandes exportadores en el mercado de flores a nivel mundial (Álvarez 2003).

El hacer uso mínimo de pesticidas se ha vuelto un tema importante durante los últimos años en el sector floricultor, ya que los productores de flores a nivel global se han mostrado interesados en implementar diferentes técnicas ecológica y económicamente sustentables para la regulación de los problemas fitosanitarios (Pizano, M 2001). Todo ello debido a que en cada uno de los diferentes destinos mundiales, los requerimientos fitosanitarios y de calidad que imponen las entidades gubernamentales y compradores, han hecho que cada día el rango de convivencia de plagas y enfermedades en campo o sobre los productos sea más estrecha; obligando a desarrollar planes de manejo de plagas.

El uso de microorganismos es una herramienta útil en la industria de la floricultura en el oriente antioqueño, ya que funciona como una buena medida de control de insectos plaga en combinación con otras prácticas de Manejo Intergrado de Plagas y Enfermedades (MIPE) (Guarín y Parra 1998). Acorde con lo anterior y aprovechando que dicho sector de la agricultura en nuestro país ha evolucionado en la investigación del tema de hongos entomopatógenos, tales como *Beauveria*, *Metarhizum*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Fusarium*, *Hirsutela*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (*Lecanicillium*) como los más destacados e importantes agentes de control biológico (Castineiras et al. 1996, Monzón 2001, Asaff et al. 2002, Pucheta et al. 2006); se realizó el presente trabajo con el objetivo de hacer uso de dos cepas de hongos entomopatógenos tomados del cepario del grupo BIOMA de la Universidad de Antioquia, para encontrar posibilidades de control biológico del trips de las flores (*F. occidentalis*) y además de ello incorporarlo como instrumento útil y viable para el manejo de dicha plaga, teniendo en cuenta que es necesario disponer de diversidad de alternativas para utilizar contra las plagas que presentan resistencia a químicos como lo es *F. occidentalis* en el campo de floricultor.

Por ello se hace necesario mantener la búsqueda de microorganismos biocontroladores, y que con su uso se pueda garantizar calidad y rendimiento en el cultivo ornamental, y con esto generar un sistema productivo ecológicamente sustentable, reduciendo el uso de plaguicidas químicos y minimizando los riesgos sobre la salud humana y más que eso preservar el medio ambiente.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1 Área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la micro-estación de la Universidad de Antioquia, con temperatura que oscila entre 22-30°C y una humedad relativa del 70% (Jaramillo. C 2014), ubicado en la ciudad de Medellín con una altura promedio de 1538 msnm aproximadamente.

### **6.2 Material biológico**

Las plantas de crisantemo y los trips (*F. occidentalis*) fueron aportados por la empresa Flores Esmeralda, floricultivo ubicado en el municipio de la Ceja al oriente antioqueño, y las cepas de hongos biocontroladores *Lecanicillium* sp. y *Beauveria* UdeA 21R3 fueron tomadas del cepario del laboratorio de Biocontrol y Microbiología Ambiental –BIOMA de la Universidad de Antioquia. Para la identificación taxonómica de los insectos utilizados en los bioensayos, se llevaron dichos ejemplares al laboratorio de entomología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia en donde se realizó este procedimiento, para lo cual, se utilizaron las claves taxonómicas apropiadas y personal experto.

### **6.3 Producción de cultivos monospóricos**

Este procedimiento se llevó a cabo siguiendo el protocolo del laboratorio de control microbiológico de la Universidad de Antioquia (Cardona et al. en desarrollo), para lo cual la suspensión madre se preparó a partir de un cultivo previamente purificado y sembrado en cajas de Petri. Se tomaron 5 tubos de tapa rosca cada uno con 9 ml de ADE, y se marcaron desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Se preparó luego solución madre, la cual se adicionó 9 ml de ADE + 3 gotas de tween 80 al cultivo, posteriormente se rasparon las esporas de la superficie del medio con la ayuda de una asa bacteriológica previamente esterilizada; luego se tomó 1 ml de la solución madre con la ayuda de una micropipeta se pasó al tubo marcado como  $10^{-1}$ . De dicho tubo se tomó 1 ml y se llevó al tubo  $10^{-2}$  y se continuó en forma sucesiva hasta la tubo  $10^{-5}$ . Se agitó bien las suspensiones del tubo y luego se tomó 100µl de las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  y se sembró en cajas de Petri con PDA acidificado por duplicado. Se colocaron a incubar a temperatura ambiente durante

una semana y luego del crecimiento obtenido, en el cual se presentó una distribución que permitió la selección de una sola colonia se realizó un repique en PDA acidificado obteniéndose así un cultivo monospórico.

#### **6.4 Multiplicación de las cepas**

Para la multiplicación de las cepas aisladas, mediante cultivos monospóricos, se tuvo en cuenta la preparación de sustrato orgánico y la siembra de los hongos en este. Los hongos presentan una amplia variedad de sustratos orgánicos que son utilizados para su crecimiento. En este caso, se utilizó el arroz como sustrato orgánico según conocimientos previos por trabajos realizados en el laboratorio de Control Microbiológico del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia.

Para esto, se pesaron 140 g de arroz y se dispensaron en bolsas plástica estériles, luego se agregaron 60 ml de agua que contenía hipotensor (1 ml por litro de agua), y por último se le adicionó 1 ml de ácido láctico al 40 %; posterior a esto se sellaron las bolsas plásticas con ganchos y cinta, y se colocaron a esterilizar a 121 libras de presión por 30 minutos, Se dejaron enfriar antes de realizar la siembra. Luego a las cajas de Petri de los cultivos monospóricos, se le adicionaron 9 ml de agua destilada y 3 gotas de tween 80, y con la ayuda de un asa bacteriológica esterilizada se desprendió el hongo en la caja de Petri. A esta solución, se le agregó 20 ml de agua destilada estéril (ADE) y posteriormente se realizó la siembra, inoculando 2 ml de la solución anterior a 3 bolsas del sustrato de arroz esterilizadas para cada hongo a evaluar. Finalmente se incubaron a temperatura ambiente hasta que las bolsas estuvieran completamente colonizadas.

#### **6.5 Preparación de solución de esporas**

Se tomarán 300 ml de agua destilada estéril (ADE) y se agregaron al interior de las bolsas con arroz inoculadas con el hongo. Luego se adicionó una gota de dispersante (tween 20) y manualmente se disgregaron el contenido de las bolsas, con el fin de homogenizar la muestra (suspensión de esporas) hasta que se observe una suspensión homogénea.

A continuación se filtró toda la suspensión con la ayuda de una gasa colocada en un beaker. Esta se tomó como la solución madre.

A partir de dicha solución madre se realizaron diluciones seriadas hasta  $10^{-5}$  y posteriormente el conteo con la cámara de Neubauer (volumen de llenado 10  $\mu$ l en cada lado). La dilución utilizada dependió de la cantidad de esporas, por lo tanto se hizo un primer conteo con la dilución  $10^{-3}$ , pero la cantidad de esporas no permitió una buena lectura, se procedió a realizar las lecturas en la dilución  $10^{-4}$ . Se realizaron 6 lecturas que correspondieron a 3 montajes de cámara. Se realizó el promedio de las conidias contadas de las 6 lecturas, y se aplicó la fórmula:

$$\text{No. conidias/ml} = \text{Promedio del conteo} \times \text{el inverso de dilución empleada} \times 10^4$$

Después de calcular el número de esporas por mililitro se calculó la concentración de conidias/gr de arroz con la siguiente fórmula:

$$\text{Conidias / g de arroz} = \frac{\text{promedio del número de conidias/ml} \times 200 \text{ ml}}{40 \text{ g}}$$

De acuerdo al cálculo del número de conidias por cada gramo de arroz, se procedió a realizar cada una de las concentraciones que se utilizaron en el experimento, para evaluar efecto control de cada hongo (Cardona et al. en desarrollo).

### **6.6 Aplicación de solución de conidios**

La unidad experimental constó de una planta inmersa en una solución nutritiva en un vaso de 14 onzas tapado con malla y con 7 individuos de (*F. occidentalis*).

A cada unidad experimental se realizó la aplicación de 1,5 ml del tratamiento ( $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$ , y Control 1 (agua) por aspersión.



TRATAMIENTO	TIEMPO DE EVALUACIÓN			
	t1= 2 días	t2= 4 días	t3= 6 días	t4= 8 días
1*10 <sup>3</sup> esporas/ml	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips
1*10 <sup>5</sup> esporas/ml	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips
1*10 <sup>7</sup> esporas/ml	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips
1*10 <sup>8</sup> esporas/ml	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips
1*10 <sup>9</sup> esporas/ml	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips
Control (agua)	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips	5 repeticiones c/u con 7 trips

**Tabla 1:** Tratamientos y repeticiones para cada uno de los días de evaluación.

### 6.7 Prueba de patogenicidad

Para las pruebas de patogenicidad de los hongos, se evaluaron para cada hongo entomopatógeno, 5 diferentes concentraciones:  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  conidias/ml, con el fin de calcular la dosis letal 50 (DL50) y el tiempo letal 50 (TL50), por el método de Probit.

En el bioensayo las unidades experimentales se colocaron aleatoriamente dentro del invernadero. Se aplicaron 6 tratamientos, 5 de ellos fueron concentraciones de  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  (conidias/ml) del hongo y un control, donde el control (absoluto) constaba de la aplicación de solo agua. Cada uno de los tratamientos se evaluó en cuatro tiempos diferentes (t1, t2, t3 y t4), cada uno de ellos con 5 repeticiones y 7 insectos. Cada uno de los tratamientos constó de 20 plantas y 140 insectos, es decir, 120 plantas totales y 840 insectos tratados.

