

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL



**Universidad de El Salvador**  
*Hacia la libertad por la cultura*

**Hongos entomopátogenos para el control de mosca blanca  
*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) en el  
cultivo de chile dulce (*Capsicum annum* L.) bajo  
condiciones protegidas.**

**POR:**

**CARLOS ANTONIO BURGOS DÍAZ**

**VICTOR MANUEL LARA FLORES**

**WALTER ALFREDO RECINOS HERNÁNDEZ**

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**SAN SALVADOR, MARZO DEL 2016**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR INTERINO:**

**LIC. JOSÉ LUIS ARGUETA ANTILLÓN**

**SECRETARIA GENERAL:**

**DOCTORA ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**DECANO:**

**ING. Agr.M.Sc. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA**

**SECRETARIO:**

**ING. Agr.M.Sc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL:**

---

**Ing. Agr.M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas Flores**

**DOCENTES DIRECTORES:**

---

**Ing.Agr.M.Sc. Miguel Rafael Paniagua Cienfuegos**

---

**Ing. Agr. M.Sc José Miguel Sermeño Chicas**

---

**Ing. Agr. Carlos Armando Borja Melara**

**COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN:**

---

**Ing. Agr. Ricardo Ernesto Gómes Orellana**

## RESUMEN.

El chile dulce (*Capsicum annuum* L.) es una de las hortalizas que utilizan grandes inversiones en su manejo y producción. En El Salvador, HIDROEXPO, S.A. de C.V es una de las empresas con sistemas de producción hidropónica y de cultivo protegido de chile dulce o pimentón, orientado al mercado internacional. Sin embargo, a pesar de la tecnología empleada y las estructuras de protección, siempre existe la aparición de plagas y enfermedades. La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.), es uno de los principales insectos que ocasiona pérdidas en cultivos hortícolas. El principal problema fitosanitario ocasionado por la *Bemisia tabaci* (Genn.) se da al servir como vector de geminivirus, los cuales ocasionan pérdidas importantes en la mayoría de cultivos hortícolas y leguminosas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar hongos entomopatógenos como alternativa en la reducción de la población de ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.), para su utilización en programas MIP. La investigación se realizó de agosto 2014 a noviembre 2015. La primera fase fue de laboratorio, realizando la reproducción, pruebas de viabilidad, pureza y agresividad del hongo *Beauveria brongniartii*. Luego se realizó la fase de campo en instalaciones protegidas brindadas por CENTA donde se montó el área de trabajo con plantas de chile pimentón, evaluando cuatro cepas de hongos entomopatógenos a la concentración de  $1 \times 10^5$ : *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Isaria fumorosea* y *Lecanicillium lecanii*, utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con cinco repeticiones, tomando como variables la mortalidad mediante un análisis ANVA. En esta prueba *Beauveria brongniartii* ejerce mejor control sobre ninfas de mosca blanca con una mortalidad promedio de 60%. Se procedió a determinar la  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  de *B. brogniartii*. Se realizaron bioensayos colocando 20 jaulas clip con 300 moscas cada una, a estas jaulas se le aplicaron cuatro concentraciones de conidios *B. brogniartii* y un testigo absoluto (agua destilada) a las ninfas de segundo estadio. Las concentraciones evaluadas fueron:  $1.0 \times 10^6$ ,  $1.0 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  conidios por mililitro. La  $CL_{50}$  de la cepa de *B. brogniartiise* estimó en  $5 \times 10^7$  conidios por ml y la  $CL_{90}$  en  $1 \times 10^8$  conidios por ml. Demostrando que los hongos entomopatógenos son una buena alternativa de control biológico contra *Bemisia tabaco* (Genn.).

Palabras clave: Mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Genn.), hongos entomopatógenos, chile dulce, *Capsicum annuum*, control biológico.

## **AGRADECIMIENTOS.**

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Por proporcionarnos nuestra formación profesional.

Al Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA) por habernos permitido realizar en el laboratorio y vivero de parasitología vegetal la fase experimental y práctica de esta investigación.

A HIDRO-EXPO por brindarnos su apoyo económico y logístico, para la realización de este estudio.

A NUESTRO ASESORES

Ing.Agr.M.Sc. Miguel Rafael Paniagua Cienfuegos.

Ing.Agr. M.Sc. José Miguel Sermeño Chicas.

Ing.Agr. Carlos Armando Borja Melara.

AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA VEGETAL DEL CENTA.

A LOS MIEMBROS DEL COMITÉ DE OBSERVACIÓN.

Ing. Agr. Leopoldo Serrano Cervantes.

Ing. Agr.M.Sc. Raúl Iraheta Villatoro.

Ing. Agr. M.Sc. Rafael Antonio Menjívar Rosa.

## **DEDICATORIA.**

A DIOS TODO PODEROSO.

Por haberme dado fuerza y guiarme en el transcurso de mi carrera.

A MI MADRE.

María Del Carmen Díaz Guardado.

Como un agradecimiento por el inmenso amor y el apoyo incondicional que me brindó en mi formación profesional.

A MI ABUELA Y TIOS.

Modesta Chávez.

Gonzalo Burgos, José Chávez y Reymundo Chávez.

Por su apoyo incondicional tanto económica como moralmente.

A LOS ASESORES DE TESIS.

Ing. Agr. M.Sc. Miguel Rafael Paniagua Cienfuegos.

Ing. Agr. M.Sc. José Miguel Sermeño Chicas.

Ing. Agr. Carlos Armando Borja Melara.

Por su apoyo y orientación profesional a lo largo del proceso de realización de la tesis.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS.

Walter Alfredo Recinos Hernández y Víctor Manuel Lara Flores.

Por compartir el esfuerzo y empeño durante la realización de la tesis.

**CARLOS ANTONIO BURGOS DÍAZ.**

## **DEDICATORIA.**

A Jehová Dios, por haberme dado la sabiduría necesaria y permitido terminar mis estudios universitarios.

A mi madre Reina Elizabeth Hernández de Recinos, por todo su amor y paciencia, sus consejos y su apoyo incondicional durante el transcurso de mis estudios superiores.

A mi padre José Mauricio Recinos Aragón, por todos sus consejos y paciencia en el transcurso de mis estudios superiores.

A nuestros asesores de tesis Miguel Paniagua, Miguel Sermeño y Carlos Borja, por su orientación en la elaboración de nuestra tesis.

A los integrantes del laboratorio de Parasitología Vegetal del CENTA por todo su apoyo incondicional y la asesoría técnica necesaria para la elaboración de nuestra tesis.

A mis compañeros de tesis por el apoyo brindado y las excelentes experiencias obtenidas durante el transcurso de nuestros estudios superiores y elaboración de nuestra tesis.

**WALTER ALFREDO RECINOS HERNÁNDEZ.**

## **DEDICATORIA.**

A DIOS TODO PODEROSO Y A LA VIRGEN MARIA

Por haberme dado fuerza y guiarme en el transcurso de mi carrera.

A MI ESPOSA

Jacqueline Roxana Benavides de Lara

Como un agradecimiento por el inmenso amor y el apoyo que me brindó en el proceso de la elaboración de la tesis.

A MI MADRE

Cristina Delia Flores Peña

Como un agradecimiento por el cariño y apoyo que me brindaron en mi formación profesional.

A MIS HERMANOS

Adrián Alejandro Lara, Iliana Isabel Lara Flores, Gerardo Alfonso Lara Flores.

Por su comprensión y apoyo incondicional.

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

Que de una o de otra forma me brindaron su apoyo.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS

Walter Alfredo Recinos Hernández.

Carlos Antonio Burgos Díaz.

Por compartir el esfuerzo durante la carrera y el excelente desempeño en equipo de la investigación.

**VICTOR MANUEL LARA FLORES.**

## ÍNDICE GENERAL

|  |      |
|--|------|
| RESUMEN.....   | iv   |
| AGRADECIMIENTOS.....   | v    |
| DEDICATORIA.....   | vi   |
| ÍNDICE GENERAL.....  | ix   |
| ÍNDICE DE CUADROS.....   | xiii |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....   | xiv  |
| <br>   |      |
| 1. INTRODUCCIÓN.....   | 1    |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....   | 2    |
| 2.1. Características generales de la mosca blanca, <i>Bemisia tabaci</i> (Genn)..... | 2    |
| 2.2. Adaptación.....   | 2    |
| 2.3. Ciclo Biológico.....  | 2    |
| 2.3.1. Morfología:.....  | 2    |
| 2.3.1.1. Huevo.....  | 2    |
| 2.3.1.2. Primer estadio ninfal.....  | 3    |
| 2.3.1.3. Segundo estadio ninfal.....   | 3    |
| 2.3.1.4. Tercer estadio Ninfal.....  | 3    |
| 2.3.1.5. Pupa.....   | 3    |
| 2.3.1.6. Adulto.....   | 4    |
| 2.3.2. Daños ocasionados.....  | 4    |
| 2.3.2.1. Directos.....   | 4    |
| 2.3.2.2. Indirectos.....   | 4    |
| 2.3.2.3. Transmisión de virus.....   | 4    |
| 2.3.3. Modo de transmisión.....  | 5    |
| 2.3.3.1. Cultivos preferidos por <i>Bemisia tabaci</i> (Genn.).....                  | 5    |
| 2.3.4. Control biológico.....  | 5    |
| 2.3.4.1. Parasitoides.....   | 5    |
| 2.3.4.2. Depredadores.....   | 5    |
| 2.3.4.3. Patógenos.....  | 5    |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.5. Limitaciones del control biológico.....                                  | 6  |
| 2.4. Hongos entomopatógenos.....  | 6  |
| 2.4.1. Características que favorecen el uso de los hongos entomopatógenos ..... | 6  |
| 2.5. Modo de acción de los hongos entomopatógenos.....                          | 8  |
| 2.5.1. Desarrollo de una enfermedad producida por hongos.....                   | 8  |
| 2.5.2. Germinación de la conidia en la cutícula del insecto. ....               | 8  |
| 2.5.3. Penetración de la cutícula.....  | 8  |
| 2.5.4. Producción de toxinas.....   | 8  |
| 2.5.5. Muerte del insecto.....  | 9  |
| 2.5.6. Desarrollo de la fase micelial. ....                                     | 9  |
| 2.5.7 Emergencia del micelio hacia el exterior. ....                            | 9  |
| 2.5.8. Producción de unidades infectivas. ....                                  | 9  |
| 2.6. Formulaciones de hongos entomopatógenos.....                               | 9  |
| 2.6.1. Seca o polvo mojable.....  | 10 |
| 2.6.2. Líquida o emulsificable.....   | 10 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS.....  | 11 |
| 3.1. Descripción del estudio.....   | 11 |
| 3.2. Tratamientos.....  | 11 |
| 3.2.1. Productos formulados. ....   | 12 |
| 3.2.1.1. Botanigard® 22 WP.....   | 12 |
| 3.2.1.2. Vertisave® 5.....  | 12 |
| 3.2.1.3. Paetron.....   | 12 |
| 3.3. Aislamiento de <i>B. brogniartii</i> .....                                 | 13 |
| 3.3.1. Origen del aislamiento. ....   | 13 |
| 3.3.2. Espectro de acción. ....   | 13 |
| 3.4. Activación de <i>B. brogniartii</i> .....                                  | 13 |
| 3.4.1. Inoculación en cajas Petri. ....   | 13 |
| 3.5. Pruebas de calidad.....  | 14 |
| 3.5.1. Pureza. ....   | 14 |
| 3.5.2. Viabilidad. ....   | 14 |
| 3.5.3. Concentración.....   | 15 |
| 3.6. Multiplicación de <i>B. brogniartii</i> en granos de arroz.....            | 15 |

