

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Efectividad de *Beauveria bassiana* Sobre Mosquita Blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en Plantas de Frijol (*Phaseolus vulgaris*), a Nivel de Invernadero

Por:

**FABIÁN QUINTERO TOVAR**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México.

Marzo 2015.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efectividad de *Beauveria bassiana* Sobre Mosquita Blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en Plantas de Frijol (*Phaseolus vulgaris*), a Nivel de Invernadero

Por:

**FABIÁN QUINTERO TOVAR**

TESIS

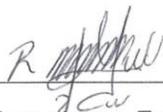
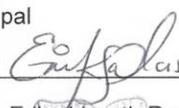
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**



Dr. Sergio René Sánchez Peña

Asesor Principal

  
M.C. Reyna Ivonne Torres Acosta  
Coasesor  
M.C. Erika Lizzeth Ramos Salas  
Coasesor  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Marzo 2015.

## **AGRADECIMIENTO**

A **mi Dios**, por presentarme la vida, y salud durante todo este tiempo que llevo de vida, por los momentos gratos, por ayudarme en las malas, por cuidarme y protegerme y ayudarme a salir adelante por todo lo que me has dado

A mi **Alma Terra Mater**, a ti que me brindaste la oportunidad de ser parte de tus alumnos y tener el honor de recibir la formación basada en los valores y ética profesional, por haberme abrigado durante todo ese tiempo por tanto que me diste.

A **Centro de Microbiología Aplicada**, por darme la oportunidad de a ver realizado este trabajo y a todo el personal por su atención.

Al **Dr. Sergio Sánchez Peña**, que fue asesor, tutor, profesor quien siempre confió en mí y me brindo conocimientos y oportunidad para mi formación, el cual fue más que un profesor, fue un amigo.

A **MC. Erika L. Ramos Salas**, por su paciencia y tiempo brindado en la revisión de este trabajo.

A **MC. Reyna Ivonne Torres Acosta**, por su paciencia y tiempo brindado en la revisión de este trabajo.

A los **Profesores de la UAAAN**, Por todos sus sabios conocimientos Que contribuyeron a mi formación profesional, por sus consejos, amistad y valioso tiempo dedicado dentro y fuera del aula.

A la **Generación CXVIII**, por su amistad y su compañerismo, fue un honor.

## DEDICATORIA

A **MIS PADRES** por darme la vida, por ser de mí lo que soy.

**Bonifacio Quintero Hernández:** Gracias padre por ser un ejemplo de lucha, de responsabilidad, fortaleza, actitud y seriedad en la superación, por siempre ver por todos tus hijos y nunca rendirte, por todos tus valores adquiridos ese es mi padre.

**Ma. Teresa Tovar López:** Gracias madre por darme la vida, porque siempre creíste mí con tanta seguridad, por siempre demostrarnos, que somos para ti lo más importante y lo mejor, por todos tus consejos, por todo tu amor, cariño por que siempre estas para mí cuando te necesito, por tu educación tan digna, por tantas cosas mamá gracias, chulada de mamá.

A **MIS HERMANOS:**

**Efraín Quintero Tovar,** a ti hermano que eres un ejemplo de lucha, tenaz, y admiración.

**Saúl Quintero Tovar,** a ti hermano que también eres un ejemplo de iniciativa, porque todas tus habilidades y cualidades que me has demostrado.

**Miguel Ángel Quintero,** a ti hermano por todo tu apoyo, por tus consejos tan motivadores, por escucharme, por ser más que un hermano, un amigo y por todos esos momentos, por ser una persona de admiración viejo.

**Bonifacio Quintero Tovar,** ese Boni chulada de viejón, más que hermano amigazo carajo, por ser con quien he compartido tristezas y alegrías, momentos inolvidables, por confiar y creer en mí, por tantas cosas, aquí le dejo este detalle pariente.

**Enrique Quintero Tovar,** A ti buen Quique, por ser amigo, por confiar y creer en mí, por siempre ser una persona soñadora entusiasta.

**Yahir Quintero Tovar**, A ti buen hermano por ser el que da felicidad al hogar, por ser el mejor.

A mis **Sobrinas**, Ilze, Diana, Dayana, que son felicidad.

**A todos ustedes que son lo más importante, les doy las gracias por existir, por ser mi motor, por ser mi motivo de superación, “Esto es tan solo el comienzo”.**

### **AMIGOS.**

A Fredy, el cual es y siempre será un gran amigo, colega, por apoyarme, por tantas buenas, chulada viejo, sobre todo por siempre seguirme y guiarnos sobre la razón de ser del hombre, el patrimonio de la humanidad las damas.

A Javier, por ser amigo, por tantas discusiones políticas, y por todo los momentos inolvidables.

A Livier por siempre apoyarme sin pedir nada a cambio, por tu grata amistad, por escucharme y por confiar en mí.

A Israel, por todas esos momentos inolvidables.

A Dani, Fercho, Celso, Rojo, chilo, Rosario, Velquis, Juanito, Sabas, Calixtro, Peluche, José, Alex, Javier Vargas, Toribio, Víctor, Dani, y tantos grandes amigos que faltan.

**A ustedes gracias por brindarme su amistad y por tantos momentos inolvidables.**

A **Mariachi Juvenil Oro y Negro**, por tantas buenas experiencias y por confiar en mí, por ser los pioneros de esta nueva historia de música de mariachi.