Las lecturas se realizaron cada 48 horas, hasta el día 8 después del inoculo. Posteriormente se continuó con los postulados de Koch, que consistió en tomar los insectos trips muertos y/o micosados y colocarlos en cámara húmeda para estimular la esporulación del hongo, luego se verificó el crecimiento del entomopatógeno en el insecto bajo el estereoscopio y se sembró en

PDA acidificado, para determinar que el hongo inoculado en el bioensayo fuesen el mismo hongo que causó la infección y posterior muerte al insecto.

Para la identificación taxonómicas de los insectos trips utilizados en los bioensayos, fueron llevados ejemplares al laboratorio de entomología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia en donde se realizó este procedimiento, para lo cual, se utilizaron las claves taxonómicas apropiadas y personal experto.

## 7. RESULTADOS

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación múltiple por medio del software estadístico R.

La variable experimental utilizada fueron trips (*F. occidentalis*) y la variable evaluada fue la tasa de mortalidad, para lo cual se realizó el conteo de los insectos muertos en los días estipulados de lecturas y con los datos se halló el porcentaje de mortalidad dentro de cada unidad experimental y tratamiento. Posteriormente se tomaron los insectos muertos y se llevaron a cámara húmeda durante 10 días, se continuó realizando el conteo de trips micosados y con los datos se halló el porcentaje de micosis dentro de cada unidad experimental y tratamiento. Dicho procedimiento se realizó para cada cepa de hongos *Lecanicillium* sp. y *Beauveria* UdeA 21R3.

### 7.1 Pruebas de patogenicidad

#### 7.1.1 Obtención de conidias

El sustrato orgánico utilizado para la multiplicación de las cepas de los dos hongos fue arroz, el cual fue inoculado con cada hongo a evaluar, los cuales presentaron un buen crecimiento y colonización en un total de 12 días de incubación.

#### 7.1.2. Preparación de la solución madre

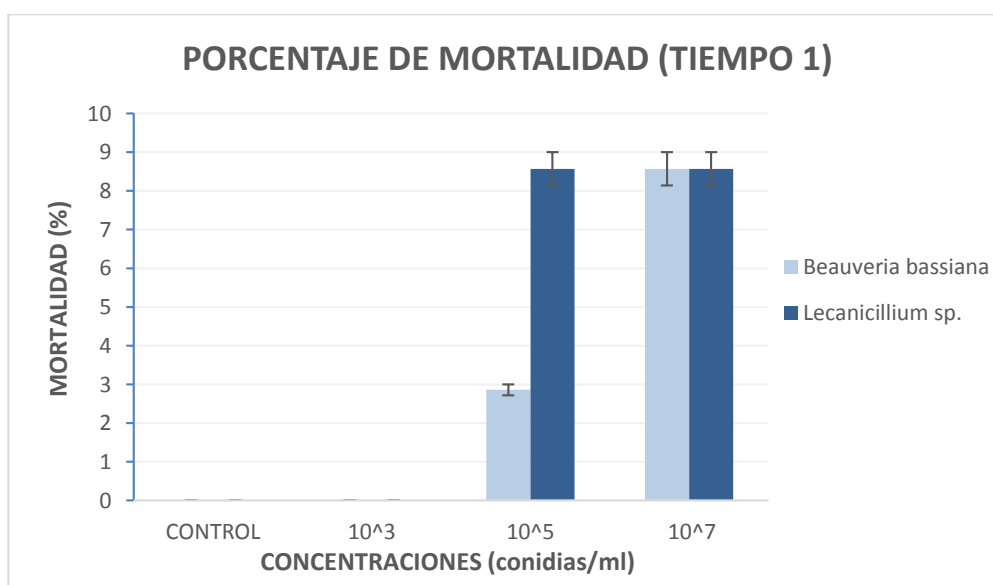
La Tabla 2 muestra los promedios correspondientes a 6 lecturas para cada tratamiento, luego del conteo de conidios realizada en la cámara de Neubauer.

	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Lecanicillium</i> sp.
Dilución empleada	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$
Promedio de conidias	16,1	14
Concentración de la solución madre	$1,6 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$

**Tabla 2.** Promedios de conidios de la solución madre con los diferentes tratamientos, cada promedio fue calculado por seis lecturas.

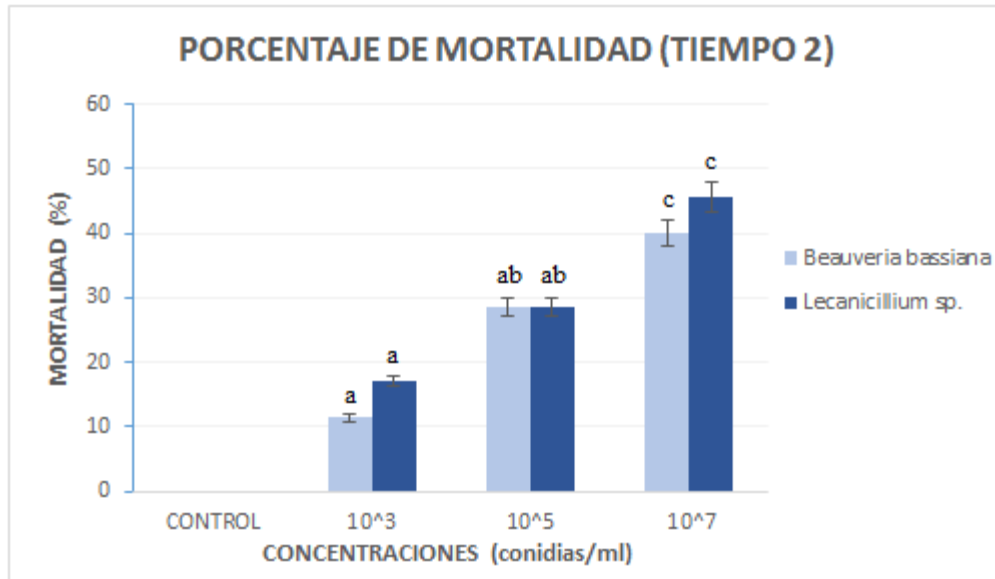
### 7.1.3 Bioensayo con *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp.

El bioensayo constó de 6 tratamientos evaluados en 4 tiempos diferentes, cada uno de ellos con 5 repeticiones y 7 insectos. Cada uno de los tratamientos constó de 20 plantas y 140 insectos, es decir, 120 plantas totales y 840 insectos tratados. La mortalidad se registró en cada uno de los tiempos evaluados y se obtuvo el porcentaje de insectos muertos. La micosis se registró luego de colocar los insectos muertos en cámara húmeda durante 10 días, se obtuvo el porcentaje de micosis y se determinó que la micosis correspondía a los hongos entomopatógenos inoculados en el bioensayo.



**Gráfica 1.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*).

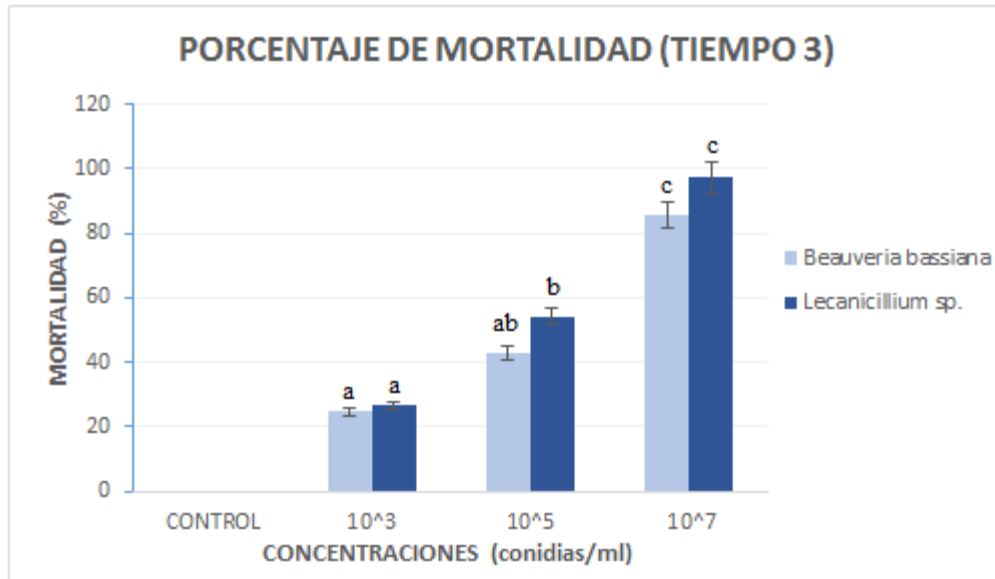
Los porcentajes de mortalidad para *B. bassiana* y *Lecanicillium* sp. en la concentración 10<sup>3</sup> conidias/ml fueron de 0% , es decir, no se obtuvieron trips muertos, mientras en la concentración 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml para *B. bassiana* fue del 2,86% y 8,57% respectivamente, y *Lecanicillium* sp. de 8,57% tanto en concentración de 10<sup>5</sup> como 10<sup>7</sup> conidias/ml. Para ambos casos se obtuvieron valores bajos sin importar la dosis ni la cepa de hongo aplicada (Gráfica 1, Tabla 3).