|   |    |
|---|----|
| 3.6.1. Preparación de frascos.....  | 16 |
| 3.6.2. Preparación de inóculo de <i>B. brogniartii</i> .....  | 16 |
| 3.6.3. Inoculación de <i>B. brogniartii</i> en frascos con granos de arroz.....   | 17 |
| 3.6.4. Extracción del hongo.....  | 18 |
| 3.7. Cría de <i>Bemisia tabaci</i> (Genn.).....   | 19 |
| 3.8. Establecimiento del cultivo experimental.....  | 20 |
| 3.9. Jaulas clip.....   | 20 |
| 3.10. Determinación de población inicial en jaulas clip.....  | 21 |
| 3.10.1. Determinación de ciclo de vida de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 22 |
| 3.10.2. Determinación de efectividad de cuatro aislamientos de hongos entomopatógenos en ninfas de segundo y tercer estadio de <i>B. tabaci</i> (Genn.).....  | 23 |
| 3.11. Concentración evaluada.....   | 23 |
| 3.12. Establecimiento de población de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 24 |
| 3.12.1. Aplicación de tratamientos.....   | 24 |
| 3.13. Análisis estadístico.....   | 25 |
| 3.14. Determinación de CL <sub>50</sub> y CL <sub>90</sub> de <i>B. brogniartii</i> sobre ninfas de segundo y tercer estadio de <i>B. tabaci</i> (Genn.)..... | 25 |
| 3.14.1. Concentraciones evaluadas.....  | 26 |
| 3.14.2. Establecimiento de población de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 27 |
| Figura 19. A Y B. Establecimiento de población de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 27 |
| 3.14.3. Aplicación de tratamientos.....   | 27 |
| 3.15. Análisis estadístico.....   | 27 |
| 4. RESULTADOS.....  | 28 |
| 4.1. Efectividad de cuatro aislamientos de hongos entomopatógenos en ninfas de segundo y tercer estadio de <i>B. tabaci</i> (Genn.).....                      | 28 |
| 4.2. Comprobación de los supuestos del Análisis de Varianza.....  | 28 |
| 4.2.1. Prueba de normalidad.....  | 28 |
| 4.2.2. Prueba de homogeneidad de varianzas (homocedasticidad).....  | 28 |
| 4.2.3. Análisis de Kruskal – Wallis.....  | 29 |
| 4.2.4. Análisis de dosis-respuesta para la determinación de la CL <sub>50</sub> y CL <sub>90</sub> de <i>Beauveria brogniartii</i> .....                      | 29 |
| 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....   | 30 |
| 6. CONCLUSIONES.....  | 32 |

|                         |    |
|-------------------------|----|
| 7. RECOMENDACIONES..... | 33 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA.....    | 34 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| <b>Cuadro 1:</b> Especies de hongos entomopatógenos registrados como patógenos de mosca blanca ( <i>Bemisia tabaci</i> Genn). ..... | 7  |
| <b>Cuadro 2:</b> Determinación de población inicial.....  | 21 |
| <b>Cuadro 3:</b> Determinación de ciclo vida de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 21 |
| <b>Cuadro 4:</b> Concentraciones utilizadas en el primer ensayo.....  | 23 |
| <b>Cuadro 5:</b> Concentraciones evaluadas en el segundo ensayo.....  | 25 |
| <b>Cuadro 6:</b> Separación de medias de los valores de mortalidad de los tratamientos.....   | 28 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1:</b> Ubicación geográfica de la fase De Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA).....  | 10 |
| <b>Figura 2:</b> A) Inoculado en cámara de flujo laminar, B) Alumno recibiendo instrucciones de parte de su asesor, C) Inoculación de <i>Beauveria brongniartii</i> en PDA.....   | 12 |
| <b>Figura 3:</b> A) <i>Isaria fumoroseus</i> , B) <i>Beauveria bassiana</i> , C) <i>Beauveria brongniartii</i> .....  | 13 |
| <b>Figura 4:</b> A, B y C) Prueba de viabilidad en, <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria brongniartii</i> y <i>Isaria fumoroseus</i> en su orden correlativo, D, E y F) se muestra una clara agresividad en el tiempo de formación de micelio por parte de <i>Isaria fumoroseus</i> ..... | 13 |
| <b>Figura 5:</b> A) Dilución de los hongos a evaluar, B) Experta cubana asesorando jóvenes de la tesis, C) Esporas de <i>Beauveria brongniartii</i> en la pantalla del programa Motic.....  | 14 |
| <b>Figura 6 :</b> A) Lavado de arroz, B) Colocación de antibiótico al arroz, C) Arroz dejándolo secar.....  | 14 |
| <b>Figura 7:</b> A) Lavado y desinfección de los frascos, B) Llenado de los frascos con arroz lavado, C) Frascos llenos de arroz listos para autoclave, D) Frascos en el autoclave listos para su esterilización.....   | 15 |
| <b>Figura 8:</b> A) Colocación de la cepa del hongo en agua destilada, B) Colocación de Tween 80, C) Agitación del material en el vortex.....   | 16 |
| <b>Figura 9:</b> A) Limpieza del área de trabajo, B) Inoculación de cajas Petri con material extraído de tubos de ensayo, C) Introducción del material en cámaras de cría.....  | 17 |
| <b>Figura 10:</b> A) Hongo entomopatógeno listo para ser extraído, B) Extracción del hongo entomopatógeno en bolsa plástica, C) Colocación del hongo para poder secarlo.....  | 17 |
| <b>Figura 11:</b> A) Tamizado del material, B) Resultado de la extracción del hongo.....  | 18 |
| <b>Figura 12:</b> A, B, Colocación de mosca blanca en cámaras de cría, C) Succionador.....  | 18 |
| <b>Figura 13:</b> A y B).Establecimiento del cultivo experimental.....  | 19 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 14:</b> Diseño de jaula clip.....  | 20 |
| <b>Figura 15:</b> A y B) Medidas de las camaras de cría, C) Colecta de mosca blanca en invernaderos del KOICA.....   | 21 |
| <b>Figura 16:</b> A, B y C) Observación de <i>B. tabaci</i> segundo y tercer estadio.....  | 22 |
| <b>Figura 17:</b> A) Aplicación de los tratamientos con hongos entomopatógeno, B) Aspersor manual, C) cobertura de mojado en hoja.....   | 24 |
| <b>Figura 18:</b> A , B y C) mortalidad de ninfa de segundo y tercer estadio de <i>B. Tabaci</i> .....   | 25 |
| <b>Figura 19:</b> A Y B. Establecimiento de población de <i>B. tabaci</i> (Genn.) en jaulas clip.....  | 26 |
| <b>Figura 20:</b> Boxplot de la mortalidad corregida por la fórmula de Hinderson – Tilt. BOT: Botanigard, BRO: <i>Beauveria brogniartii</i> , PAE: Paetron y VER: Vertisave..... | 27 |
| <b>Figura 21:</b> Dosis – respuesta de <i>Beauveria brogniartii</i> en ninfas de mosca blanca de segundo estadio.....  | 28 |

## 1. INTRODUCCIÓN.

Durante los últimos 15 años la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) se ha convertido en una de las plagas de mayor importancia en un gran número de cultivos, tanto en campo abierto como protegidos alrededor del mundo. La gravedad de los daños ocasionados por esta plaga y la dificultad para controlarla han obligado a los investigadores y productores a grandes esfuerzos en la búsqueda de alternativas para su manejo.

*Bemisia tabaci* (Genn.) es un insecto que ocasiona severas pérdidas a la mayoría de los agricultores hortícolas de varios países del mundo, incluido El Salvador. En general se alimenta succionando savia del follaje de muchos cultivos, incluyendo el chile dulce, produciendo una capa negruzca llamada fumagina, que impide la captación de luz para la fotosíntesis de las plantas. Sin embargo su principal efecto negativo se da por la transmisión de una serie de virus que impiden el desarrollo normal de los cultivos, ocasionando grandes pérdidas económicas.

El método más utilizado para controlar las poblaciones de mosca blanca en los cultivos es mediante el uso de insecticidas sintéticos. Esta práctica ocasiona serios problemas: incrementa los costos de producción, eliminación de enemigos naturales, adquisición de resistencia a los insecticidas, riesgos para la salud de productores, consumidores y contaminación ambiental.

Aprovechando la relación que existe entre la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador y el Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), se realizó un trabajo experimental con diferentes aislamientos y formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos: *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* y *Lecanicillium lecanii*. El objetivo del presente trabajo de investigación consistió en evaluar aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) en condiciones de agricultura protegida, con el propósito de encontrar la cepa y dosis más efectiva para controlar la población de ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.). De esta manera se busca ofrecer una alternativa de control biológico contra esta plaga en condiciones de cultivos protegidos de chile dulce.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1. Características generales de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Genn).

*Bemisia tabaci* (Genn.) es una de las especies plaga más polífagas, registrada en gran número de cultivos de importancia económica (ICA, s.f).

En los diferentes cultivos, además del daño directo causado por la alimentación que realizan las ninfas y adultos, es considerada la responsable de la transmisión de un amplio número de virus causantes de enfermedades y grandes pérdidas en los cultivos (ICA, s.f).

Es un insecto de cuerpo amarillo pálido y alas blancas, las cuales cubren casi todo el cuerpo, mostrándose así un color predominante blanco (Salguero, 1994). Posee un estilete, por medio del cual succiona la savia de las plantas, debilitándolas y produciendo sobre las hojas una capa negra llamada fumagina que impide la fotosíntesis (Alpizar, 1992).