# INDICE DE CONTENIDO

CONCEPTO	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS-----	i
DEDICATORIA-----	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO-----	ii
ÍNDICE DE FIGURAS-----	iv
ÍNDICE DE CUADROS-----	v
Resumen-----	vi
<b>1.INTRODUCCIÓN-----</b>	<b>1</b>
1.1 Justificación-----	3
<b>2. OBJETIVO-----</b>	<b>4</b>
2.1 Objetivo general-----	4
2.2 Objetivos específicos-----	4
<b>3. REVISIÓN DE LITERATURA-----</b>	<b>5</b>
3.1 Generalidades del cultivo del frijol-----	5
3.1.1 Ubicación taxonómica-----	5
3.1.2 Importancia-----	5
3.1.3 Principales plagas-----	6
3.1.4 Tipos de control-----	6
3.2 Entomopatógenos-----	7
3.2.1 <i>Beauveria bassiana</i> -----	8
3.2.2 Ubicación taxonómica-----	9
3.2.3 Importancia-----	9
3.2.4 Casos exitosos de <i>Beauveria bassiana</i> -----	10
3.2.5 Procesos de infección-----	10
3.3 Mosquita blanca ( <i>Trialeurodes vaporariorum</i> )-----	11
3.3.1 Importancia-----	11
3.3.2 Daños directos-----	12
3.3.3 Daños indirectos-----	12
3.4 Ciclo de vida-----	12

3.4.1 Biología-----	13
3.4.2 Huevo-----	13
3.4.3 Primer instar-----	13
3.4.4 Segundo instar-----	14
3.4.5 Tercer instar-----	14
3.4.6 Cuarto instar-----	14
3.4.7 Adulto-----	14
<b>4. MATERIALES Y METODOS-----</b>	<b>16</b>
4.1 Método empleado-----	16
4.1.1 Activación de la Cepa-----	16
4.1.2 Preparación del medio liquido tenebrio-----	16
4.1.3 Infección de larvas-----	17
4.2 Producción de medio SDY y método de siembra-----	18
4.3 Preparación y diluciones de la mezcla de <i>Beauveria. bassiana</i> -	19
4.3.1 Conteo de esporas en la cámara de Neubauer-----	19
4.4 Evaluación de la efectividad de <i>Beauveria bassiana</i> contra	21
ninfas de mosquita blanca <i>T. vaporariorum</i> , bajo condiciones de	
invernadero-----	
4.4.1 Acondicionamiento de área-----	21
4.4.2 Preparación del suelo-----	22
4.4.3 Establecimiento del cultivo-----	22
4.4.4 Infestación de la colonia de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> -	23
4.4.5 Establecimiento del cultivo infestado en invernadero--	23
4.4.6 Obtención de las tres concentraciones de esporas de	24
<i>Beauveria bassiana</i> -----	
4.5 Diseño del experimento-----	25
4.6 Preparación del material para la previa aplicación-----	25
4.6.1 Parámetros de medición-----	26
4.7 Aplicación de los tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> -----	28
4.7.1 Experimento con una aplicación-----	28
4.7.2 Experimento con dos aplicaciones-----	28
4.8 Observación y toma de datos-----	29
4.9 Análisis estadístico-----	30

<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> -----	<b>31</b>
5.1 Medio nutritivo utilizado-----	31
5.2 Signos y síntomas de infección causados en <i>Trialeurodes vaporariorum</i> , por <i>Beauveria bassiana</i> -----	31
5.3 Comparación de los diferentes tratamientos (concentraciones de esporas)-----	32
5.4 Comparación de una vs. dos aplicaciones-----	35
5.5 Observaciones-----	36
<b>6. CONCLUSIÓN</b> -----	<b>37</b>
<b>7. LITERATURA CITADA</b> -----	<b>38</b>
<b>8. APÉNDICE</b> -----	<b>41</b>

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Morfología de <i>Beauveria bassiana</i> -----	9
2.	Ciclo de vida de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> -----	13
3.	Infección de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> con <i>Beauveria bassiana</i> -----	17
4.	Preparación de medio SDY-----	18
5.	Proceso de dilución para el conteo de <i>Beauveria bassiana</i> -----	19
6.	Cámara de neubauer-----	20
7.	Invernadero donde se llevó a cabo el experimento-----	21
8.	Preparación del suelo (a) con peat moss (b) y perlita (c)-----	22
9.	Siembra del frijol-----	22
10.	Infestación de la colonia de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> -----	23
11.	Establecimiento del cultivo infestado-----	23
12.	Concentración de esporas-----	24
13.	Distribución de los tratamientos -----	25
14.	Material de aplicación y depósito de <i>Beauveria bassiana</i> -----	26
15.	Área marcada con población de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> -----	27
16.	Etiquetado de las plantas de frijol-----	27
17.	Experimento tratado con una aplicación-----	28
18.	Experimento tratado con dos aplicaciones-----	29
19.	Observación visual al estereoscopio-----	29
21.	<i>B. bassiana</i> en medio de cultivo SDY-----	31
22.	Ninfas infectadas por <i>Beauveria bassiana</i> -----	32
23.	Porcentaje de control de mosca blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i> con los diferentes tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> de acuerdo a Tukey-----	33
24.	Porcentaje de control de mosca blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i> con los diferentes tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> de acuerdo a Duncan y LSD-----	34
25.	Comparación de los ensayos: A una aplicación y dos aplicaciones sobre <i>T. vaporariorum</i> de acuerdo a Tukey-----	35
26.	Daño de las ninfas en el foliolo de frijol sin cadáver -----	36