**Gráfica 2.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium sp.* en concentraciones de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*).

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA y una prueba de comparación múltiple Tukey, con  $p = 0,05$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad mostrando que las dosis 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml son estadísticamente diferentes entre ellas para las dos cepas de hongo aplicadas pero dentro de ellas no, por su parte la dosis 10<sup>5</sup> conidias/ml no difiere estadísticamente de las dosis anteriormente mencionadas, tanto para *Beauveria bassiana* como para *Lecanicillium sp.* ni entre la misma dosis de hongos.

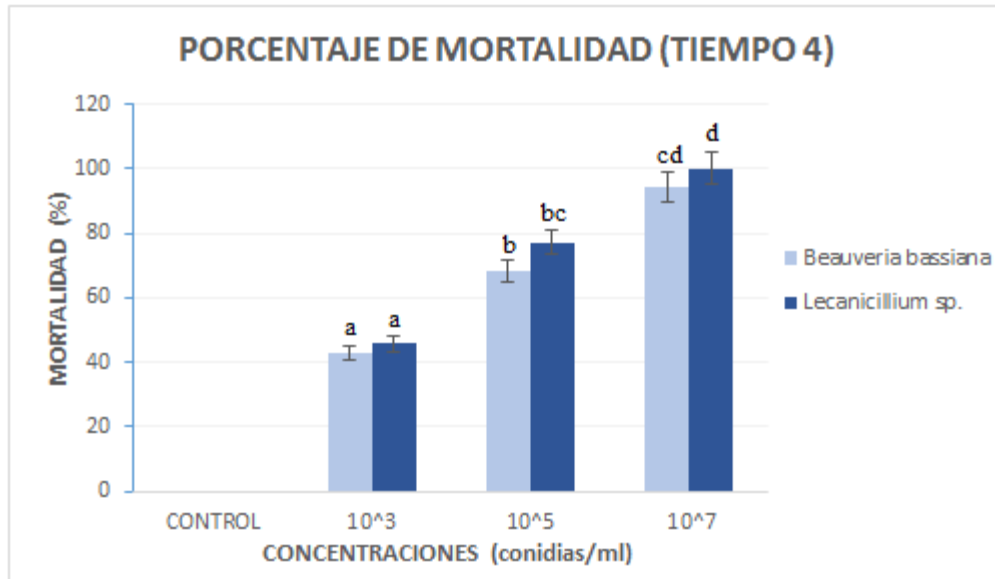
Los porcentajes de mortalidad para *B. bassiana* variaron de acuerdo a las dosis aplicadas, en la concentración 10<sup>3</sup> conidias/ml fue del 11,42%, en 10<sup>5</sup> conidias/ml del 28,57% y en 10<sup>7</sup> conidias/ml del 40%; mientras que para *Lecanicillium sp.* en la concentración 10<sup>3</sup> conidias/ml fue del 17,14%, en 10<sup>5</sup> conidias/ml del 28,57% y en 10<sup>7</sup> conidias/ml del 45,72%. Para ambas cepas los porcentajes aumentaron con el aumento de la concentración aplicada con un valor máximo para *B. bassiana* del 40% y para *Lecanicillium sp.* el valor máximo fue del 45,72% evidenciándose valores cercanos para ambos hongos a sus diferentes concentraciones. Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control (Gráfica 2, Tabla 3).



**Gráfica 3.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium sp.* en concentraciones de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*).

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA y una prueba de comparación múltiple Tukey, con  $p = 0,05$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad mostrando que las dosis 10<sup>3</sup> conidias/ml no difieren estadísticamente entre las dos cepas de hongo aplicadas comportamiento igual en las dosis 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml, mientras que entre dosis aplicadas si se evidencia diferencias significativas en los casos de las dosis 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml a excepción de la dosis 10<sup>5</sup> conidias/ml de *B. bassiana* que no difiere estadísticamente de la dosis 10<sup>3</sup> conidias/ml de ambas cepas de hongos. Todos los tratamientos fueron difirieron estadísticamente del control.

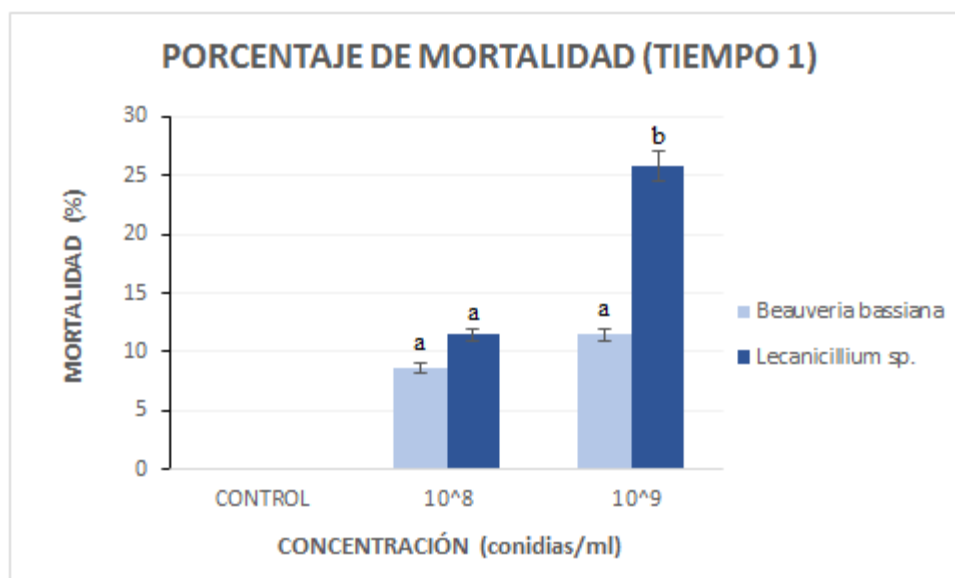
Para *Lecanicillium sp.* y *B.bassiana* el porcentaje de mortalidad en la concentración de 10<sup>3</sup> conidias/ml fue muy cercano con valores de 28,57% y 25,71% respectivamente. En la concentración de 10<sup>5</sup> conidias/ml *B.bassiana* obtuvo 42,86% de mortalidad mientras que *Lecanicillium sp.* obtuvo 54,29% de mortalidad, finalmente para la concentración de 10<sup>7</sup> conidias/ml se obtuvieron resultados superiores al 80% de mortalidad de trips debido a la aplicación de las cepas de hongos, con valores de 85,71% para *B.bassiana* y 97,14% para *Lecanicillium sp.* (Gráfica 3, Tabla 3)



**Gráfica 4.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium sp.* en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*).

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA y una prueba de comparación múltiple Tukey, con  $p=0,05$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad manifestando que la concentración de  $10^3$  conidias/ml de ambas cepas de hongos no difieren estadísticamente entre ellas pero si de las demás concentraciones aplicadas. Por su parte la concentración de  $10^5$  conidias/ml no es estadísticamente diferente entre cepas de hongos pero si lo es con respecto a las concentraciones  $10^3$  y  $10^7$  conidias/ml a excepción de la concentración  $10^5$  conidias/ml de *Lecanicillium sp.* que no difiere estadísticamente de la concentración  $10^7$  conidias/ml de *B. bassiana*. Finalmente la concentración de  $10^7$  conidias/ml no tiene diferencias estadísticas entre las cepas de hongos pero si difiere estadísticamente de las demás concentraciones a excepción de la anotación anteriormente mencionada con la concentración  $10^3$  conidias/ml. Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control. Los resultados obtenidos en el porcentaje de mortalidad para *Lecanicillium sp.* y *B. bassiana* en la concentración de  $10^3$  conidias/ml fueron muy cercano con valores de 45,71% y 42,86% respectivamente. En la concentración de  $10^5$  conidias/ml *B. bassiana* obtuvo 68,57% de mortalidad mientras que *Lecanicillium sp.* produjo 77,14% de mortalidad, en último lugar para la concentración de  $10^7$  conidias/ml se obtuvieron resultados superiores al 90% de mortalidad de trips debido a la

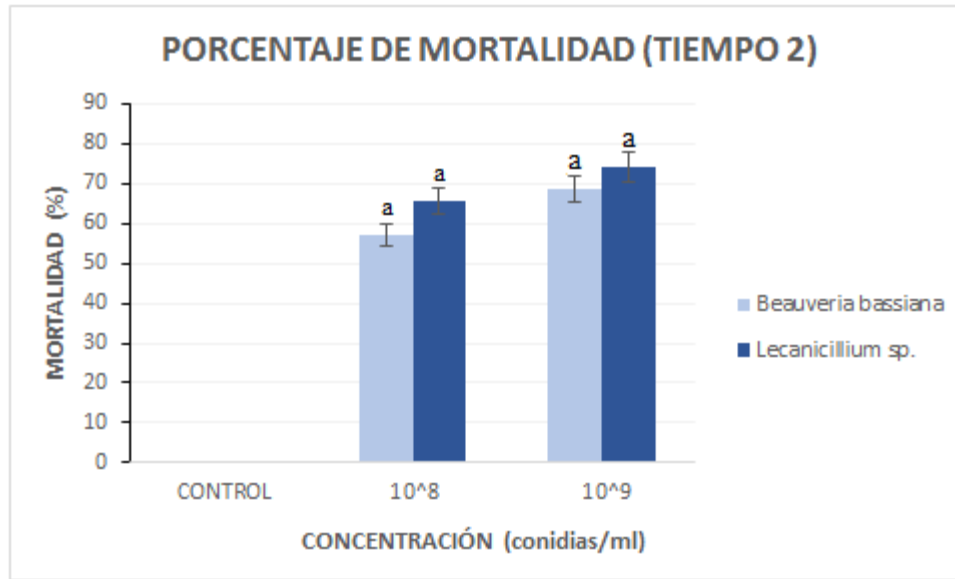
aplicación de las cepas de hongos, con valores de 94,28% para *B. bassiana* y 100% para *Lecanicillium* sp. (Gráfica 4, Tabla 3).