Esta se desarrolla porque sus excretas dulces (mielecillas) sirven de medio de cultivo para la reproducción del hongo. Pero el principal daño se debe a la transmisión de enfermedades virales que impiden el desarrollo normal de los cultivos, la cual disminuye la cosecha considerablemente (Alpizar, 1992).

### 2.2. Adaptación.

*Bemisia tabaci* (Genn.) se adapta a regiones con altitudes desde las zonas costeras hasta inferiores a los 1,000 metros. Pero recientemente se ha observado que existen biotipos de mosca blanca que se pueden adaptar a alturas superiores a los 1,000 metros (Morales *et al.*, 2006).

### 2.3. Ciclo Biológico.

#### 2.3.1. Morfología:

##### 2.3.1.1. Huevo.

Es de forma alargada, gruesa, curva, lisa, sub elíptica. Está provisto en su base por un pedicelo corto de aproximadamente 300 micras que le sirve para adherirse a la superficie de la hoja y mantener sus niveles de humedad (Menéndez y Pérez, 1994).

#### **2.3.1.2. Primer estadio ninfal.**

Elíptico, blanco-verdoso, ventralmente plano y dorsalmente convexo, con 0.3 mm de longitud (Alpizar, 1992). Patas funcionales, son poco móviles, fijándose, generalmente cerca del lugar de la ovipostura. Una vez fijada se produce la muda, transformándose en ninfa II, presentando antenas y patas modificadas. El rango de duración del primer estadio en los diferentes hospederos va de  $2.40 \pm 7.10$  días, para pasar al segundo estadio (Menéndez y Pérez, 1994).

#### **2.3.1.3. Segundo estadio ninfal.**

Las ninfas son inmóviles, comienzan a manifestarse las ondulaciones que serán más apreciables en los últimos estadios ninfales. A medida que avanza el desarrollo, aumenta de tamaño, a la vez que el color se vuelve más opaco y se hacen más gruesos (CATIE, 1993). El cuerpo es ovalado de color blanco verdoso, cristalino y aplanado al principio y opaca y túrgida al final. El rango de duración es de  $4.70 \pm 1.9$  días en frijol y  $4.10 \pm 1.70$  en berenjena (Menéndez y Pérez, 1994).

#### **2.3.1.4. Tercer estadio ninfal.**

Es oval, con margen crenulado y la constricción es menos conspicua que el estadio anterior, posee las mismas setas marginales que el segundo estadio aunque las anterolaterales son poco visibles. El estadio dura de  $5.9 \pm 1.9$  días en frijol y  $6.1 \pm 1.9$  días en berenjena, miden  $0.53 \pm 0.03$  mm de largo y  $0.36 \pm 0.02$  mm de ancho (Menéndez y Pérez, 1994).

#### **2.3.1.5. Pupa.**

De color más opaco que el adquirido en los estadios ninfales previos, pudiendo observarse los ojos compuestos de color rojo. Pupa con fuertes ondulaciones asemejándose a una guitarra. El dorso se eleva en el centro, permaneciendo bajas las áreas marginales. Setas marginales ausentes. La estructura pupal difiere dependiendo de la planta huésped. En hojas glabras las pupas no tienen alargadas las setas del dorso, sin embargo, en hojas pilosas se observan claramente siete pares. Las pupas parasitadas adquieren un color más oscuro que el normal (Alpizar, 1992). Tiene una duración  $3 \pm 6$  días en cinco negritos (*Lantana camara*), berenjena (*Solanum melongena*) y algodón (*Gossypium hirsutum*); y  $4 \pm 5$  días en tabaco (*Nicotina tabacum*) durante marzo - octubre. De noviembre a febrero tarda de  $6 \pm 10$  días en cinco negritos, de  $8 \pm 10$  días en berenjena y  $6 \pm 11$  días en algodón (Menéndez y Pérez, 1994).

#### **2.3.1.6. Adulto.**

Color amarillo-azufre. Ojos rojo oscuro a negros. Longitud de 0.9 a 1.0 mm, anchura 0.32 mm, longitud de la antena 0.29 mm. El macho sólo se diferencia de la hembra en la genitalia. *Bemisia tabaci* (Genn.), coloca sus alas en forma de tejado contra su abdomen, con un ángulo aproximado de 45° con la superficie de la hoja (CATIE 1993).

#### **2.3.2. Daños ocasionados**

##### **2.3.2.1. Directos.**

Ninfas y adultos se alimentan succionando la savia de las hojas. Si la población es muy elevada se puede llegar a producir un debilitamiento de la planta, clorosis y desecación de las hojas (Menéndez y Pérez, 1994).

Causa diversos desordenes fisiológicos: clorosis intensas de vainas y peciolo de habichuelas, maduración irregular de los frutos de tomate y el denominado síndrome de la hoja plateada en cucurbitáceas (Morales *et al.*, 2006).

##### **2.3.2.2. Indirectos.**

La mosca blanca secreta sobre las hojas una sustancia azucarada denominada mielecilla, lo cual sirve de sustrato para el micelio de los hongos negros (fumagina), pertenecientes a varios géneros, incluyendo las especies *Cladosporium* y *Capnodium*. La fumagina interviene con el proceso de fotosíntesis, reduciendo el rendimiento.

Estos hongos también pueden afectar los frutos (Morales *et al.*, 2006), provocando asfixia, dificultando la fotosíntesis, disminuye la calidad de la cosecha y dificulta la penetración de productos agroquímicos.

##### **2.3.2.3. Transmisión de virus.**

Uno de los daños más importantes asociados a la mosca blanca es su capacidad de transmitir virus en cultivos alimenticios e industriales de importancia económica. La gran mayoría de virus transmitidos pertenecen al género *Begomovirus* (familia Geminiviridae), estos virus poseen un genoma de ADN de cadena sencilla y generalmente en pares (dos moléculas denominadas A y B), algunos *Begomovirus* solo poseen una molécula de ADN (Morales *et al.*, 2006).

Mosca blanca puede transmitir más de 150 *Begomovirus* y algunos otros virus pertenecientes a los géneros *Crinivirus*, *Carlavirus* e *Ipomovirus* (Morales *et al.*, 2006).

### **2.3.3. Modo de transmisión.**

Los virus transmitidos por mosca blanca son en su mayoría semi persistentes, en este caso el tiempo de adquisición y transmisión toma varios minutos a unas horas, lo cual hace posible el uso de insecticidas como parte de un manejo integrado, siempre y cuando se usen los productos apropiados (Morales *et al.*, 2006).

#### **2.3.3.1. Cultivos preferidos por *Bemisia tabaci* (Genn.)**

Chile (*Capsicum annuum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), sandía (*Citrullus lanatus* L.), pepino (*Cucumis melo* L.), pepián (*Cucurbita mocho* K.) (Menéndez y Pérez, 1994). Y según ICA (s.f), ataca más de 500 especies diferentes de plantas, ya que es un insecto polífago.

### **2.3.4. Control biológico.**

El control biológico es el manejo de las plagas mediante el uso de enemigos naturales, es decir mediante la acción de depredadores, parasitoides y patógenos (Vázquez *et al.*, 2007).

#### **2.3.4.1. Parasitoides.**

Generalmente se les incluye en la categoría de parásitos, pero un parasitoide es una clase especial que generalmente es de menor tamaño que el organismo que ataca, también se caracterizan porque se desarrollan dentro o sobre un organismo, el cual casi siempre muere al ser atacado (Rodríguez y Arreando., 2007).

#### **2.3.4.2. Depredadores.**

Son insectos y otros artrópodos que causan la muerte de los insectos, en forma más o menos rápida succionándoles la hemolinfa o devorándolos (CATIE, 1993). Según Vázquez *et al.*, 2007, los depredadores de mosca blanca son insectos o arácnidos que comen o succionan los líquidos de estados inmaduros (huevo, ninfa, pupa). Como por ejemplos: mariquitas (Coleoptera: Coccinellidae), chinches (Hemiptera: Miridae), arañas (Araneae: Theridulidae), ácaros (Phytoseiidae).

#### **2.3.4.3. Patógenos.**

Son microorganismos: virus, rickettsias, bacterias, protozoarios, hongos y nemátodos que causan enfermedades o epizootias entre las plagas (Cisneros, 1995). Según Vázquez *et al.*, 2007, los hongos entomopatógenos penetran la superficie del cuerpo de los adultos y ninfas de mosca blanca, matándolos y colonizando el interior del cuerpo para luego emerger y

esporular en condiciones ambientales favorables (alta humedad relativa) y así completar su desarrollo, ejemplos: *Lecanicillium*, *Beauveria*, *Isaria*.

### **2.3.5. Limitaciones del control biológico.**

En las condiciones actuales de alto uso y abuso de agroquímicos, los enemigos naturales de mosca blanca han sido eliminados, y las moscas blancas se han hecho resistentes a los insecticidas sintéticos utilizados en la década pasada (Vázquez *et al.*, 2007).

El control biológico de mosca blanca también tiene otras limitantes, como la amplia diversidad de plantas hospedantes, lo que le permite sobrevivir y adaptarse a diversas condiciones ambientales; además de multiplicarse y desarrollar altas poblaciones durante todo el ciclo de los cultivos preferidos, disponibles casi todo el año en los trópicos (Vázquez *et al.*, 2007).

## **2.4. Hongos entomopatógenos.**

Existen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos y aproximadamente 100 se conocen con cierta profundidad. Pero son pocas las especies descubiertas de hongos entomopatógenos que atacan a mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) siendo los más comunes y estudiados, *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* (Cuadro 1) (Parada y Guzmán, 1998).

### **2.4.1. Características que favorecen el uso de los hongos entomopatógenos.**

- ✓ Alto poder patogénico.
- ✓ Capacidad de multiplicación y dispersión en el ambiente a través de los individuos de la misma población.
- ✓ Se desarrollan a temperaturas entre 20 y 28 °C, pero no a 37 °C, por lo que se puede deducir que no son dañinos al hombre y animales de sangre caliente.
- ✓ Inocuidad para insectos benéficos.
- ✓ Crecen rápidamente en medios de cultivo, utilizados comúnmente en trabajos microbiológicos.
- ✓ Se pueden aplicar con equipos agrícolas convencionales (Parada y Guzmán, 1998.)