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Porcentaje de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> , con efecto de <i>B. bassiana</i> , con diferentes concentraciones bajo condiciones de invernadero Tukey-----	33
2.	Porcentaje de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> , con efecto de <i>B. bassiana</i> , con diferentes concentraciones bajo condiciones de invernadero Duncan y LSD-----	34
3.	Comparación de efectividad de una aplicación y dos aplicaciones de <i>B. bassiana</i> , sobre <i>T. vaporariorum</i> , bajo condiciones de invernadero Tukey-----	36

## Resumen.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la efectividad de *Beauveria bassiana* en el control de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), a nivel de invernadero. Esta investigación se realizó de Marzo a Agosto del 2014, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y en el Centro de Microbiología Aplicada, donde se llevaron a cabo distintas actividades para el desarrollo y evaluación de *B. bassiana*. La cepa fue proporcionada por la empresa Agrobiological la cual esta cepa fue aislada de tomatillo (*Physalis ixocarpa*), en la ciudad de San Luis Potosí.

Se llevaron a cabo evaluaciones con diferentes concentraciones de esporas de *B. bassiana*, ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^6$ ), para observar su grado de patogenicidad contra ninfas de mosquita blanca, (*T. vaporariorum*). De acuerdo al análisis estadístico, se comprobó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos Tukey.

También se realizó la evaluación del efecto de una aplicación y de dos aplicaciones de esporas de *B. bassiana*, en los cuales, no se encontraron diferencia significativa de acuerdo a Tukey, con respecto a los parámetros de medición ninfas vivas y ninfas muertas, en una superficie marcada para el registro de datos, para el porcentaje de mortalidad.

**Palabras claves.** Entomopatógenos, Efectividad, *B. bassiana*, control biológico, *T. vaporariorum*.

Correo Electrónico De Fabián Quintero Tovar: [favian\\_quintero19@hotmail.com](mailto:favian_quintero19@hotmail.com)

# 1. INTRODUCCIÓN

*Beauveria bassiana* es un hongo imperfecto (asexual) que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscardina. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número de parásitos de las plantas como son las orugas, las termitas, las moscas blancas, los áfidos, los escarabajos o los tisanópteros, (Gill 1992, Brown *et al.*, 1995).

La mosca blanca es una plaga que afecta la mayoría de los cultivos hortícolas, de muchas regiones productoras del mundo (Gill 1992, Brown *et al.*, 1995). Este insecto causa daños directos a los cultivos mediante la succión de savia e indirectos a través de la excreción de mielecilla, en donde se desarrolla el hongo *Capnodium* sp., que produce la fumagina (Byrne *et al.*, 1990). Además es un vector importante de enfermedades virales (Cohen 1990, Brown y Bird 1992, Torres-Pacheco *et al.*, 1996). La mosca blanca es un insecto polífago con más de 500 hospedantes, entre los que se incluyen cultivos anuales, ornamentales, industriales, frutales y malezas, (Byrne *et al.*, 1990, Brown *et al.* 1995, Orozco-Santos *et al.*, 1995).

El complejo de moscas blancas ha sido controlado principalmente mediante aspersiones de insecticidas sintéticos, lo cual puede provocar problemas de resistencia, contaminación ambiental, resurgimiento de plagas secundarias, acumulación de residuos tóxicos en los frutos e intoxicación de los trabajadores agrícolas. El control biológico mediante hongos entomopatógenos combinado con el uso de prácticas culturales y hospedantes menos susceptibles representa una alternativa viable para el manejo del insecto y reduce la dependencia a los plaguicidas sintéticos, (Fransen, 1990).

Considerando la importancia de contar con alternativas no contaminantes dentro de un manejo integrado de plagas, la evaluación de agentes de control biológico es prioritaria en la búsqueda de nuevos productos para el combate de mosca blanca. En estudios previos, se ha demostrado la efectividad biológica del hongo *B. bassiana*, bajo condiciones de campo en climas templados (Lacey *et al.*, 1995, Jaronski *et al.*, 1996, Wraight y Bradley 1996).

## 1.1 Justificación.

Una de las más grandes preocupaciones que existe hoy en día es dar un uso adecuado de productos químicos para la agricultura y en especial para los cultivos como hortalizas, frutales, cereales entre otros. Ya que la mala utilización de los plaguicidas principalmente su uso excesivo, las sobredosis, la aplicación inadecuada por los agricultores pueden ocasionar la presencia de residuos de plaguicidas en las frutas y hortalizas; de la misma manera, puede afectar otros recursos naturales mediante la contaminación de los mantos freáticos y suelo; lo anterior puede originar riesgos tanto para la salud humana como para el medio ambiente, (Guerrero, 2004).

El hongo *B. bassiana* es conocido como entomopatógeno desde 1835, año en que se descubrió causando la muerte de gusanos de seda (Commonwealth Mycological Institute, 1979). Se encuentra de forma natural en suelos de todo el mundo y sobre diversos órdenes de insectos (coleópteros, dípteros, heterópteros, hemípteros, lepidópteros, tisanópteros) así como sobre ácaros tetraníquidos, por lo que ha sido utilizado para el control de plagas de dichos órdenes en diversos países, por lo cual es uno de los entomopatógenos más importantes.