**Gráfica 5.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*).

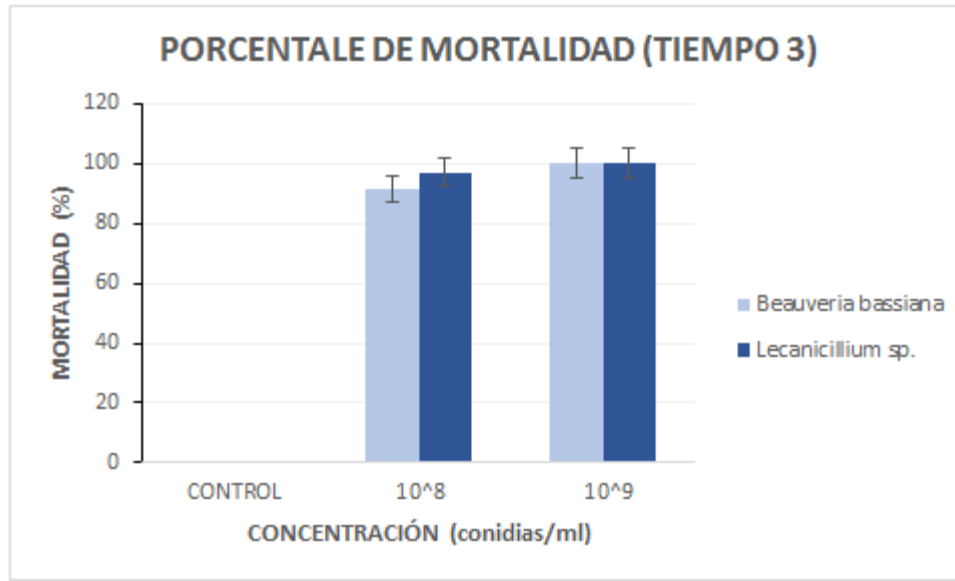
Los datos no cumplieron los supuestos de normalidad con ninguna transformación utilizada, por ende para determinar la diferencia estadísticas de medias se realizó un análisis no paramétrico Kruskal wallis con un  $p=0,07$ . Aquí se evidencia que la concentración  $10^8$  conidias/ml no es estadísticamente diferente entre las dos cepas de hongos, además de ello la concentración de  $10^9$  conidias/ml difiere estadísticamente entre cepas de hongos pero esta misma de *B.bassiana* no difiere estadísticamente de la concentración  $10^8$  de ambas cepas de hongos. Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control. Los porcentajes de mortalidad para mortalidad tanto para *Lecanicillium* sp. como para *B. bassiana* en las dos concentraciones fueron valores por debajo del 30%, en la concentración de  $10^8$  conidias/ml fueron 11,43% y 8,57% y para la concentración de  $10^9$  conidias/ml fueron 25,71% y 11,43% respectivamente (Gráfica 5, Tabla 3).





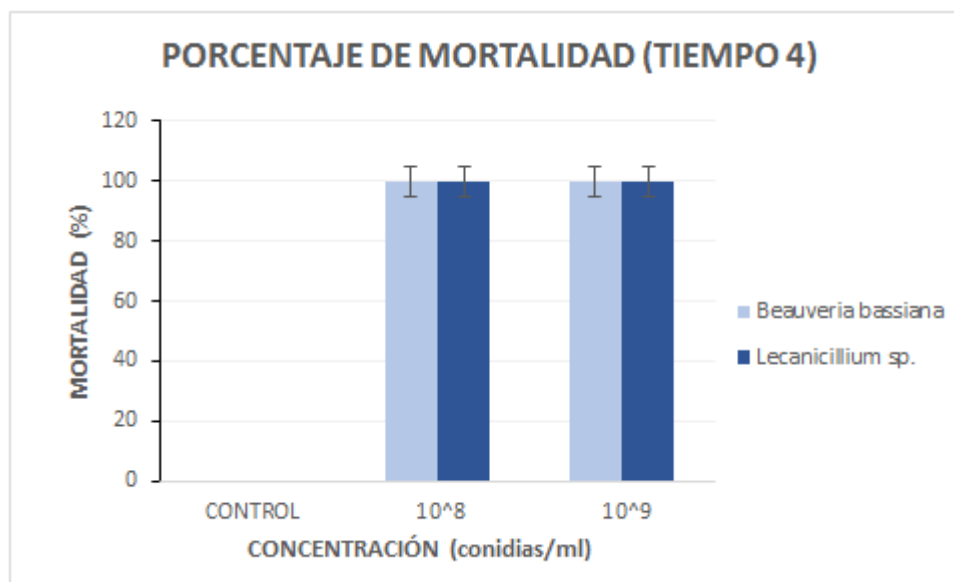
**Gráfica 6.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*).

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA y una prueba de comparación múltiple Tukey, con  $p = 0,05$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Se evidencia que la concentración de  $10^8$  conidias/ml tanto de *B. bassiana* como de *Lecanicillium* sp. no tienen diferencias estadísticas ni dentro de la misma dosis en ambas cepas de hongos ni entre diferentes dosis aplicadas. Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control. Los porcentajes de mortalidad en la concentración de  $10^8$  conidias/ml para *B. bassiana* fue del 57,14% mientras que para *Lecanicillium* sp. fue del 65,71% y para la concentración de  $10^9$  los porcentajes de mortalidad fueron de 68,57% y 74,28% respectivamente (Gráfica 6, Tabla 3).



**Gráfica 7.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*).

No se realizó análisis de varianza debido a que los datos presentaron alta similitud, evidenciándose en la gráfica 7 que para la concentración de  $10^8$  conidias/ml se obtuvieron porcentajes de mortalidad para *B. bassiana* y *Lecanicillium* sp. de 91,43% y 97,14% respectivamente y para la concentración de  $10^9$  conidias/ml se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 100% para ambas (Tabla 3). Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control.



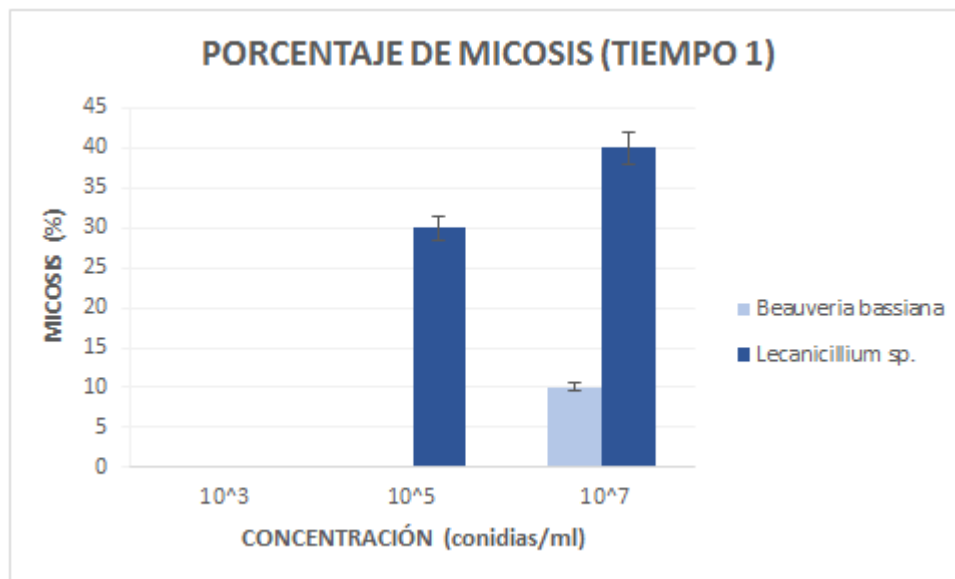
**Gráfica 8.** Comparación del porcentaje de mortalidad entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium sp.* en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*).

No se realizó análisis de varianza debido a que los datos presentaron alta similitud, evidenciándose en la gráfica 7 que para ambas concentraciones de las dos cepas de hongos aplicadas se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 100% (Tabla 3). Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al control.