Cuadro 1. Especies de hongos entomopatógenos registrados como patógenos de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.).

| Hongos                        | Coloración del micelio               | Plagas que controlan   |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|
| <i>Isaria fumosorosea</i>     | Rosado claro                         | Estudio realizados en <i>Bemisia tabaci</i> (Genn.) han demostrado que tiene efectos en todos sus estadios incluso adultos en 24 – 48 horas.   |
| <i>Beauveria bassiana</i>     | Blanco, Blanco amarillento           | Ataca a mosca blanca ( <i>Bemisia tabaci</i> Genn.) broca del café ( <i>Hypotenemus hampei</i> ), picudo negro del banano ( <i>Cosmopolites sordidus</i> ), picudo del algodónero ( <i>Anthonomus grandis</i> ), picudo del chile ( <i>Anthonomus eugenii</i> ), palomilladorso de diamante del repollo ( <i>Plutela xylostella</i> ). |
| <i>Lecanicillium lecanii</i>  | Blanco                               | En Europa se ha tenido éxito en el control de áfidos ( <i>Myzus sp</i> ), la mosca blanca ( <i>Trialeurodes vaporariorum</i> ) y el Trips ( <i>Thrips tabaci</i> ).<br><br>En México se ha tenido buen control en áfido ( <i>Myzus persicae</i> ) en crucíferas, en Cuba lo emplean para controlar la mosca blanca.                    |
| <i>Metarhiziu manisopliae</i> | Verde, Verde oliva, o Verde plateado | Barrenador de la caña de azúcar ( <i>Diatraea saccharalis</i> ), la chicharrita del maíz ( <i>Dalbulus maydis</i> ), mosca pinta de los pastos ( <i>Aeneolamia sp</i> ), picudo negro del banano ( <i>Cosmopolites sordidus</i> ), gallina ciega ( <i>Phyllophaga sp</i> ), mosca blanca ( <i>Bemisia tabaci</i> Genn.).               |

Fuente: Azahar, 2000.

## **2.5. Modo de acción de los hongos entomopatógenos.**

### **2.5.1. Desarrollo de una enfermedad producida por hongos.**

Consiste en la adherencia de la conidia a la cutícula del insecto. Para penetrar el integumento externo del hospedero, la conidia debe adherirse a la superficie cuticular. La interacción entre la conidia y la cutícula depende de las sustancias mucilaginosas que rodean la conidia, las enzimas y además de la conformación morfológica del integumento que favorece la germinación de la conidia. Las conidias pueden adherirse al azar de acuerdo a los pliegues intersegmentales o a la rugosidad de la superficie de la cutícula (Vargas, s.f.).

### **2.5.2. Germinación de la conidia en la cutícula del insecto.**

La germinación ocurre dentro de un mínimo de 12 horas, siendo necesaria una humedad relativa alta (mayor al 90%). Fisiológicamente la germinación de la conidia es el retorno de la actividad o metabolismo vegetativo. Morfológicamente es la emergencia de la célula vegetativa de una conidia, en forma de un tubo germinativo que crece sobre la superficie cuticular formándose un apresorio o penetrando directamente a la cutícula (Ardonet *al.*, 1992).

### **2.5.3. Penetración de la cutícula.**

La penetración se produce por un sistema enzimático de lipasas, proteasas y quitinasas liberadas al comienzo de la germinación de la conidia. Las enzimas tienen un efecto específico sobre cada uno de los componentes de la cutícula, así la epicutícula o capa más externa, formada por lípidos (ácidos grasos y parafina) es desintegrada por las lipasas, la quitinasas desintegra la quitina, sustancia que le confiere resistencia y dureza a la cutícula. Así mismo las proteínas presentes en la cutícula son desintegradas por enzimas proteolíticas producidas por el hongo (Vargas, s.f.).

### **2.5.4. Producción de toxinas.**

Las toxinas producidas por los hongos entomopatógenos son las responsables de la mortalidad del hospedero, el rápido crecimiento del hongo indica que la muerte del insecto ocurre por el crecimiento vegetativo (ruptura de áreas membranosas o esclerotizadas) produciéndose altos niveles de micosis, mientras que la muerte rápida (48 horas o menos) es atribuida a la producción de toxinas, permitiendo que otros organismos oportunistas invadan el hemocele resultando en un crecimiento reducido del hongo dentro del hospedero (Roberts y Humber, 1984).

### **2.5.5. Muerte del insecto.**

Esta puede ser antecedida por cambios en el comportamiento del insecto, como contracciones y pérdida de coordinación, hasta llegar a la muerte del insecto (Roberts y Humber, 1984).

### **2.5.6. Desarrollo de la fase micelial.**

En esta fase aparecen pequeñas manchas localizadas en los sitios de infección, observándose en algunos casos una coloración rojiza en el insecto hospedero. Estos insectos sirven de reservorio para los hongos durante períodos de condiciones adversas (Roberts y Humber, 1984).

### **2.5.7 Emergencia del micelio hacia el exterior.**

En condiciones de baja o moderada humedad relativa, el hongo continúa en el insecto; sin embargo, con alta humedad el hongo crece a través de la cutícula (Aparicio *et al.*, 1991).

### **2.5.8. Producción de unidades infectivas.**

El metabolismo del hongo se reduce, formándose las unidades infectivas o conidias. La dispersión de las unidades infectivas sucede por medio del agua o el viento (Aparicio *et al.*, 1991).

## **2.6. Formulaciones de hongos entomopatógenos.**

La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como sustancias que sirven de vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos.

Estos materiales inertes ayudan a que el hongo este más protegido al momento de la aplicación, evitando que se sedimente fácilmente o que forme grumos que tapen la boquillas (Monzón, 2001).

Todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de las partículas del hongo, para poder ser manipuladas y aplicadas adecuadamente. Hay dos tipos de formulaciones:

**2.6.1. Seca o polvo mojable.**

En la cual se utiliza un vehículo, el cual puede ser de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable (Yuferá, 1991).

**2.6.2. Líquida o emulsificable.**

Que utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido utilizado tiene la función de mantener suspendidas las conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además este líquido debe evitar la absorción de agua por las conidias y mantener su viabilidad (Monzón, 2001).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1. Descripción del estudio.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Parasitología Vegetal del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA) ubicado en Km. 33 ½, carretera a Santa Ana, Ciudad Arce, La Libertad, El Salvador (Figura 1). De igual manera la fase de campo en instalaciones protegidas brindadas por CENTA la duración de la investigación fue de agosto 2014 a noviembre del año 2015.

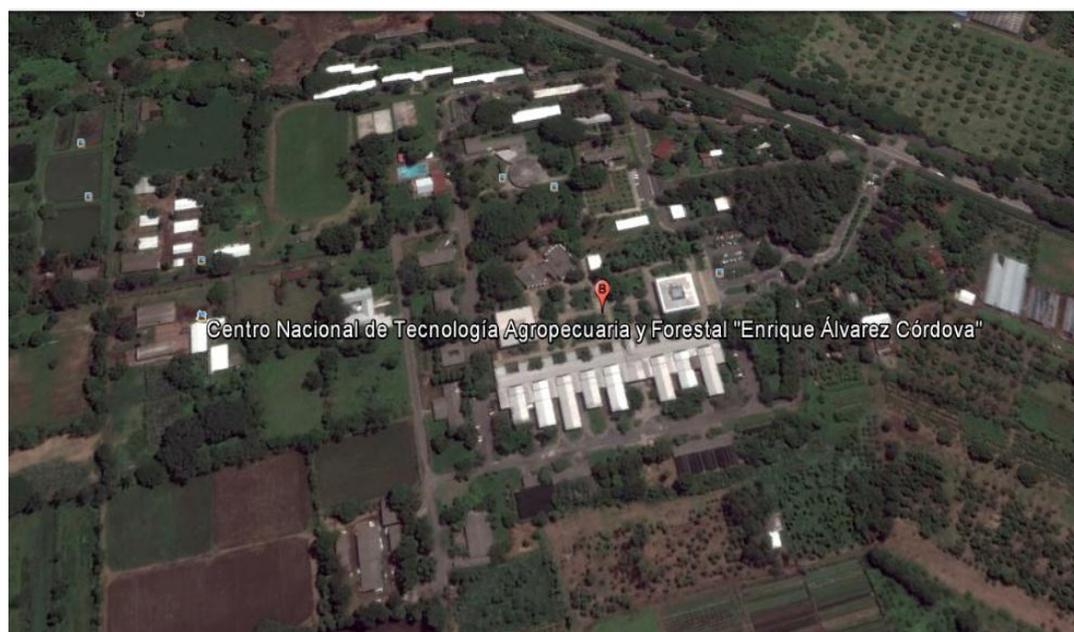


Figura 1. Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA).

#### 3.2. Tratamientos.

Se evaluaron cuatro aislamientos de hongos: Botanigard® 22 WP, (*Beauveria bassiana*,  $4.78 \times 10^{12}$  conidias/gramo), Vertisave – 5® (*Lecanicillium lecani*  $1 \times 10^{12}$  conidias/kilogramo), *Beauveria brongniartii* ( $2.13 \times 10^7$  conidias/gramo) y Paetron® (*Isaria fumorosea*  $1.2 \times 10^{12}$  conidias/240 gramo).

### 3.2.1. Productos formulados.

#### 3.2.1.1. Botanigard® 22 WP.

##### Detalles de la formulación.

Corresponde a una formulación *Beauveria bassiana* cepa GHA a una concentración de:  $4.78 \times 10^{12}$  conidias / gramo.

##### Espectro de acción.

Botanigard es recomendado para su uso contra mosca blanca (*Bemisia tabaci* (Genn.)) y *Trialeurodes vaporariorum*, áfidos (*Aphis gossypii*), Trips (*Thrips tabaci*, *Thrips palmi* y *Frankliniella occidentalis*), Psyllidae, Pseudococcidae, Delphacidae, Cicadellidae, Scarabaeidae, Heteroptera, Curculionidae, entre otros.

#### 3.2.1.2. Vertisave® 5.

##### Detalles de la formulación.

Producto comercial a base de *Lecanicillium lecanii* con una concentración de  $1 \times 10^{12}$  conidias por kilogramo. La formulación es en arroz.

##### Espectro de acción.

Este producto es utilizado para el manejo de moscas blancas (*Bemisia tabaci* Genn.) y *Trialeurodes vaporariorum*.

#### 3.2.1.3. Paetron®.

##### Detalles de la formulación.

Paetron® (*Isaria fumorosea*  $1.2 \times 10^{12}$  conidios/240g) casa comercial PLANT HEALTH CARE.

##### Espectro de acción.

Penetra en el insecto huésped a través de la cavidad oral, por los espiráculos o a través de la cutícula, se adhiere para invadir el cuerpo del insecto produciéndole la muerte. El ingrediente activo es *Paecilomyces fumosoroseus*, una herramienta letal para el control de mosca blanca.