El Control Biológico es una nueva alternativa de control, el cual es uno de los elementos pertenecientes al Manejo Integrado de Plagas (MIP). Se usan los enemigos naturales de las plagas para mantenerlas controladas. Por lo cual nos proporciona ventajas, (Torres, D. y Capote, T. 2004).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo General:

Determinar la efectividad de *B. bassiana* en el control de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), bajo condiciones de invernadero.

### 2.2 Objetivos específicos:

- Determinar la concentración de esporas de *B. bassiana*, efectiva contra ninfas de mosquita blanca en cultivos de frijol, a nivel de invernadero.
- Evaluar el efecto de 1 aplicación y de 2 aplicaciones de esporas de *B. bassiana*.

## 3. LITERATURA REVISADA

### 3.1 Generalidades del cultivo de frijol.

Dentro del grupo leguminosas, el frijol común es una de las más importantes. Es una planta anual, herbácea intensamente cultivada desde la zona tropical hasta las templadas. Es originario de América y se le conoce con diferentes nombres: poroto, fréjol, hatico, caraota, judía, aluvia, habichuela y otros. El frijol es uno de los alimentos básicos en México, (Ulloa y Ramírez *et al.*, 2007).

#### 3.1.1 Ubicación taxonómica del frijol:

Reino: Plantae.

Subreino: Franqueahionta.

División: Spermatophyta.

Subdivisión: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliatae.

Orden: Fabales.

Familia: Fabaceae.

Género: Phaseolus.

Especie: *P vulgaris*, L

#### 3.1.2 Importancia

El frijol es uno de los cultivos de mayor importancia en nuestro país, ubicándose en segundo lugar por superficie destinada, la mayor importancia radica en el papel que juega para la economía campesina y como fuente vital de proteínas para la población mexicana, (M. Barreiro, 1995).

Sin embargo, a pesar de ser un producto tan necesario, la producción de frijol en nuestro país es sensible a las condiciones climáticas que se presentan durante el año agrícola, (M. Barreiro, 1995).

### **3.1.3 Principales plagas.**

Las plagas son un factor limitante que se presenta año con año e incrementan el riesgo de pérdidas, ya sea por el daño directo que ocasionan al cultivo, o bien, por la cantidad de recursos económicos que el productor debe invertir para su control, especialmente si el cultivo es bajo condiciones de temporal, (Mena J y Velásquez R. 2010).

A continuación, se presentan los insectos plaga de mayor importancia económica para el cultivo de frijol: Minador del frijol *Liriomyza* spp., Conchuela del frijol, *Epilachna varivestis* Mulsant, Mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum*, y *Bemisia tabaci*; Chicharrita del frijol, *Empoasca kraemeri* Ross y Moore, Chapulín gordiflón, *Brachystola magna* y *Brachystola mexicana* Bruner, Gallina ciega, *Phyllophaga* spp, Gusano occidental trozador del frijol, *Striacosta albicosta*, (Mena J y Velásquez R. 2010).

### **3.1.4 Tipos de control:**

Control cultural: identificar y hacer menos favorables los sitios de hibernación en las cercanías del cultivo reduce las poblaciones de adultos que colonizarán el cultivo al siguiente ciclo; existen variedades de frijol más tolerantes a dichas plagas.

Control biológico: son atacadas por depredadores y parasitoides, para fortalecer su impacto hay que evitar hacer aplicaciones de insecticidas no selectivos; además, existen otros enemigos naturales tales como los hongos, *B. bassiana*, es uno de los hongos entomopatógenos que controlan, ninfas y adultos de este insecto plaga, (Mena J y Velásquez R, 2010).

Control químico: algunos de los insecticidas que se pueden utilizar para el control de mosquita blanca, en el cultivo del frijol son: acefato, azinfos metílico, cipermetrina, deltametrina, dimetoato, endosulfán, fenvalerato, metomilo, malathión y triclorfón, (Mena J y Velásquez R, 2010).

### **3.2 Los entomopatógenos.**

Los hongos terrestres verdaderos, pertenecientes al reino *Mycota*, son agrupados en tres subdivisiones: *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*. Los hongos son un grupo de microorganismos filogenéticamente diverso, heterotróficos, eucariontes, unicelulares o hifales (filamentosos), que presentan reproducción por esporas sexuales, asexuales o ambas, (Inglis *et al.*, 2001, citados por Falconi, 2010).

Los entomopatógenos son importantes agentes de control biológico de insectos y frecuentemente ocasionan epizootias que reducen significativamente sus poblaciones (Macoy *et al.*, 1988). Se conocen más de 700 especies de hongos entomopatógenos pero poco más de 10 han sido empleadas en el control biológico de insectos, (Hajeck y St. Leger, 1994 citado por Cazorla, 2011).

#### *Metarhizium anisopliae*

Es el segundo hongo de mayor uso en el manejo microbiano de plagas, siguiendo de *B. bassiana*. Pertenece a la misma familia del *B. bassiana*. Ataca más de 300 especies de insectos de distintos órdenes. Entre estas plagas podemos mencionar el Salivazo en la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*), escarabajos, termitas, trips, insectos del hogar (mosquitos, cucarachas), etc. Los insectos muertos son cubiertos por el micelio que es color blanco y luego se vuelve verde durante la esporulación.