TRATAMIENTO	<i>Beauveria bassiana</i>				<i>Lecanicillium sp.</i>			
	TIEMPO DE EVALUCIÓN (DÍAS)				TIEMPO DE EVALUCIÓN (DÍAS)			
	2	4	6	8	2	4	6	8
1 X $10^3$ conidias/ml	0	11,42	25,71	42,86	0	17,14	28,57	45,71
1 X $10^5$ conidias/ml	2,86	28,57	42,86	68,57	8,57	28,57	54,29	77,14
1 X $10^7$ conidias/ml	8,57	40	85,71	94,28	8,57	45,72	97,14	100
1 X $10^8$ conidias/ml	8,57	57,14	91,43	100	11,43	65,71	97,14	100
1 X $10^9$ conidias/ml	11,43	68,57	100	100	25,71	74,28	100	100

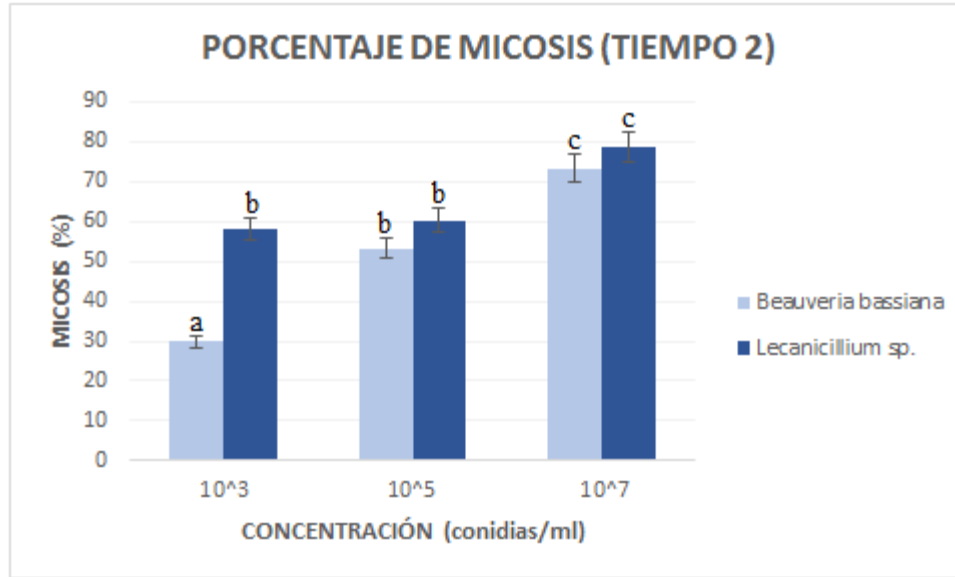
**Tabla 3.** Porcentajes de mortalidad para los diferentes hongos entomopatógenos con sus respectivas concentraciones evaluadas sobre insectos trips, en 4 diferentes tiempos bajo condiciones de invernadero.

Para la obtención del porcentaje de micosis se tomaron los trips muertos de cada una de las unidades experimentales y posteriormente se colocaron cámara húmeda durante 10 días.



**Gráfica 9.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*).

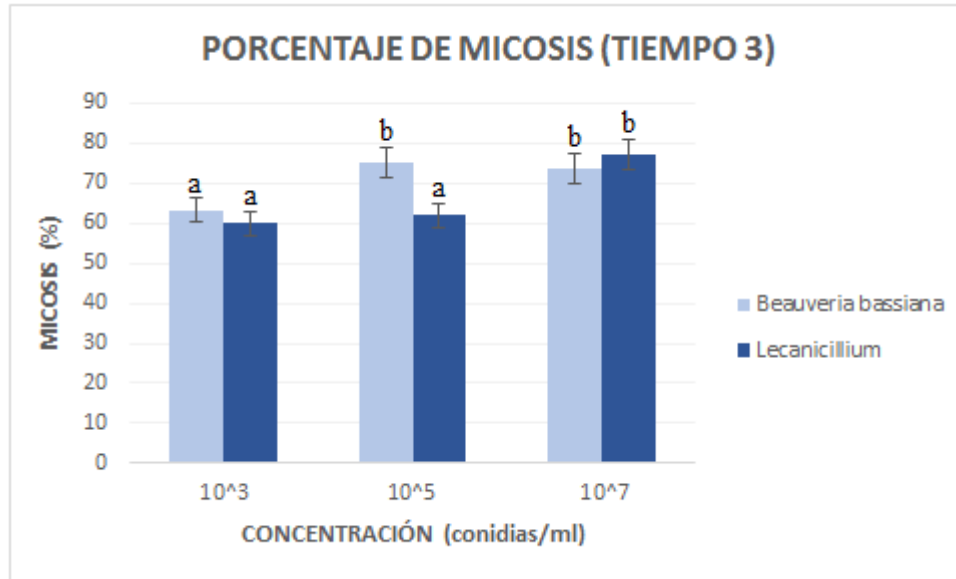
No se realizó análisis de varianza debido a que los datos presentaron alta similitud, evidenciándose en la gráfica 9 que para ambas cepas de hongos en la concentración de 10<sup>3</sup> conidias/ml no se obtuvieron trips micosados luego de pasar dos días en cámara húmeda. Por su parte los dos hongos en la concentración de 10<sup>5</sup> conidias/ml solo para el hongo *Lecanicillium* sp. se obtuvo un 30% de trips micosados. En la concentración de 10<sup>7</sup> conidias/ml para *Lecanicillium* sp. la cantidad de trips micosados correspondió al 40% mientras que para *B. bassiana* fue del 10% (Gráfica 9).



**Gráfica 10.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium sp.* en concentraciones de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*).

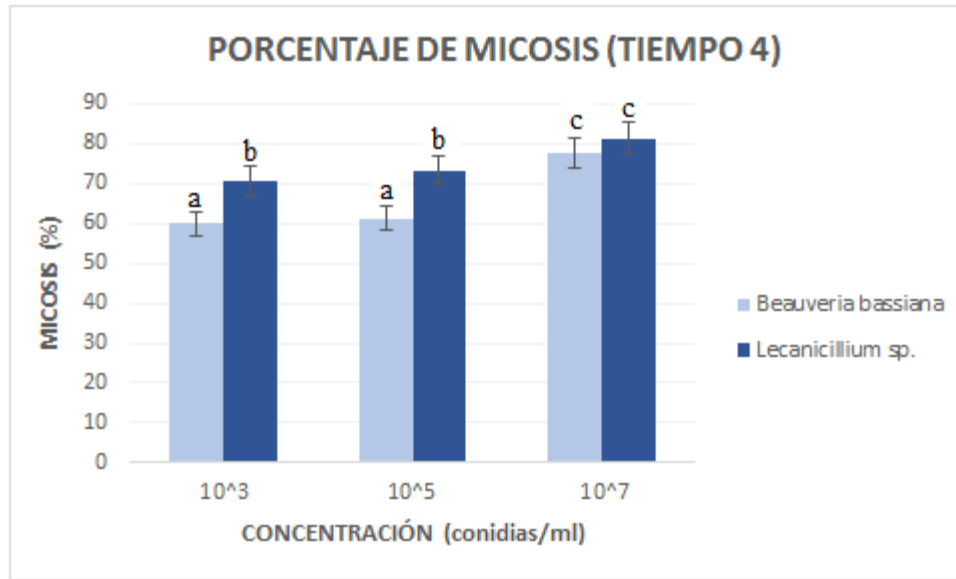
Para la determinación de las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA arrojando un  $p=0,36$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad.

Los porcentajes de mortalidad para *Beauveria bassiana* en la concentración 10<sup>3</sup> conidias/ml fue del 30%, en 10<sup>5</sup> conidias/ml del 53,33% y en 10<sup>7</sup> conidias/ml del 73,33%; mientras que para *Lecanicillium sp.* en la concentración 10<sup>3</sup> conidias/ml fue del 56,68%, en 10<sup>5</sup> conidias/ml del 60% y en 10<sup>7</sup> conidias/ml del 78,33%. Para ambas cepas los porcentajes aumentaron con el aumento de la concentración aplicada (Gráfica 10).



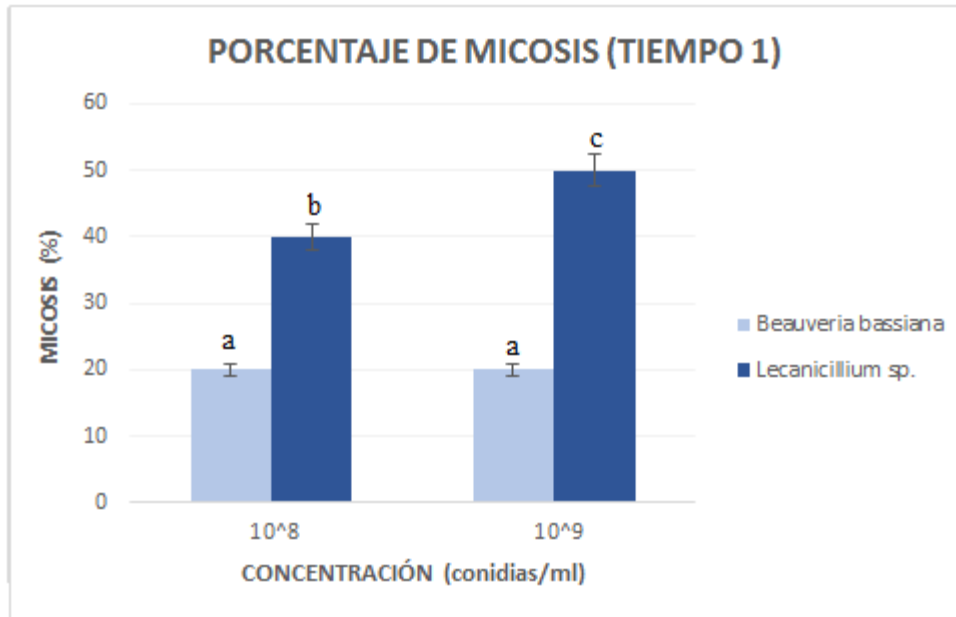
**Gráfica 11.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*).