### 3.3. Aislamiento de *B. brogniartii*.

#### 3.3.1. Origen del aislamiento.

Procedente de San Martín Oztoloapan, Valle del Bravo, Edo. de México, encontrado de forma silvestre atacando a *Phyllophaga vetula* en 1999. Fue introducido al país ese mismo año por el Dr. Mario Ernesto Parada Jaco y conservado en el Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA).

#### 3.3.2. Espectro de acción.

Utilizando este material en el control de: *Zabrotes subfasciatus*, *Acanthocelides sobtectus*, Attasp, Ácaros, *Anthonomus eugenii* (Parada y Guzmán, 1998) y Psyllidae, Triozinae (Mejia *et al.*, 2009).

### 3.4. Activación de *B. brogniartii*.

#### 3.4.1. Inoculación en cajas Petri.

Se tomó una muestra del aislamiento de *Beauveria brogniartii* proveniente de la micoteca del laboratorio de parasitología vegetal de CENTA. La muestra se colocó en una caja Petri con PDA (Papa-Dextrosa-Agar) y tetraciclina a 500 mg (Figura 2). Cuatro días después de la inoculación se observó en el estereoscopio y se seleccionaron las regiones del medio de cultivo con menos contaminación. Estas regiones fueron colocadas en nuevas cajas petri hasta obtener un cultivo puro.

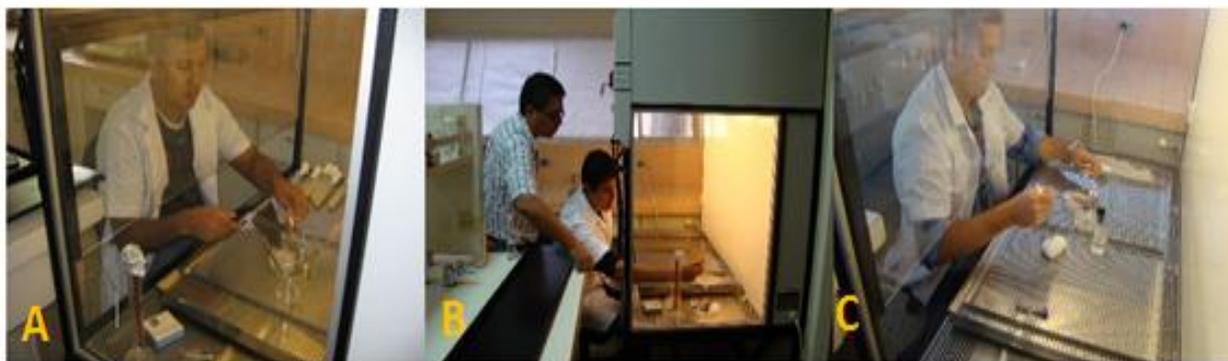


Figura 2. A) Inoculado en cámara de flujo laminar, B) Alumno recibiendo instrucciones de parte de su asesor, C) Inoculación de *Beauveria brogniartii* en PDA.

### 3.5. Pruebas de calidad.

La calidad del cultivo de *Beauveria brogniartii* fue evaluado de acuerdo a tres aspectos que son pureza, viabilidad y concentración, los cuales se describen a continuación.

#### 3.5.1. Pureza.

Se tomó una porción de medio de cultivo con *B. brogniartii* y se colocó en una caja Petri con PDA para observar el crecimiento del hongo (Figura 3).



Figura 3. A) *Isaria fumoroseus*, B) *Beauveria bassiana*, C) *Beauveria brogniartii*

#### 3.5.2. Viabilidad.

La prueba consistió en colocar círculos de cultivos puros en cajas Petri con PDA. Se tomó lectura del crecimiento cada 12 horas (Figura 4)

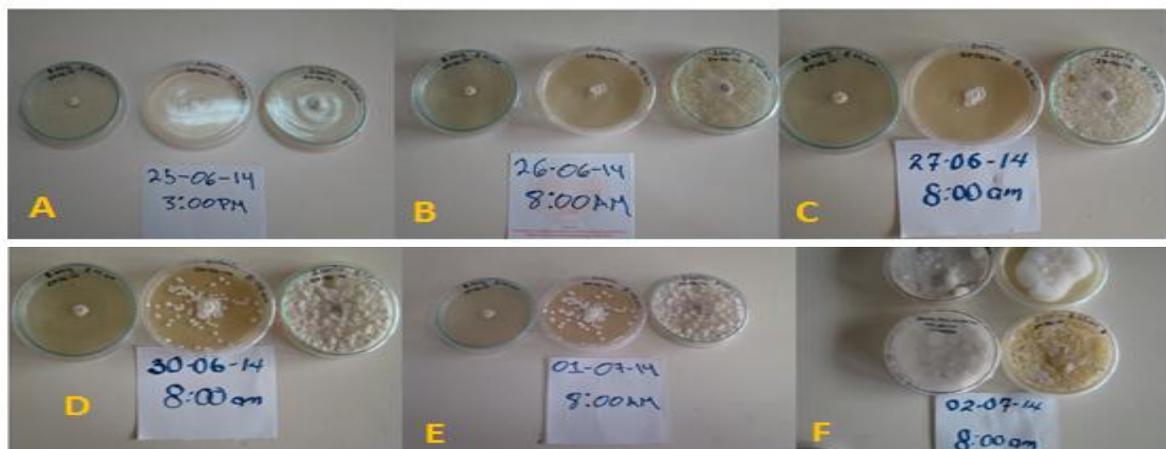


Figura 4. A, B y C) Prueba de viabilidad en *Beauveria bassiana*, *Beauveria brogniartii* y *Isaria fumoroseus* en su orden correlativo, D, E y F) Se muestra una clara agresividad en el tiempo de formación de micelio por parte de *Isaria fumoroseus*.

### 3.5.3. Concentración de *Beauveria brogniartii*.

Se realizaron diluciones (1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10000) del cultivo puro de *B. brogniartii* a fin de realizar un conteo del número de esporas presentes, para lo cual se utilizó la cámara de Neubauer (4 x 4 cuadrantes), y el programa Motic (Figura 5). Para la estimación de la concentración se utilizó la siguiente fórmula:

Número de conidios X Factores de cámara ( $6.24 \times 10^{24}$ ) X Dilución.



Figura 5. A) Dilución de los hongos a evaluar, B y C) Conteo de esporas de *Beauveria brogniartii*.

### 3.6. Multiplicación de *B. brogniartii* en granos de arroz.

Se pesó una libra de arroz, se lavó tres veces para eliminar impurezas. Se dejó reposar en agua por 30 minutos, con el objetivo de incrementar el contenido de humedad del grano, agregándole media capsula de tetraciclina de 500 mg, para reducir el riesgo de contaminación bacteriana.

El arroz se retiró del agua y se dejó escurrir durante 15 minutos sobre papel toalla (Figura 6).



Figura 6. A) Lavado de arroz, B) Colocación de antibiótico al arroz, C) Arroz dejándolo secar.

### 3.6.1. Preparación de frascos.

Se utilizaron frascos de vidrio de 500 ml, estos fueron rociados con alcohol etílico 90% y se dejaron escurrir en papel toalla hasta que estuvieron totalmente secos. Se colocaron 50 g de arroz por frasco. Se procedió a tapar los frascos para luego esterilizarlos en autoclave durante 15 minutos, a una temperatura de 150 °C y 23 psi (libras por pulgada cuadrada) (Figura 7). Posteriormente se retiraron los frascos del autoclave y se agitaron los granos para distribuirlos uniformemente.



Figura 7. A) Lavado y desinfección de los frascos, B) Llenado de los frascos con arroz lavado, C) Frascos llenos de arroz listos para autoclave, D) Frascos en el autoclave listos para su esterilización.

### 3.6.2. Preparación de inóculo de *B. brogniartii*.

Se colocó un gramo de la cepa del hongo por 40 ml de agua destilada, más una gota de tween® 80 (dispersante), en un Erlenmeyer de 250 ml, agitándose en un vortexpor dos minutos para lograr un mejor desprendimiento de los conidios (Figura 8).



Figura 8. A) Colocación de la cepa del hongo en agua destilada, B) Colocación de Tween 80, C) Agitación del material en el vortex.

### 3.6.3. Inoculación de *B. brogniartii* en frascos con granos de arroz.

La inoculación se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar de acuerdo a los siguientes pasos:

- ✓ Limpieza del área de trabajo.
- ✓ Introducción de los frascos con arroz, el Erlenmeyer, mechero, pipeta volumétrica, encendedor, beaker con hongo preparado, en la cámara de flujo laminar.
- ✓ Se tomaron 3 ml de hongo preparado por frasco.
- ✓ Se inoculó el arroz con el hongo, manteniendo la agitación para homogenizar la humedad.
- ✓ Se trasladó a la incubadora a 22°C por dos días.
- ✓ Luego se trasladó a otra cámara incubadora por cinco días a 30°C<sup>1</sup> (Figura 9).

<sup>1</sup>Borja Melara, CA. 2014 .Multiplicación de hongos entomopatógenos (entrevista).La Libertad, El Salvador, Laboratorio de Parasitología Vegetal del CENTA.



Figura 9. A) Limpieza del área de trabajo, B) Inoculación de cajas Petri con material extraído de tubos de ensayo, C) Introducción del material en cámaras de cría.

#### 3.6.4. Extracción del hongo.

De ocho a nueve días después de la inoculación, el grano de arroz está colonizado por el micelio del hongo. Se agitaron los frascos para separar los granos y el polvo, para luego transferirlos a una bolsa de papel para reducir la humedad (Figura 10).

Dos semanas después, se colocó el arroz colonizado en un tamiz de 150 mesh, frotándolos para desprender los conidios. Los conidios separados del arroz fueron almacenados en bolsas plásticas para su posterior evaluación (Figura. 11) (Mejía *et al.*, 2009).



Figura 10. A) Hongo listo para ser extraído, B) Extracción del hongo en bolsa plástica, C) Colocación del hongo para poder secarlo.



Figura 11.A) Tamizado del material, B) Resultado de la extracción del hongo.

### 3.7. Cría de *Bemisia tabaci* (Genn.).

Con el propósito de tener una población de *Bemisia tabaci* (Genn.) disponible para la realización de las pruebas, se estableció un pie de cría (Fig. 12 A). Los individuos de mosca blanca se colectaron en los invernaderos del proyecto KOICA-CENTA y en campo abierto en las parcelas de la ENA.

En cada sitio se revisaron plantas de chile pimiento, tomate y berenjena buscando alguna sintomatología de daños como: clorosis, zigzagado en la nervadura central, enrollamiento de hojas. Los insectos fueron colectados con un succionador, (Figura. 12,B) y luego fueron depositados en la jaula de transporte que contenía material vegetal para que los insectos se alimentaran y se mantuvieran vivos; por tanto en esta actividad se recolectaron entre 500 a 700 insectos adultos.