### *Verticillium lecanii*

De la misma familia de los anteriores, tiene estructuras ramiformes llamadas fiálidas, con células conidiógenas. Los conidios son hialinos y aseptados. Usados en invernaderos, atacan áfidos, escamas, moscas blancas, trips, etc. Los insectos atacados toman un color blanquecino.

### Otros Hongos Entomopatógenos

#### *Entomophthora muscae*

Usado en el manejo de gusano de la cebolla, del repollo y de la semilla del maíz. El insecto muerto toma aspecto amarillento.

#### *Zoophthora radicans*

Usado para el control de orugas, áfidos y otros. Tiene un amplio rango de control.

#### *Hirsutella thompsonii*

Utilizado para atacar ácaros, (Gómez L, 2008).

### **3.2.1 *Beauveria bassiana*.**

Es el hongo de mayor uso en el manejo de pestes, fue descubierta en 1835 por el entomólogo y botánico italiano Agostino Bassi. En 1980, se registró comercialmente en Kansas (EUA), contra *Blissus leucopterus*. Es un hongo Deuteromycetes, orden Moniliales, Familia Moniliaceae. Tiene conidióforos agrupados en forma de piña formando synemas; conidias lisas e hialinas de color blanco cremoso. Es posible encontrarlo en el suelo y las plantas y se ha reportado su efecto sobre más de 200 insectos, incluyendo grandes plagas agrícolas.

Es un hongo de gran virulencia y patogenicidad, además de una amplia gama de control. Es muy usado en el manejo de Coleópteros, los insectos muertos por su acción, muestran una cubierta algodonosa conformada por el micelio y esporas del hongo, (Gómez L, 2008).

### 3.2.2 La clasificación de *Beauveria bassiana* según Barnett y Hunter (1998), es la siguiente:

Reino: *Fungi*

División: Mycota

Clase: Deuteromycetes (Ascomycetes)

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *bassiana* (Bassi)

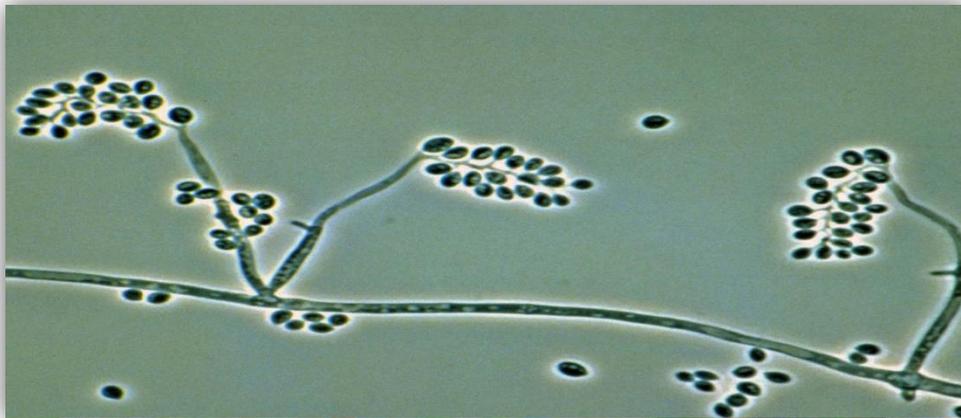


Figura 1. Morfología de *Beauveria bassiana*, (Barron G, 2013)

### 3.2.3 Importancia

La aplicación de *B. bassiana* es una práctica usual en el control de insectos plagas de coleópteros en varios países incluyendo México, el cual es usado en pruebas de campo, donde su efectividad puede llegar cerca del 100% del control, (w. De la Rosa *et al.*, 1998).

## Ventajas de utilizar control biológico

- No generan resistencia en las plagas
- Baja toxicidad.
- Baja o nula patogenicidad sobre la fauna benéfica.
- Son productos naturales y forman parte del ecosistema
- Aplicación fácil y segura.
- Fácil establecimiento en los cultivos.
- Contribuyen a la recuperación de las propiedades biológicas de los suelos.
- Mientras controlan unas plagas previenen la aparición de otras.

### 3.2.4 Casos exitosos de *Beauveria bassiana*.

*B. bassiana*, Es uno de los hongos entomopatógenos con mayor importancia, usado en numerosos países para diferentes plagas, como la Broca del Café (*Hipotenemus hampei* Ferrari), Picudos de plátano y algodón, chinches, *Plutella*, escarabajos, áfidos, trips, termitas y una amplia gama de insectos más, en los cuales ha tenido numerosos éxitos, con dichos insectos plaga, (Gómez L, 2008).

### 3.2.5 Proceso de infección

El hongo actúa por contacto ya que las unidades infectivas (conidias o esporas) se adhieren a la superficie de la cutícula a través de fuerzas hidrofóbicas invadiendo directamente a través del exoesqueleto, sin embargo la infección puede ocurrir a menudo a través de las partes bucales, membranas intersegmentales o a través de los espiráculos, sitios donde existe alta humedad que promueven la germinación y permite la fácil penetración (Charnley, 1997). Una vez en contacto con la cutícula el hongo germina, produciendo un tubo para buscar puntos que faciliten su penetración. Esta penetración es ayudada por la formación de apresorios que ejercen presión física sobre el exoesqueleto, además de la producción de enzimas, proteasas, quitinasas y lipasas, que degradan la cutícula. El hongo atraviesa la epicutícula y forma placas que van invadiendo y destruyendo los diferentes estratos de la cutícula. Una vez dentro del hemocele la

colonización del hospedero se realiza por medio de blastosporas y del micelio (St. Leger *et al.*, 1991). Una vez que ha penetrado la cutícula y la epidermis, este crece abundantemente en la hemolinfa, en cuyo caso la muerte es el resultado de una combinación de daños mecánicos producidos por el crecimiento del hongo, por desnutrición ya que durante su desarrollo el hongo utiliza los azúcares y proteínas presentes en la hemolinfa y por la acción de metabolitos secundarios o toxinas (Gillespie y Claydon, 1989). Poco después de que ocurre la muerte del hospedero, las hifas del hongo atraviesan la cutícula ocurriendo la formación de conidióforos que dan origen a las esporas asexuales o conidias, que funcionan como unidades de dispersión e infección, (Torre, 2000).