El análisis ANOVA para este caso arrojó un  $p=0,35$  y los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Los porcentajes de micosis para *B. bassiana* aumentaron con el aumento de la concentración aplicada  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$ , con porcentajes del 63,33%, 71,43% y 75% respectivamente. Para *Lecanicillium* sp. fueron de 60%, 62% y 77,14% en ese mismo orden de concentraciones aplicadas (Gráfica 11).



**Gráfica 12.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$  conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*).

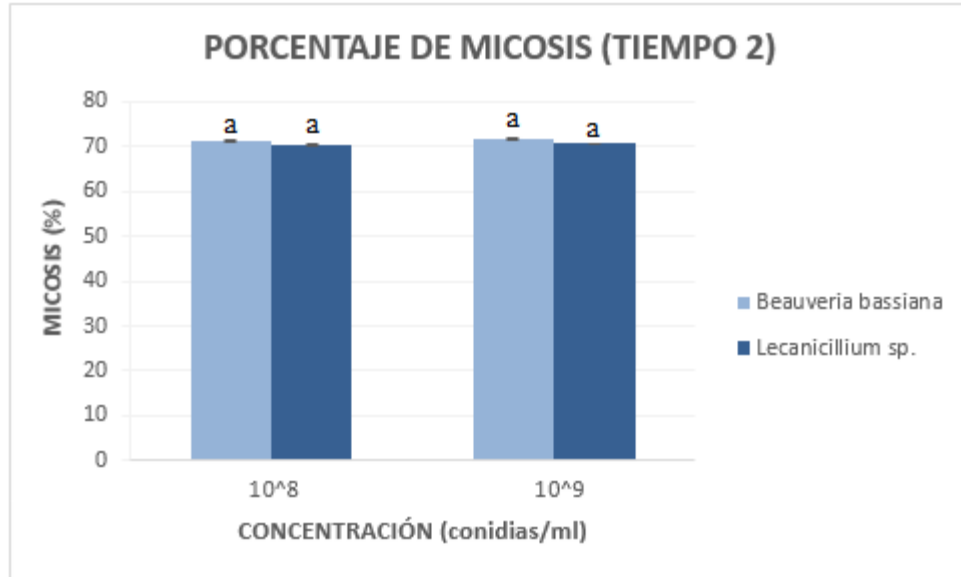
El análisis ANOVA para este caso arrojó un  $p=0,27$  y los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Los porcentajes de micosis para *B. bassiana* aumentaron con el aumento de la concentración aplicada  $10^3$ ,  $10^5$  y  $10^7$ , con porcentajes del 63,33%, 71,43% y 75% respectivamente. Para *Lecanicillium* sp. fueron de 60%, 62% y 77,14% en ese mismo orden de concentraciones aplicadas (Gráfica 12).



**Gráfica 13.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 1 sobre trips (*F. occidentalis*).

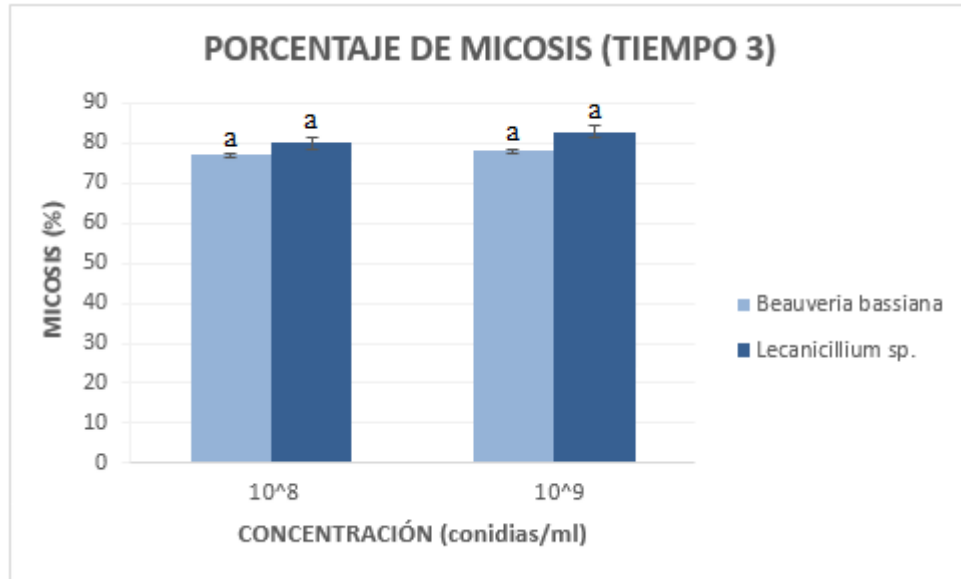
Los datos no cumplieron los supuestos de normalidad con ninguna transformación utilizada, por ende para determinar la diferencia estadísticas de medias se realizó un análisis no paramétrico Kruskal Wallis arrojando un  $p=0,45$ . Los porcentajes de micosis para *B. bassiana* en las concentraciones de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml fueron de 20% en ambas, mientras que para *Lecanicillium* sp. fueron de 40% y 50% en ese mismo orden de dosis aplicadas (Gráfica 13).





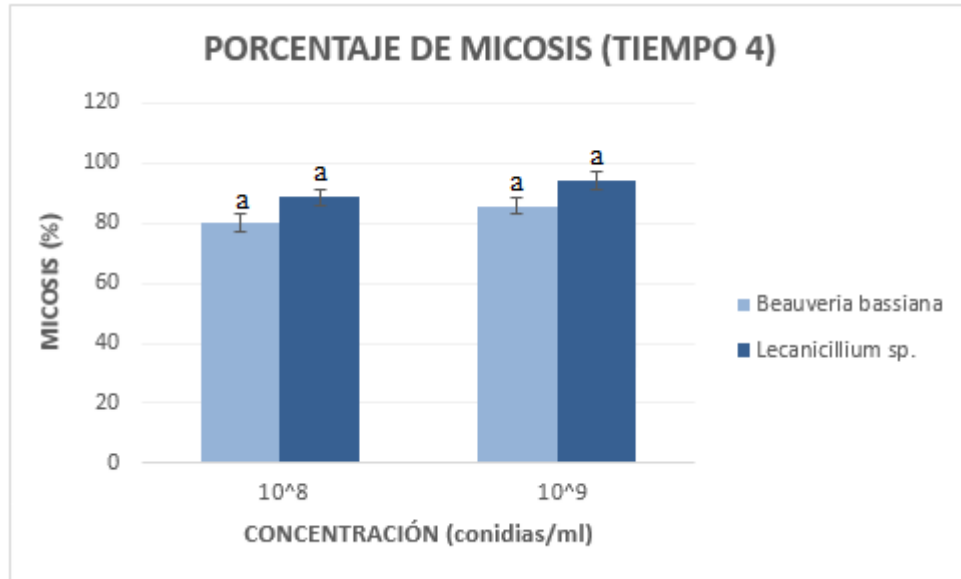
**Gráfica 14.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de  $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml evaluados en el tiempo 2 sobre trips (*F. occidentalis*).

Se realizó un análisis de varianza ANOVA arrojando un valor  $p=0,91$ . Los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Las concentraciones evaluadas ( $10^8$  y  $10^9$  conidias/ml) para ambas cepas de hongos fueron valores muy cercanos, 71,43% y 71,91% para *B. bassiana* y 70,33% y 70,66% para *Lecanicillium* sp. respectivamente (Gráfica 14).



**Gráfica 15.** Comparación del porcentaje de miosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 3 sobre trips (*F. occidentalis*).

Los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Se realizó un análisis de varianza ANOVA, arrojando un  $p=0,26$ . Se evidencia que la concentración de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml de *B. bassiana* fueron valores cercanos, 77% y 78% respectivamente, al igual que para *Lecanicillium* sp. con valores de 80% y 82,86% respectivamente (Gráfica 15).



**Gráfica 16.** Comparación del porcentaje de micosis entre las cepas *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. en concentraciones de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml evaluados en el tiempo 4 sobre trips (*F. occidentalis*).

Los datos cumplieron los supuestos de normalidad. Se realizó un análisis de varianza ANOVA, arrojando un  $p=0,33$ . Se obtuvo como resultado que la concentración de 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> conidias/ml de *B. bassiana* fueron valores cercanos, 80% y 85,71% respectivamente, al igual que para *Lecanicillium* sp. con valores de 88,57% y 94,28% respectivamente (Gráfica 16).

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados que arrojó el presente trabajo proporcionan información de mucho interés, debido a que se pudo observar que las concentraciones aplicadas ( $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  conidias/ml) de los hongos *B. bassiana* y *Lecanicillium* sp. evaluadas a diferentes tiempos, tienen una relación directamente proporcional al número de trips (*F. occidentalis*) muertos, es decir, a medida que aumenta la concentración y el tiempo de evaluación de cada una de las cepas de hongos, el número de insectos muertos también aumenta (gráfica 1 a 8). Además se pudo observar que pasados los 6 días de aplicación de la concentración  $1 \times 10^5$  conidias/ml, *Lecanicillium* sp. controla a más del 50% de la población de trips tratada, mientras que *B. bassiana* a partir de la concentración  $1 \times 10^7$  conidias/ml, adicional a ello cabe resaltar que para este mismo tiempo de evaluación de las dosis  $1 \times 10^7$  conidias/ml de ambas cepas de hongos, los trips muertos fueron superiores al 80% (gráfica 3). Ya pasados 8 días luego de la aplicación de las dosis de cada hongo se pudo observar que los trips controlados por estas superan el 90% de la población llegando incluso a 100% por parte de *Lecanicillium* sp. (gráfica 4), lo que indica que los conidios evaluados de las diferentes cepas, tiene un buen potencial entomopatígeno sobre los insectos plaga *F. occidentalis*.