Las moscas blancas capturadas fueron colocados en jaulas con plantas de berenjena para establecer la población de insectos y posteriormente para hacer pruebas preliminares con las dosis de los hongos entomopatógenos (Figura.12 C).



Figura 12.A y B), Colocación de mosca blanca en camaras de cria, C) jaulas con plantas de berenjena con elevada población de mosca blanca.

### 3.8. Establecimiento del cultivo experimental.

Se recibió una donación de 60 plantas de chile pimiento híbrido Zidenka de 45 días de edad, por parte de la empresa HIDROEXPO, S.A. de C.V. Zona Franca Pipil, las cuales fueron trasladadas al invernadero del CENTA (Figura 13. A y B) para su mantenimiento y desarrollo con el propósito de utilizarlas en la investigación. Las plantas fueron ubicadas en tres hileras a 1.5 metros entre hilera y a 0.50 metros entre planta para evitar competencia por la luz y facilitar las actividades de manejo. Las plantas se tutoraron y estaquillaron. El riego se realizó con intervalos de dos días y la fertilización cada 15 días con Blaukorn® y 15-15- 15 donados por CENTA. Se cosechó cada diez días para evitar sobrecarga de la planta.



Figura 13. A y B).Establecimiento del cultivo experimental.

### 3.9. Jaulas clip.

Para recolectar adultos de mosca blanca, se utilizaron jaulas clip, la cual es una metodología sencilla para el estudio de este insecto.

Para la elaboración de las jaulas clip se utilizaron pequeños recipientes plástico, los cuales se les perforo el centro para poder introducir los succionadores. Para sujetarlos en las hojas se utilizaron clips abiertos, los cuales sujetaban la parte inferior y superior de las jaulas. (Figura. 14)

En ellas se colocaban 300 moscas blancas. Esto nos permitió tener focalizada la ovoposición de las moscas blancas y así poder realizar los ensayos.



Figura 14. Diseño de jaula clip.

### 3.10. Determinación de población inicial en jaulas clip.

Esta actividad consistió en realizar diferentes pruebas previas al ensayo para determinar aspectos al momento de ejecutar la prueba final.

Para la determinación de población inicial en jaulas clip, se seleccionaron hojas sanas de chile pimentón provenientes de plantas sin síntomas de virosis. Para realizar esta prueba se procedió a recolectar en campo abierto tres diferentes poblaciones de moscas blancas, las cuales se colocaron en jaula clip en hojas seleccionadas y dentro de estas, entre 75, 150 y 300 adultos de mosca blanca (Figura 15) , con la finalidad de determinar con cuál de las tres poblaciones se obtenía un número mayor y homogéneo de ovoposición (Cuadro 2).

Las jaulas-clip fueron mantenidas en las hojas junto con las moscas blancas, por tres días y se procedió al retiro de los adultos para no tener ovoposiciones nuevas. Las hojas se revisaron para asegurar la presencia de huevos y posteriormente se dio seguimiento hasta alcanzar el segundo estadio ninfal.



Figura 15. A y B) Medidas de las camaras de cría, C) Recolecta de mosca blanca en invernaderos del KOICA.

Cuadro 2. Determinación de la población inicial.

| Repeticiones | Numero de Moscas | Cantidad de huevos de <i>B. tabaci</i> (Genn.) |
|--------------|------------------|--|
| 1            | 75               | 25   |
| 2            | 75               | 10   |
| 3            | 75               | 173  |
| 1            | 150              | 862  |
| 2            | 150              | 300  |
| 3            | 150              | 99   |
| 1            | 300              | 1168   |
| 2            | 300              | 1325   |
| 3            | 300              | 903  |

### 3.10.1. Determinación de ciclo de vida de *B. tabaci* (Genn.) en jaulas clip.

Debido a los resultados obtenidos en la primera prueba, se realizó la referencia del ciclo de vida de la población a utilizar. Se realizó seis repetición con 300 moscas, se colocaron en jaulas pinzas, observándose todos los días, esto con el objetivo de predeterminar el ciclo de vida de la población, obteniendo los siguientes resultados.

Cuadro 3. Determinación de ciclo vida de *B. tabaci* (Genn.) en jaulas clip.

| DIA | JP1           | JP2           | JP3           | JP4           | JP5           | JP6           |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1   |               |               |               |               |               |               |
| 2   |               |               |               |               |               |               |
| 3   | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         |
| 5   | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         | Huevo         |
| 6   | Huevo con ojo |
| 7   | ninfa 1       | ninfa1        | ninfa1        | ninfa 1       | ninfa1        | ninfa1        |
| 8   | ninfa 2       | ninfa 2       | ninfa2        | ninfa2        | ninfa2        | ninfa2        |

### 3.10.2. Determinación de efectividad de cuatro aislamientos de hongos entomopatógenos en ninfas de segundo y tercer estadio de *B. tabaci* (Genn.).

Con los resultados obtenidos en las pruebas preliminares, número de población a utilizar y los días del ciclo de vida de la mosca blanca (Figura 16), (Cuadro 3) se procedió a evaluar los cuatro aislamientos de hongos Botanigard 22wp® *Beauveria bassiana*,  $4.4 \times 10^{10}$  conidias/g casa comercial PLANT HEALTH CARE, Vertisave – 5® (*Lecanicillium Lecanii*  $1 \times 10^{12}$  conidias/kg) casa comercial LABIOFAM, *Beauveria brongniartii*  $2.13 \times 10^7$ /g de la micoteca de CENTA, Paetron® (*Isaria fumorosea*  $1.2 \times 10^{12}$ /240g) casa comercial PLANT HEALTH CARE .



Figura 16. A, B y C) Observación de *B. tabaci* segundo y tercer estadio.

### 3.11. Concentración evaluada.

Para la primera evaluación donde se utilizaron cuatro hongos entomopatógenos, con las siguientes concentraciones: *Beauveria brongniartii* 23.47gr/10ml, *Beauveria bassiana* 0.1gr/10ml, *Isaria fumorosea* 10gr/10ml, *Lecanicillium Lecanii* 2gr/10ml, todos con la misma concentración de conidios  $5 \times 10^8$  (Cuadro 4).

Cuadro 4. Concentraciones utilizadas en el primer ensayo.

| Tratamientos                      | Concentración | Conidios/ml     |
|-----------------------------------|---------------|-----------------|
| H0: agua                          | 0             | 0               |
| H1: <i>Beauveria brongniartii</i> | 23.47gr/10ml  | $5 \times 10^8$ |
| H2: <i>Beauveria bassiana</i>     | 0.1gr/10ml    | $5 \times 10^8$ |
| H3: <i>Isaria fumorosea</i>       | 10gr/10ml     | $5 \times 10^8$ |
| H4: <i>Lecanicillium lecani</i>   | 2 gr/10ml     | $5 \times 10^8$ |

### 3.12. Establecimiento de población de *B. tabaci* (Genn.) en jaulas clip.

Se seleccionaron hojas sanas de la zona media de la planta, la cuales eran las unidades experimentales de los tratamientos. Se extrajeron 300 moscas de la cámara de cría por medio de un succionador y fueron depositadas en jaulas clip, teniendo como unidad experimental una hoja con jaula clip con 300 *B. tabaci* (Genn.).

#### 3.12.1. Aplicación de tratamientos.

La aplicación de los tratamientos se realizó con un aspersor manual el cual fue calibrado para aplicar 0.23 ml sobre las ninfas de *B. tabaci* (Genn.). Procurando una cobertura homogénea (Figura 17).



Figura 17. A) Aplicación de los tratamientos con hongos entomopatógenos, B) Aspersor manual, C) cobertura de mojado en hoja.

Calibración.

1ml  $\longrightarrow$  13 acciones (aspersiones).

1ml/ 13 acciones = 0.076923076ml/acción.

0.076923076ml/acción x 3 = 0.23 ml (volumen el cual permite tener el perímetro totalmente mojado en el área de las jaulas clip).

### 3.13. Análisis estadístico.

Los datos de mortalidad corregida por la fórmula de Henderson-Tilton, fueron transformadas (arcoseno de la raíz cuadrada), sin embargo no cumplieron los supuestos del Análisis de Varianza, por lo cual se llevó a cabo la prueba de Kruskal – Wallis, como alternativa no paramétrica, utilizando la prueba de media de deDwas, Steel y Critchlow-Fligner (Hollander et al., 2013).

### 3.14. Determinación de CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> de *B. brogniartii* sobre ninfas de segundo y tercer estadio de *B. tabaci* (Genn.).

Luego de determinar que *Beauveria brogniartii* resulto el más efectivo con un 60% de mortalidad, (Figura 18) se procedió a encontrar la CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>.

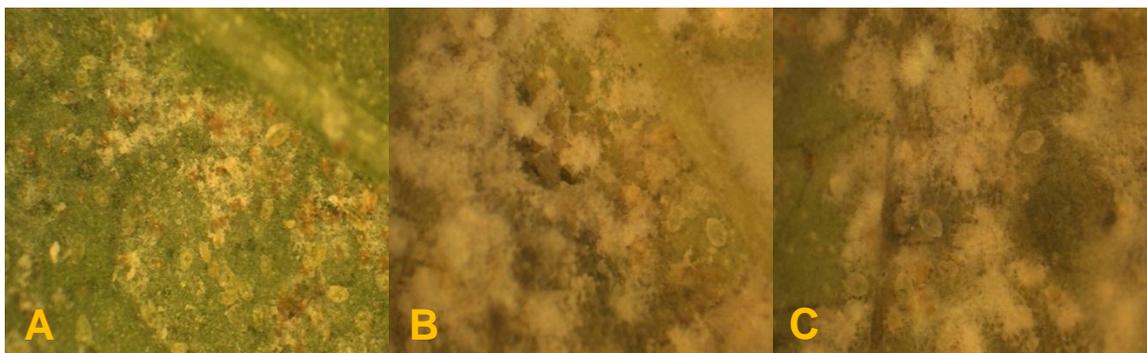


Figura 18 .A , B y C) mortalidad de ninfa de segundo y tercer estadio de *B. tabaci*.

### 3.14.1. Concentraciones evaluadas.

Para la segunda evaluación y de la CL50 y CL90 se utilizaron cuatro concentración de *B. brongniartii*: 0.6gr/500ml, 3.0gr/250ml, 6.0gr/10ml, y 9.0gr/10ml (Cuadro 5).