### **3.3 Mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*)**

La mosca blanca *T. vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae), es una de las plagas más importantes a nivel mundial. La importancia económica de este insecto se debe al gran número de especies cultivadas que afecta. Y a su amplia distribución geográfica en el trópico, subtropical y zonas templadas del mundo. Los adultos y ninfas de este insecto succionan la savia del floema, este es un daño directo que reduce los rendimientos. La producción de secreciones azucaradas por adultos y ninfas afecta indirectamente la producción porque favorece el desarrollo de hongos como la fumagina que interfiere con la fotosíntesis. En cultivos como habichuela, (*Phaseolus vulgaris*). *T. vaporariorum* puede causar pérdidas cercanas al 50%, (Cardona, 2005; Rodríguez y Bueno, 2005).

#### **3.3.1 Importancia.**

Puede llegar a convertirse en una plaga en muchos cultivos agrícolas de frutas, hortalizas y plantas ornamentales, se encuentra frecuentemente en invernaderos y en otras estructuras agrarias de protección de los cultivos.

### **3.3.2 Daños directos.**

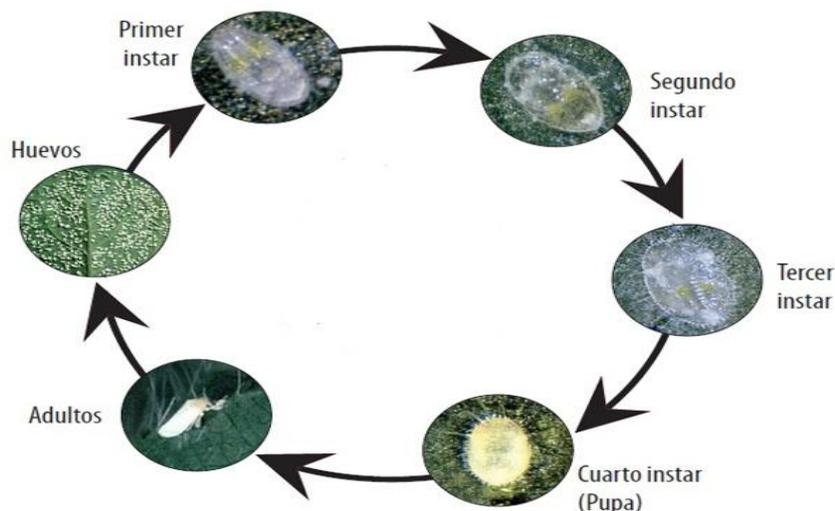
Los adultos hembra tienen preferencia para la alimentación y oviposición por las hojas más jóvenes y tiernas, y los adultos se alimentan succionando la savia de las hojas. Si la población es muy elevada se puede llegar a producir un debilitamiento de la planta, clorosis y desecación de las hojas, (Sanidad Vegetal, 2011).

### **3.3.3 Daños indirectos**

La mosca blanca también causa daños indirectos por la excreción de una sustancia (fumagina o negrila) por el hongo *Cladosporium sp.*, que merma la capacidad fotosintética de la planta, así como la respiración de ésta, pudiendo además depreciar la calidad de la cosecha, (Sanidad Vegetal, 2011).

### **3.4 Ciclo de vida.**

*T. vaporariorum* es un insecto hemimetábolo (metamorfosis incompleta) que tiene las siguientes etapas de desarrollo durante su ciclo de vida: huevo, cuatro instares ninfales y adulto. Estos estados de desarrollo se observan en el envés de las hojas. La duración del ciclo total de huevo a emergencia de adultos es de 24 a 28 días, (Cardona *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Ciclo biológico de *Trialeurodes vaporariorum*, (Cardona *et al.*, 2005).

### 3.4.1 Biología.

#### 3.4.2 Huevo.

El huevo de mosca blanca es liso, alargado, la parte superior termina en punta y la parte inferior es redondeada y se fija al envés de la hoja por medio de un pedicelo. En promedio un huevo mide 0.23 mm de longitud y 0.1 mm de anchura. Los huevos son inicialmente blancos, luego toman un color amarillo y finalmente se tornan café oscuro cuando están próximos a eclosión. La mosca blanca pone los huevos en forma individual o en grupos, (Cardona *et al.*, 2005).

#### 3.4.3 Primer instar

La ninfa recién emerge del huevo se mueve para localizar el sitio de alimentación, el cual es el único estado inmaduro que hace este movimiento y se le conoce como “crawler” o gateador, de allí en adelante la ninfa es sésil. Tiene forma oval con la parte distal ligeramente más angosta, es translúcida y con algunas manchas amarillas, es muy pequeña la cual mide, (0.27 mm de longitud y 0.15 mm de anchura). La duración promedio del primer instar es de tres días, (Cardona *et al.*, 2005).