Los datos arrojados luego de la aplicación de las concentraciones  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  conidias/ml mostraron que a mitad del tiempo de evaluación (tiempo 4) los insectos plaga controlados por ambas cepas de hongos fueron por encima del 55% y 65% respectivamente, mientras que para el tiempo 6 y 8 los trips muertos superaron el 90% y 100% respectivamente (gráfica 6,7,8, tabla 3), lo que indica que ambas cepas de hongos tienen un alto potencial controlador sobre dicha plaga ejerciendo acción entomopatígena característica de estos dos hongos como lo ha reportado (Díaz et al.2006).

A pesar de que los dos hongos utilizados en este trabajo mostraron que durante todo el tiempo de evaluación tienen efecto controlador sobre la plaga, se observó que *Lecanicillium* sp., tiene mayor potencial entomopatígeno para controlar el trips de las flores *F. occidentalis* en comparación con *B. bassiana*, esto puede deberse a que *Lecanicillium* sp. después de penetrar continuamente con un crecimiento acelerado dentro del cuerpo del insecto, invade órganos y tejidos, probablemente esto se debe a la acción tóxica de la toxina (bassinolide) que produce este hongo, la cual conlleva

a la muerte del animal, observándose que los insectos muertos por este entomopatógeno dejan de alimentarse y se quedan adheridos a la hoja en que se encuentran (Cano et al.2004).

En cada una de las anteriores gráficas (9 a 16), la micosis que se presentó después de colocar cada trips muerto en cámara húmeda, fue variable en cuanto al tiempo y a la dosis aplicada, sin embargo, se observó mayor rapidez y porcentaje de formación de estructuras reproductivas en los insectos tratados con *Lecanicillium* sp.

También se pudo observar que pasados 4 días en cámara húmeda, los datos fueron menos semejantes y se pudo obtener porcentajes de micosis más variables entre las dosis aplicadas, encontrándose porcentajes de micosis por encima del 50% en las concentraciones de  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^7$  conidias/ml de ambas cepas de hongos a excepción de la concentración  $1 \times 10^3$  conidias/ml de *B. bassiana* con porcentaje de micosis de 30%. Pasados 8 días de evaluación de micosis en estas mismas concentraciones los porcentajes de micosis fueron iguales o superiores al 60% hasta llegar a un valor máximo de 81,33%, efecto más potencializado ocurrido en las concentraciones más altas ( $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  conidias/ml) donde se obtuvieron valores en el tiempo 2 superiores al 70% de micosis y en el tiempo 4 superiores al 80% para ambas cepas de hongos, lo que indica que a raíz de que los datos arrojados en la evaluación fueron muy similares y para ambas cepas de hongos los valores p fueron superiores a 0,05, no hay efectos diferenciales entre los tratamientos por tiempo de evaluación; sin embargo ambas cepas de hongos poseen la capacidad de invasión micelial a partir de la germinación de los conidios en el cuerpo de los insectos muertos y hacen posible su identificación como agentes de control de la plaga del trips de las flores *F. occidentalis*.

Adicional a lo anteriormente mencionado, se presentaron diferentes etapas de desarrollo de ambas cepas de hongo sobre adultos de trips (*F. occidentalis*) en los diferentes tiempos, posiblemente porque las condiciones ambientales favorecieron el crecimiento de cada cepa. Cada etapa que se desarrolló, se pudo identificar posterior al aislamiento de la parte micelial crecida sobre los insectos y luego identificado bajo el microscopio con la ayuda de literatura y de esta manera establecer que el micelio que se desarrolló en los trips muertos pertenecían a las cepas de hongos evaluadas en este trabajo. Cabe resaltar, que el éxito de la germinación y la penetración no depende esencialmente del porcentaje de germinación, sino que la dependencia es del tiempo en que dure

germinación de los conidios, como también lo puede ser el modo como germina, que tan agresivo sea el hongo evaluado, tipo de espora y susceptibilidad del hospedante (Samson et al. 1988).

Los resultados obtenidos con las dos cepas de hongos evaluadas en el presente trabajo demuestran que se puede generar una gran economía en cuanto al sector floricultor que enmarque la estrategia de ser potente en cuanto al manejo del control biológico, debido a que se disminuirían las incidencias negativas que se tiene por el uso excesivo de insecticidas en los floricultivos, que además generan efectos de resistencia en los insectos plagas y acumulan más el riesgo ambiental, asimismo bajaría el riesgo a la salud humana, de esta misma forma no se verían tan afectados los insectos benéficos que habitan en nuestro medio, los cuales también son utilizados como una buena herramienta biológica de control.

Reportes han demostrado que especies pertenecientes al género *Beauveria*, tienen la capacidad de causar muerte en trips (hasta el 88% de mortalidad a los 6 días) (Sánchez et al. 2011), cercanos a los porcentajes de mortalidad de trips logrados en esta investigación con mismo género; también reportes de Cañedo en el 2004, apuntan a que la mayoría de los insectos que son atacantes de plantas cultivadas tienen enemigos naturales que los parasitan y matan, de esta manera se genera una reducción considerable en su población. Dentro de los enemigos se encuentran *Beauveria* spp., que ha sido registrado como un organismo de frecuente aislamiento en suelo (Dromph 2001, Meyling y Eilenberg 2006, Sun et al. 2008).

Otros estudios han demostrado que *B. bassiana* y *Lecanicillium* sp., han sido virulentos contra el trips occidental de las flores, *F. occidentalis* (Ugine et al. 2005); todos estos hallazgos encontrados anteriormente nos indican que los resultados obtenidos en la presente investigación son de valorarse, que los hongos evaluados son potentes e importantes agentes para el control de esta plaga y que además de ello pueden ser utilizados como una económica herramienta ambiental en control biológico.

Es importante tener presente que el control biológico es una herramienta útil, que cada vez más genera buenos resultados, debido a que los requerimientos fitosanitarios implican un medio donde se generen productos biológicos que no afecten negativamente la fauna benéfica de nuestro

alrededor y por supuesto los ecosistemas. Es por ello que el control biológico debe estar direccionado con estrategias adecuadas que ayuden a practicar y cumplir todas las normas fitosanitarias y a combatir poco a poco los contaminantes del planeta. Es pertinente saber que la propagación de hongos entomopatógenos es un tema de sumo cuidado, ya que se debe saber su especificidad para no realizar un uso inadecuado de los mismos deseándolos aplicar para la regulación de todos insectos plaga (Guarín et al. 2003). Según Fargues y Remaudiere en 1977 existen factores que determinan o inciden sobre la especificidad de un hongo, entre ellos se encuentra el estado fisiológico y la edad de los insectos, la coincidencia espacio-temporal entre el insecto y el hongo, la existencia de patotipos de una especie de hongo, entre otros.

Todo aislamiento fúngico obtenido, formulado, comercializado y disponible en nuestro medio, se caracteriza por una habilidad específica ya sea de control, producción de metabolitos secundarios, entre otros, la cual los hace diferentes y mediante el cual depende el éxito en el programa de control integral (Guarín et al. 2003).

Los resultados presentados en este estudio permiten aportar al control de los insectos plaga trips *F. occidentalis* que tienen gran importancia económica en el sector floricultor debido a que es una plaga de carácter cuarentenario. Por ello se hace necesario recurrir a un manejo integral de plagas donde no solo se reduzcan costos por productos químicos sino que se mantenga un equilibrio natural de los agroecosistemas.

## 9. CONCLUSIONES

- Las cepas de hongos evaluados (*B. bassiana* y *Lecanicillium* sp.) tuvieron un efecto patogénico sobre adultos trips bajo condiciones de invernadero en plantas de crisantemo.
- 
- A pesar de que *Lecanicillium* sp. tuvo mejores resultados con respecto a *B. bassiana*, cabe resaltar que éste último arrojó resultados de mucho valor ya que los datos permiten afirmar que también se comporta como un adecuado entomopatógeno para trips *F. occidentalis* cumpliendo acción potente como agente controlador de dicha plaga.
- Se logró un porcentaje de micosis hasta el 94,28%, con el hongo *Lecanicillium* sp. y para *Beauveria bassiana* hasta de 85,71% en los ensayos de patogenicidad.
- De las dos cepas de hongos evaluadas, el que mejor resultados produjo fue *Lecanicillium* sp. tanto en las dosis aplicadas como en el tiempo de acción, de esta manera se puede considerar como un agente para el control biológico, debido a su rapidez de acción y un hongo con gran potencial para causar infección en los insectos plaga *F. occidentalis*, por lo que, de acuerdo a los resultados podría ser usado en pruebas de campo a mayor escala para establecer un sistema de control integrad para la plaga trips.



## 10. RECOMENDACIONES

- Se propone llevar a cabo pruebas en campo a una mayor escala para determinar el potencial biocontrolador de estas dos cepas de hongos y de esta forma verificar y comparar con los resultados bajo condiciones de invernadero a pequeña escala obtenidos en el presente trabajo.
- Es de suma importancia realizar estudios de identificación de la cepa de hongo entomopatógeno *Lecanicillium* sp., usando técnicas genéticas y moleculares, para obtener una determinación mucho más fina y así llegar hasta especie.
- Es recomendable realizar la evaluación de la combinación de conidios de ambas cepas de hongos para el control de los insectos plaga trips *F. occidentalis*.