Cuadro 5. Concentraciones evaluadas en el segundo ensayo.

| Tratamientos                      | Conidios/ml                       | Concentración |
|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------|
| H0:                               |                                   | 15 ml         |
| T1: <i>Beauveria brongniartii</i> | $1 \times 10^6$ conidios por ml   | 0.6gr/500ml   |
| T2: <i>Beauveria brongniartii</i> | $1 \times 10^7$ conidios por ml   | 3.0gr/250ml   |
| T3: <i>Beauveria brongniartii</i> | $5 \times 10^8$ conidios por ml   | 6.0gr/10ml    |
| H4: <i>Beauveria brongniartii</i> | $7.5 \times 10^8$ conidios por ml | 9.0gr/10ml    |

### 3.14.2. Establecimiento de población de *B. tabaci* (Genn.) en jaulas clip.

Se colocaron 20 trampas, con 300 moscas blancas cada una, fueron colocadas en una planta individual, en hojas de chile sanas (Figura 19).

A estas jaulas se les aplicarán cuatro concentraciones de conidios *B. brogniartii* y un testigo absoluto (agua destilada) a las ninfas de segundo estadio ninfal.



Figura 19. A Y B. Establecimiento de población de *B. tabaci* (Genn.) en jaulas clip.

### 3.14.3. Aplicación de tratamientos.

Se diluyeron los distintos gramos de hongos entomopatógenos en agua destilada, se colocaron en recipientes previamente identificados. La calibración del aspersor manual fue de la misma forma que se realizó en el primer ensayo. La aplicación de cada tratamiento se realizó a los ocho días después del montaje de las jaulas clip con la población de moscas blancas, este tiempo fue determinado por medio de la evaluación del ciclo biológico en jaula clip.

### 3.15. Análisis estadístico.

Para la determinación del aislamiento de hongos entomopatógenos más efectivo contra *B. tabaci* (Genn.) se llevó a cabo la prueba de Kruskal – Wallis, como alternativa no paramétrica, sobre los datos de mortalidad corregidos por la fórmula de Henderson-Tilton. Para la separación de medias se utilizó la prueba de distribución libre de dos lados para la comparación múltiple basada en rangos pareados de Dwass, Steel y Critchlow-Fligner (Hollander *et al.*, 2013). Para esta prueba se utilizó un  $\alpha = 0.1$  tomando en cuenta la variabilidad de las unidades experimentales utilizadas.

La determinación de la  $CL_{50}$  y la  $CL_{90}$  se llevó a cabo utilizando un análisis de dosis respuesta, utilizando el paquete “drc” en el programa R.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Efectividad de cuatro aislamientos de hongos entomopatógenos en ninfas de segundo y tercer estadio de *B. tabaci* (Genn.).

Los datos provenientes de las evaluaciones de los cuatro aislamientos de hongos entomopatógenos a una concentración similar ( $1 \times 10^8$  Conidios por ml), fueron sometidos a las pruebas previas para comprobar si se cumple con los supuestos del análisis de varianza.

### 4.2. Comprobación de los supuestos del Análisis de Varianza.

#### 4.2.1. Prueba de normalidad.

Para comprobar la validez del uso de un Análisis de Varianza, se realizó Test de Anderson-Darling en el paquete “nortest” en R: ( $A = 1.5723$ ,  $p\text{-valor} = 0.0002943$ ). Tomando en cuenta que los datos corresponden a porcentajes de mortalidad, se realizó una transformación arcoseno de la raíz cuadrada de los valores de mortalidad corregida  $A = 1.2249$ ,  $p\text{-valor} = 0.00234$  (Figura 20). El  $p\text{-valor}$  es menor a 0.05, por lo cual se determina que la distribución de los datos no es similar a la esperada si pertenecieran a una población con distribución normal. Al transformar los datos, estos incrementan el  $p\text{-valor}$ .

#### 4.2.2. Prueba de homogeneidad de varianzas (homocedasticidad).

Se realizó la prueba de Levene a los datos transformados, utilizando el paquete “car” en R, con el objetivo de determinar la homogeneidad de varianzas, ( $p = 0.4697$ ).

El  $p\text{-valor}$  es mayor a 0.05, por lo que se asume que las varianzas de los distintos tratamientos son homogéneas.

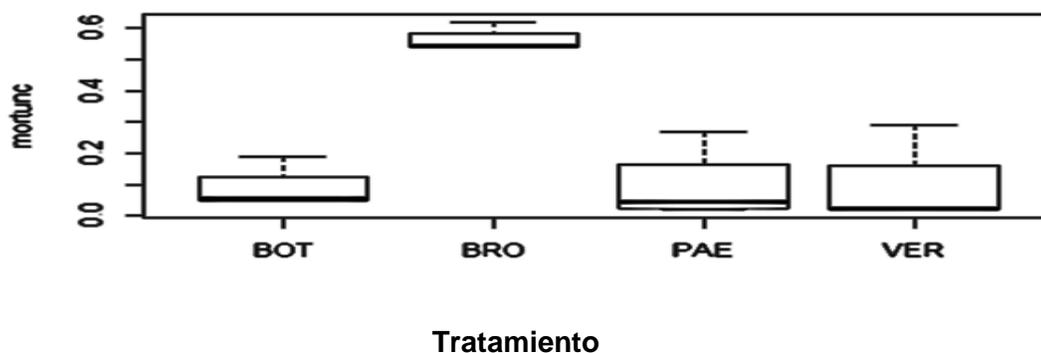


Figura 20. Boxplot de la mortalidad corregida por la fórmula de Hinderson – Tilt. BOT: Botanigard, BRO 22wp®: Beauveria brogniartii, PAE: Paetron® y VER: Vertisave – 5®.

#### 4.2.3. Análisis de Kruskal – Wallis.

Se utilizó la función `kruskal.test` en R, (Kruskal-Wallis chi-squared = 8.9338, df = 3, p-value = 0.03018). La prueba de Kruskal – Wallis, presenta un p-valor menor a 0.05, por lo que se determina que existe diferencia en la mortalidad ocasionada por los aislamientos de hongos entomopatógenos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Separación de medias de los valores de mortalidad de los tratamientos.

| $W^*_{ij}$ | BRO | BOT        | PAE         | VER          |
|------------|-----|------------|-------------|--------------|
| BRO        |     | 3,26598632 | -3,26598632 | -3,265986324 |
| BOT        | *   |            | -0,40824829 | -1,632993162 |
| PAE        | *   |            |             | 0            |
| VER        | *   |            |             |              |

La prueba de Dwas, Steel y Critchlow-Fligner, muestra que la única diferencia significativa es entre *Beauveria brogniartii* y los restantes tres hongos entomopatógenos evaluados ( $p < 0.1$ ), mientras que *Beauveria bassiana*, *Isaria fumusorosea* y *Lecanicillium lecanii*, no mostraron diferencias entre sí ( $p > 0.1$ ).

#### 4.2.4. Análisis de dosis-respuesta para la determinación de la $CL_{50}$ y $CL_{90}$ de *Beauveria brogniartii*.

Se determinó la Concentración Letal 50 del aislamiento *Beauveria brogniartii* en  $5.91 \times 10^7$  (Figura 21).

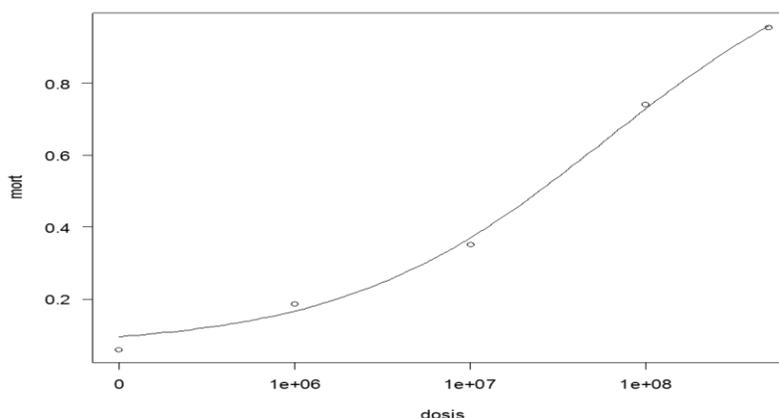


Figura 21. Dosis – respuesta de *Beauveria brogniartii* en ninfas de mosca blanca de segundo estadio.

## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Según los resultados obtenidos en los bioensayos, *Beauveria brogniartii* ocasionó un 60% mortalidad contra ninfas de segundo y tercer estadio de mosca blanca (*Bemisia tabaci* (Genn.) con respecto a *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Lecaniciliun lecanii*.

Algunos estudios demuestran que *Lecaniciliun lecanii* es efectivo sobre mosca blanca (Ávila *et al*, sf; Correal *et al*, 2006). Por otra parte *Isaria fumosorosea* es reconocido como un efectivo controlador biológico de *Bemisia tabaci* Genn. (Carret *al*. 2003), siendo capaz de ocasionar epizootias en condiciones naturales, cuando la humedad relativa es alta. En estas condiciones la incidencia es mayor que otros hongos entomopatógenos (Gómez, 1999) y afecta todos los estadios ninfales de *B.tabaci* Genn. (Vázquez, 2002). Esto contrasta con los resultados obtenidos en la presente investigación. Sin embargo se considera que los factores que influyeron en los productos comerciales evaluados (*Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Lecaniciliun lecanii*), fueron en primer lugar la calidad del producto formulado y las condiciones de almacenamiento. Por otra parte *B. brogniartii*, fue obtenido de la micoteca del CENTA donde se hicieron prácticas de activación de la cepa y evaluaciones de viabilidad y virulencia. En cuanto a la temperatura, los productos a base de hongos entomopatógenos se ven afectados si esta no se mantiene dentro del rango adecuado para conservar la viabilidad de la cepa, y como lo indica Blanco *et al.*, 2011 la acción de los hongos es influenciada por las condiciones ambientales adversas lo cual reduce su eficacia en campo. Es necesario tomar en cuenta, que no se sabe con certeza si los productos utilizados en la investigación cumplieron con las condiciones necesarias en el proceso de fabricación y almacenamiento para conservar su viabilidad. Esto resultó en una baja agresividad en campo.

Otro factor que influyó en la efectividad de los productos evaluados, fue que se realizaron todas las evaluaciones en condiciones de cultivo protegido para que todos los tratamientos tuvieran las mismas condiciones de campo. Por el contrario, Zepeda (2007) en su investigación colocó diariamente 0.2 ml. de agua destilada con una jeringa estéril en cada tubo, con el objetivo de brindar las condiciones adecuadas de humedad (90 RH) para el desarrollo e infección del hongo sobre el insecto.