#### **3.4.4 Segundo instar**

La ninfa de segundo instar es translúcida, de forma oval con bordes ondulados, el cual mide 0.38 mm de longitud y 0.23 mm de anchura, en donde las ninfas de primer y segundo instar se ven con mayor facilidad si se usa una lupa de 10 aumentos. y duración promedio del segundo instar es de tres días, (Cardona *et al.*, 2005).

#### **3.4.5 Tercer instar**

La ninfa de tercer instar es oval, aplanada y translúcida, semejante a la de segundo instar. El tamaño aumenta al doble del primer instar (0.54 mm de longitud y 0.33 mm de anchura). Se observa con facilidad sobre el envés de la hoja sin necesidad de lupa y la duración promedio del tercer instar es de tres días, (Cardona *et al.*, 2005).

#### **3.4.6 Cuarto instar (pupa)**

La ninfa recién formada de cuarto instar es oval, plana y casi transparente, el cual a medida que avanza su desarrollo se torna opaca y en ese momento se le da el nombre de pupa. Presenta hilos de cera largos y erectos que le son característicos, es de perfil luce elevada con respecto a la superficie de la hoja, en las pupas más desarrolladas próximas a la emergencia de adultos, los ojos se observan con facilidad. La pupa mide 0.73 mm de longitud y 0.45 mm de anchura. La duración promedio del cuarto instar es de ocho días, (Cardona *et al.*, 2005).

#### **3.4.7 Adulto**

Recién emerge de la pupa, el adulto mide aproximadamente 1 mm de longitud, Y el cuerpo es de color amarillo limón, las alas son transparentes, angostas en la parte anterior, se ensanchan hacia atrás y están cubiertas por un polvillo blanco, y los ojos son de color rojo oscuro.

Las hembras son de mayor tamaño que los machos, viven entre 5 y 28 días, y alimentan y ovipositan en el envés de hojas jóvenes, las cuáles seleccionan por atracción de color. Los adultos copulan en cuanto, emergen, pero en dados casos puede haber un período de preoviposición de un día. Una hembra pone aproximadamente entre 80 y 300 huevos, el cual también se puede reproducir, partenogenéticamente dando lugar a progenies constituidas exclusivamente por machos, (Cardona *et al.*, 2005).

## **4. MATERIALES Y METODOS**

### **4.1 Área de Trabajo**

La presente investigación se realizó durante Marzo-Agosto del 2014, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y en el Centro de Microbiología Aplicada, donde se llevaron a cabo distintas actividades para el desarrollo y evaluación de *Beauveria bassiana*, la cual fue proporcionada por la empresa CEMAP. Esta cepa fue colectada en los campos de cultivo de tomatillo por Agrobiological Control en la ciudad de San Luis Potosí.

#### **4.1.1 Activación de la Cepa.**

#### **4.1.2 Preparación de medio liquido tenebrio.**

Los objetivos son la reactivación la cepa y obtener una mayor actividad enzimática durante el proceso de degradación de la cutícula, se realizó el siguiente medio de cultivo sólido en base a *Tenebrio molitor*.

Procedimiento.

1. Se trituraron las larvas de *T. molitor*.
2. Se depositaron 5 gr de tenebrio macerado por matraz.
3. Se vaciaron 100 ml de agua estéril medio tenebrio en 3 matraces de 250 ml esterilizados.
4. El material se metió en la autoclave a una temperatura de 121 C°. por una periodo de 15 minutos para su esterilización así mismo se esperó a que el medio estuviera a temperatura ambiente.
5. Se añadieron tres explantes *B. bassiana*. con un sacabocados estéril.



**Figura 3.** Infección de larvas de *Tenebrio molitor*, con *Beuveria bassiana*

#### 4.1.3 Infección de larvas.

El proceso de infección se realizó en cámaras húmedas (cajas Petri) con larvas vivas de *T. monitor* en donde agregamos porciones de soluciones de *B. bassiana*. Para la observación de su efectividad contra la larva y reactivación del hongo.

##### Procedimiento

1. Se tomó una caja Petri de *B. bassiana* en donde se depositó agua estéril en una cantidad arbitraria con una matraz, y se llevó a cabo el método del barrido con varilla para la separación de esporas.
2. Se vació la suspensión en una caja Petri estéril para almacenar las esporas.
3. Se tomaron 3 cajas Petri con división en cada una de las cajas se depositaron 2 larvas de tenebrio vivas y en la otro parte de la división, se colocó un algodón con agua para mantener la humedad.
4. Así mismo se tomaron las larvas de tenebrio y se sumergieron en la suspensión de esporas las cuales se depositaron en la caja estéril dividida.

5. Después de llevar a cabo todo el procedimiento ya mencionado, se almacenaron las cajas Petri en un lugar con temperatura ambiente y media luz solar para el desarrollo del hongo.
6. Posteriormente se monitoreo repetitivamente para observación del desarrollo y la efectividad del hongo.