## BIBLIOGRAFÍA

Abad MM, Pascual F, García TC. 1991. Capturas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thys.: Thripidae) en trampas de distintos colores en cultivos en invernaderos. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 17(2), 265-270.

Acosta JA. 2006. *Evaluación de hongos entomopatógenos como controladores biológicos de Scutigerella immaculata* (Doctoral dissertation, Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias, Pontificia universidad javeriana. Bogotá, Colombia).

Aguirre EPA, Krugg JHW. 2014. Efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre el ácaro *Panonychus citri* en condiciones de laboratorio. *REVISTA REBIOL*, 34(1), 42-50.

Altieri MA. 1992. *Biodiversidad, agroecología y manejo de plagas*. Cetal.

Álvarez D.I. 2003. Plagas y enfermedades de carácter cuarentenario *Thrips palmi*. Thysanoptera:Thripidae. P. 1-12.

Alves SB. 1998. Fungos entomopatógenicos. p. 289-370. In S.B. Alves (ed.) Controle microbiano de insetos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Piracicaba, Sao Paulo, Brasil.

Arevalo PE, Quintero FO, Correa LG. 2003. Survey of thrips (Insecta: Thysanoptera) in flower crops at three localities of the municipality of Medellín, Antioquia (Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*.vol.29, No.2.

Asaff TAY, Reyes Vidal VE. López y López MdelaT. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva* 21:291–295.

Asocolflores. 2009. Association of colombian flower exporters, Colombian floriculture; statistics.

Bayer cropscience. [internet]. 2008. *Thrips palmi*. Fecha de acceso: 2011 mayo 21. Disponible en: <http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=680>.

Bedding, R. A., Akhurst, R. J., & Kaya, H. K. (Eds.). (1993). *Nematodes and the biological control of insect pests*. CSIRO PUBLISHING.

Broadbent AB, Allen WR, Footitt RG. 1987. The association of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) with greenhouse crops and the tomato spotted wilt virus in Ontario. *The Canadian Entomologist*, 119(05), 501-503.

Bustillo A, Castillo H, Villalba D, Morales E, Vélez P. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. In *ASIC, 14e. Colloque, San Francisco, USA* (pp. 679-686).

Bustillo A. 2009. Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos de espárragos. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(1), 12-17.

Cano E, López JA, Cano E, Carballo CV, Guharay F. 2004. *Control biológico de plagas agrícolas* (No. 53). Bib. Orton IICA/CATIE.

Cañedo V, Ames T. 2004, Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos, centro internacional de la papa (CIP), Lima, Perú. 62 p.

Carballo M. Guharay F. 2004. Control biológico de plagas agrícolas. Primera edición. Managua : CATIE. Serie técnica. Manual técnico/ CATIE; N° 53.

Cardona N, Calle J, Salazar DA. Manual de laboratorio de Control Microbiológico. Instituto de Biología. Universidad de Antioquia. En desarrollo.

Castillo CE, Cañizalez Briceño LM, Valera R, Godoy JC, Guedez de Olivar C, Olivar R, Morillo S. 2012. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo-Venezuela.

Castineiras a, baranowski r m, glenn h. 1996. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as Biological Control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). *Florida Entomologist*, Vol. 79, No. 3, pag. 458

Castresana J, Gagliano E, Puhl I, Bado S, Vianna I, Castresana M. 2008. Attraction of thrips *Frankliniella occidentalis* (pergande)(thysanoptera: thripidae) to light traps in *Gerbera jamesonii* (g.) crops. IDESIA (Chile) TVhorilpuimdaeen).P. 51-516

Charnley AK, Collins SA. 2007. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Pest Control. *Environmental and microbial relationships*, 4, 159.

Constantine John A. 1977. Introducción a la Micología. Editorial Universitaria de Buenos Aires.

Díaz, M. P., Macías, A. F., Navarro, S. R., & De La Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 31(12), 856-860.

Dromph K. 2001. Dispersal of the entomopathogenic fungi by collembolans. *Soil Biology and Biochemistry*. 33 2047-2051.

Fargues, J., & Remaudiere, G. 1977. Considerations on the specificity of entomopathogenic fungi. *Mycopathologia*, 62(1), 31-37.

- Ferrón P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. In BURGESS, H. ed. Microbial control of pest and plant diseases. 1970-1980. New York, US. Academic Press. p. 465-482.
- Fischbein D. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas. Serie técnica: “Manejo integrado de plagas”. Laboratorio de ecología de insectos. INTA EEA Bariloche. Cuadernillo n° 15. ISSN 1851-4103
- Gamundi JC, Perotti E. 2009. Evaluación de daño de *Frankliniella schultzei* (Try-bom) y *Caliothrips phaseoli* (Hood) en diferentes estados fenológicos del cultivo de soja.
- Gaum WG, Giliomee JH, Pringle KL. 1994. Life history and life tables of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), on english cucumbers. Bulletin of Entomological Research 84: 219-224.
- Gerin C, Hance T, Van IMPEG. 1994. Demographical parameters of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae). Journal of Applied Entomology 118 (4-5): 370-377.
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizalez, L., & Olivar, R. 2008. Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 13, 50-74.
- Guarín JH y Parra P. 1998. Experiencias de liberación de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) en un cultivo comercial de frijol infestado por *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) en el oriente antioqueño. En: El *Thrips palmi*, nueva plaga de la agricultura colombiana. Comité Departamental de *Thrips palmi*. Imprenta Departamental. P.163
- Guarín JH, Vasco J. 2003. Patogenicidad de aislamientos de *Beauveria* spp. (deuteromycotina: hyphomycetes) sobre adultos de *Thrips palmi* Karny (thysanoptera: thripidae). Corpoica. Rionegro, Antioquia, Colombia. P. 16 -29.
- Kühne M, Alcázar J, Jung K, Stephan D, Vidal S. 2003. Influencia de la temperatura sobre el crecimiento y la patogenicidad de *Beauveria bassiana*, patógeno del gorgojo de los Andes. *El gorgojo de los Andes Premnotrypes suturicallus*, 143.
- Madrigal A. 2003. Insectos chupadores y raspadores III. Thysanoptera. En: Calderón LF, editor. Insectos forestales en Colombia, Biología, Hábitos, Ecología y Manejo. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. P. 726-733.
- Meyling N, Eilenberg J. 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113 336–341
- Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integral de Plagas. (CATIE, Costa Rica) 63:95–103.

- Mound LA., Morris DC. 2007. The insect order Thysanoptera: classification versus systematics. *Zootaxa*, 1668, 395-411.
- Parrella, M. P., & Jones, V. P. 1987. Development of integrated pest management strategies in floricultural crops. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 33(1), 28-34.
- Pedro A, Contreras J, Sánchez JA. 1998. Influencias de temperaturas extremas en el desarrollo de *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 24(2), 251-266.
- Pizano, M. 2001. Floricultura y medio ambiente: Producción de flores sin bromuro de metilo. *PNUMA, París*.
- Pucheta Díaz MA. Flores Macías S, Rodríguez Navarro Mdelat. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31:856–860.
- Rijn P CJ, Mollema C, Steenhuis-Broers GM. 1995. Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research* 85: 285-297
- Samson, RA., HC. Evans and J.P. Latgé. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer, Verlag, Berlin
- Sánchez SR, Lara JS, Medina RF. 2011. Occurrence of Entomopathogenic Fungi from Agricultural and Natural Ecosystems in Saltillo, México, and their Virulence Towards Thrips and Whiteflies. University of Wisconsin Library, *Journal of Insect Science*. P.1-10.
- Sanderson JP. 1990. Western flower thrips biology and control. *Long Island Horticulture News*. August 1990, p.1-3.
- Senasa. 2005. Espárrago peruano. Manejo integrado de plagas. Senasa Perú, Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Lima, Perú, 100 p.
- Shipp JL. 1995. Monitoring of western flower thrips on glasshouse and vegetable crops, p. 547-555. En: Parker, BL, (ed.). *Thrips biology and management*. New York, Plenum Press.
- Sun B, Yu H, Chen AJ, Liu XZ. 2008. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards - *Crop Protection* 27 1421–1426
- Teerling CR. 1995. Chemical ecology of western flower thrips, pp. 439-447. En: Parker, B. L.; Skinner, M.; Lewis, T. (eds.). *Thrips biology and management*. NATO ASI Series A: Life Sciences 276. Plenum Press, New York.

Ugine TA, Wraight SP, Brownbridge M, Sanderson JP. 2005. Development of a novel bioassay for estimation of median lethal concentrations (LC50) and doses (LD50) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 89: 210–218.

Vélez E. 2007. Colombian floriculture. A case of competitive entrepreneurship, with social and environmental responsibility, in a country under difficult and changing conditions [internet]. Article prepared for The Ellison Chair for International Floriculture, No. 2: 1-16, of the distinguished lecture series, Texas A and M. University, College Station, Texas. Fecha de acceso: 2011 septiembre 8.

Vincini AM, Jacobsen B, Tulli MC, Carmona DM, López R. 2014. Dinámica poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) y Thrips tabaci Lindeman en Cultivos de papa (*Solanum tuberosum*). *ENTOMOTROPICA*, 29 (1), 17-27.

Yudin LS, Mitchell WC, Cho JJ. 1987. Color preference of thrips (Thysanoptera: Thripidae) with reference to aphids (Homoptera: Aphididae) and leafminers in Hawaiian lettuce farms. *Journal of Economic Entomology*, 80(1), 51-55.