Otro aspecto diferente con esta investigación fue que la aplicación de los tratamientos se realizó con un aspersor manual procurando una cobertura homogénea, similar a lo que se logra en una aplicación dentro de un invernadero. De igual manera, las hojas con *B. tabaci* Genn. Tratadas no fueron separadas de las plantas y se procuró que la aplicación se realizara de manera similar a las prácticas de agricultura protegidas. A diferencia de Molina (2003); Zepeda (2007); Mejía *et al.*, (2009) implementaron el método de inmersión de hoja para aplicar los conidios.

En otros estudios donde se han evaluado *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Lecaniciliun lecanii* contra *B. tabaci* (Genn.). Su efectividad es específicamente en el estadio adulto (Azahar, 2000). Esto explica por qué en nuestra investigación la mortalidad inducida por estos aislamientos no fueron tan altos como se reporta en otras investigaciones ya que se trabajó con los segundos y terceros estadios ninfales del insecto.

## 6. CONCLUSIONES.

*Beauveria brogniartii* fue el entomopatógeno que mostro un 60% de mortalidad con una concentración de conidios  $5 \times 10^8$  en los estadios ninfal II y III de *B. tabaci* (Genn.), superando a los otros hongos evaluados que solamente mostraron un 20% de mortalidad.

La concentración Letal 50 del aislamiento *Beauveria brongniartii* fue de  $5.91 \times 10^7$ , con la cual obtenemos la muerte del 50 por ciento de la población de ninfal II y III de *B. tabaci* (Genn.).

La CL90 no se logor evaluar porque para llevar a cavo esta prueba se necesitaba una gran cantidad de inculo en un pequeño volumen de agua.

*Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, y *Lecanicillium lecanii* tienen mayor incidencia en adulto de mosca blanca a diferencia de *Bauveria brogniartii* que mostro un 60% de mortalidad en ninfal II y III de *B. tabaci* (Genn.).

Otra alternativa para el control mosca blanca es *Lecanicillium lecanii* que mostro una mortalidad del 30%, superando a *Beauveria bassiana* que alcanzó un 20% de mortalidad e *Isaria fumorosea* que alcanzo un 25% de mortalidad.

La mosca blanca luego que es inoculada en las hojas de chile pimentón, su ciclo de vida alcanza ocho días para alcanzar el estadio ninfal dos donde cesa su movimiento y permite ser evaluada.

Una de las causas por la cual el hongo entomopátogenos *Beauveria brongniartii* resultó con mayor eficacia fue porque se replicó a nivel de laboratorio hasta volverla una cepa agresiva contra *Bemisia tabaci* (Genn.).

Las jaulas clips facilitan la aplicación de los hongos entomopátogenos por que permite mantener focalizada la ovoposición de las moscas blancas.

La cámara de cría de *Bemisia tabaci* (Genn.). Permite tener una alta población aislada, lo cual facilita la obtención de mosca blanca para los ensayos porque en época de lluvia la población en campo disminuye.

## 7. RECOMENDACIONES.

Se recomienda utilizar *Beauveria brogniartii*, como parte de un programa de manejo integrado de *Bemisia tabaci* (Genn.) ya que fue el único producto que ataco huevos, ninfas y adultos.

Hacer pruebas de calidad en productos formulados a base de hongos entomopatógenos, porque estos pueden mostrar variaciones debido a las condiciones de almacenamiento y pérdida de viabilidad.

Almacenar correctamente los productos biológicos en temperaturas y humedad relativa óptima, para que estos se mantengan con mayor tiempo en buenas condiciones y no disminuir su agresividad al momento de hacer aplicaciones en los insectos y plagas.

El uso de hongos entomopatógenos es una alternativa amigable con el medio ambiente y el ser humano, ya que no generan tóxicos dañinos y sustancias nocivas que afecten la salud de las personas y animales domésticos.

Recolectar hongos nativos de la zona que estén adaptados a las condiciones ambientales y reproducirlos en laboratorios para combatir mosca blanca.

Realizar convenios entre la Universidad de El Salvador y el CENTA, para seguir ampliando investigaciones en productos biológicos.

Al momento de reproducir hongos entomopatógenos en laboratorios es importante asegurar que el local y el equipo este completamente limpio para evitar contaminación de las muestras.

Realizar estudios de control de mosca blanca a través de otros enemigos naturales.

Reducir el uso de productos sintéticos en las plantaciones ya que estos disminuyen las poblaciones de organismos benéficos, como los enemigos naturales de las plagas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA.

**Alpizar, D. 1992.** La mosca blanca manual descriptivo para agricultores: ¿porqué es importante controlar la mosca blanca? San Salvador, SV, Ministerio de Agricultura y Ganadería. (Boletín técnico no. 108). 5p.

**Aparicio, v; Aranda, G; Belda, JE; Franpolli, E. 1991.** Plagas del tomate: Bases para el control integrado ED. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, ES, Imprenta Neografis.194p.

**Ardon, M; Cuellar, R;Henríquez, J. 1992.** Reconocimiento de enemigos naturales y hospederos de moscas blancas (Homóptero: *Aleyroidae*) en tres zonas de la cuenca de lago. Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV, UES. 65p.

**Ávila, AL; Mejía, CC; Gonzales, JG; Rendón, F; Hernández, P. s.f.** Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de mosca blanca (Homoptera: *Aleyrodidae*) en Colombia y Ecuador). Revista Colombiana de Entomología 27 (3-4): 137-141 (2001).

**Azahar, M. 2000.** Inventario de alternativas para el manejo integrado de plagas. Taller sobre discusión de diferentes procedimientos de generación y transferencias de tecnología en MIP. Grupo Regional MIP Centro. San Salvador, El Salvador. 38p.

**Blanco, JD; Soto, EC; Solera, MC. 2011.** Entrega, Manejo y Uso de Productos Biológicos por Parte de Usuario de la Agroindustria Azucarera Costarricense. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar. Costa Rica, CR. 85p.

**Carret, A; Elosegui, O; Padron, NB. 2003.** Reproduccion de dos cepas nativas del hongo *PaecilomycesFumoso*roseus (Wise) Brown y Smith, sobre diferentes soportes líquidos y sólidos. Instituto de investigación de sanidad vegetal, Cuba. Rev. Fitosanidad, vol. 7, num. 4, 2003, pp 7-11.

**CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1993.** Control biológico de insectos: Los hongos. Turrialba, CR. 15p (Boletín técnico no.208).

Cisneros, F. 1995. Control de plagas agrícolas (en línea). s. l. Consultado 22 mayo. 2014. Disponible en <http://www.avocadosource.com/books/CisnerosFausto1995/CPA>.

**Correal, CE; Rivero, LV; Torres, LT; Bernal, EG; Lozano, MD; Prado, AM; Avila, AL; Gonzales, JG; Gonzales, V. 2006.** Desarrollo de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Colombia, CL, Corpoica Centro de Investigación Nataima. (Boletín técnico No 2. 2006) 8p.

**Gómez, H.1999.** Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) en Lima, Perú. Rev. Per. Ent. 41: 83-86.

**Hollander, M; Wolfe, D; Chicken, E. 2013.** Nonparametric Statistical Methods.(En línea). Consultado el 25 de junio de 2014. Disponible en [www.wiley.com/productcd-0470387378.html](http://www.wiley.com/productcd-0470387378.html)

**ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). s.f.** Manejo integrado de las moscas blancas *Bemisia tabaci* (Gennadius) Aleurotrachelus sociales Bondar). Ed. VR Navarro. 41 ed. Colombia, ICA. 15p.

**Mejía, GM; Menjívar, AG; Núñez, EG. 2009.** Evaluación de hongos entomopatógenos como biocontrolador de Bacteria (*Paratrioza*) cockerelli (*Homóptera: Psyllidae: Triozinae*) en papa (*Solanum tuberosum*) a nivel de laboratorio. Tesis. Ing. Agr. San Salvador, SV, UES.105p.

**Menéndez, AF; Pérez, D. 1994.** Determinación del ciclo biológico de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en cuatro plantas hospederas a nivel de invernadero. Tesis Ing. Agr. El Salvador, UES. 101p.

**Monzón A, 2001.** CATIE-gtz. Producción, uso y control de calidad de hongos Entomopatogenos en Nicaragua, manejo integrado de plagas. Costa Rica. (En línea). Consultado el 20 de mayo de 2014.

Disponible en <http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rev63/pag95-103.pdf>

**Molina, GH.2003.** Biología, efectos de hongos entomopatógenos y de extractos vegetales en laboratorio y campo, comportamiento de sus enemigos naturales e impacto ambiental para su manejo sostenible. Antioquia, Colombia. 65p.

**Morales, FJ; Cardona, C; Bueno, JM; Rodríguez, I. 2006.** Manejo integrado de plantas causada por virus transmitidos por mosca blanca. Francisco morales ed. Colombia, CIAT. 49p.

**Parada, J; Guzmán, R.1998.** Hongos entomopatogenos, una alternativa para controlar insectos. Unidad de comunicaciones de CENTA. San Andrés, La Libertad, El Salvador. 115p.

**Roberts, D; Humber, R. 1984.** Hongos entomopatógenos, procesos de infección de hongos. Fundación Rockefeller. Nueva York, Estados Unidos.12p.

**Rodríguez, LA; Arreondo, HC. 2007.** Teoría y aplicación del control biológico. México. 303p.

**Salguero, V. 1994.** Manejo de mosca y acolochamiento en tomate. CATIE. (E.S.). 12p.

Vargas, M. s.f. Caracterización de tres cepas de *Beauveria brongniartii* y su Virulencia en *Phthorimaea perculella* *Symmetrische matangolias* Cap. 2 Documento en PDF. S.I. (en

línea). Consultado 19 de mayo de 2014 Disponible en [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Basic/vargas\\_fm/Cap2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Basic/vargas_fm/Cap2.pdf).

**Vázquez, ML. 2002.** Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. Costa Rica, CR, Rev. Protección vegetal, no. 66. P 82-85.

Vázquez, L; Murguido, C; Elizondo, AI; Elósegui, O; Morales, FJ. 2007. Control biológico de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Cali, CO, INISAV. 23p.

**Yufera, ED.1991.** Ecología química, nuevos métodos de lucha contra insectos: Necesidad de los plaguicidas en el estado actúa de la tecnología agrícola .ED.Mundi-prensa.Madrid, ES. 21p.

**Zepeda, EM.2007.** Aislamiento y patogenicidad del hongo nativo (*Beauveria bassiana*) (bals) vuill. Controlador biológico de la broca del cafeto *Hypithenemus hampei* (Ferrari). Tesis. Ing. Agr. San Salvador, SV, UES. 65p.