#### **4.2. Producción en Medio SDY (sucrosa dextrosa y extracto de levadura) y método de siembra.**

A continuación se describe el procedimiento para preparar el medio de cultivo SDY:

Procedimiento:

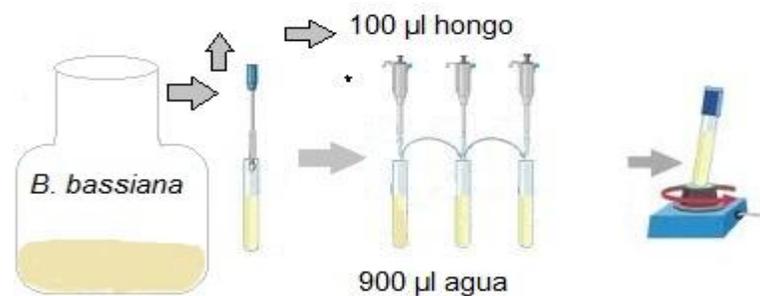
1. Consiste en agregar en un matraz Agar Sabouraud en una cantidad de 65 gr y 15 gr de extracto de levadura y aforar en 1 Lt de agua.
2. Después de haber obtenido estos ingredientes ya mencionados se introduce en la autoclave para esterilizar a 121 C° durante 15 minutos.
3. Posteriormente se esperó a que se enfríe de tal manera que fue vaciado en cajas Petri para su solidificación.
4. Esperar a que el medio de cultivo solidifique y sembrar mediante la técnica de estría cruzada para la obtención del desarrollo de *B. bassiana*.
5. Posteriormente, las placas se metieron a incubar a 28 °C.



**Figura 4.** Preparación de medio SDY.

### 4.3 Preparación y diluciones de la mezcla de *Beauveria bassiana*.

Una vez obtenida la esporulación del hongo se efectuó la extracción de esporas del medio nutritivo SDY de la siguiente manera: A una caja Petri se le agregó agua destilada en una cantidad arbitraria tratando de cubrir el micelio del hongo, posteriormente, las esporas fueron cosechadas con un asa varias veces. La solución obtenida se depositó en un matraz estéril y posteriormente fue distribuido en tres tubos de ensayo, en donde se realizaron las diluciones necesarias hasta obtener una mezcla homogénea para su posterior conteo.



**Figura 5.** Proceso de Dilución para el conteo de *Beauveria bassiana*

#### 4.3.1 Conteo de esporas en la cámara de Neubauer.

La cámara de Neubauer es un instrumento utilizado en medicina y biología para realizar el recuento de células en un medio líquido, que puede ser un cultivo celular, sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial.

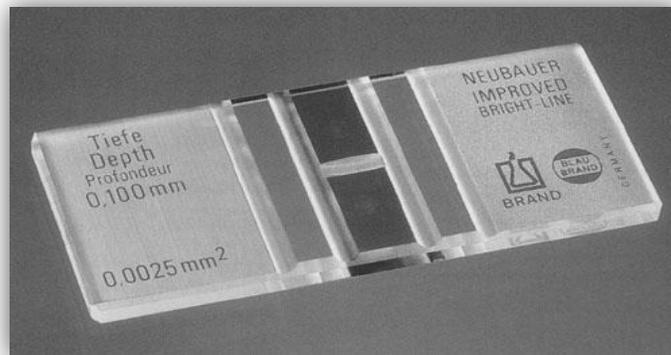
Esta cámara de recuento está adaptada al microscopio de campo claro o al de contraste de fases. Se trata de un portaobjetos que tiene dos zonas ligeramente deprimidas en cuyo fondo se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadrícula de dimensiones conocidas. Se cubre la cámara con un cubreobjetos que se adhiere por simple tensión superficial (en especial una vez que se haya añadido la muestra líquida).

Una vez obtenida la suspensión ya mencionada anteriormente, se llevó a cabo el procedimiento para su posterior conteo el cual consistió en depositar 50  $\mu\text{l}$  con una micro pipeta en la cámara de Neubauer, así mismo se colocó bajo un microscopio para llevar el conteo de esporas la cual se estimó con la fórmula que define a esporas/ml.

Ejemplo: esporas/ml:  $(x) (10^4) (25) (100)$ .

$(13.8) (10^4) (25) (100) = 345,000,000$ .

$3.4 \times 10^8$



**Figura 6.** Cámara de Neubauer.

## 4.4 Evaluación de la efectividad de *Beauveria bassiana* contra ninfas de mosquita blanca en invernadero.

### 4.4.1 Acondicionamiento de área.

En el presente ensayo se utilizaron dos invernaderos uno para la infestación de la colonia de Mosquita blanca; *T. vaporariorum* y el otro para establecer y desarrollar el experimento.

-Invernadero del desarrollo del experimento:

Se realizó una limpieza de malezas para evitar posibles plagas no deseadas con el experimento y así poder evitar algún disturbio.

- Invernadero de infestación de la colonia de *T. vaporariorum*:

Consistió en la infestación de la colonia de mosquita blanca en frijol para su ovoposición y presencia de ninfas para las pruebas de efectividad de *B. bassiana* contra mosquita blanca.



**Figura 7.** Invernadero donde se llevó a cabo el experimento

#### 4.4.2 Preparación del suelo.

Una vez preparado el invernadero, se realizó la preparación de suelo con los siguientes insumos:

1. Peat moss
2. Perlita.
3. Suelo agrícola.

En el cual consistió en mezclar los insumos ya mencionados así mismo agregar suelo agrícola, en una cantidad arbitraria, con relación a la de peat moss y perlita.



a)



b)



c)

**Figura 8.** Preparación del suelo (a) con peat moss (b) y perlita (c).

#### 4.4.3 Establecimiento del cultivo.

Una vez preparado el sustrato se continuó con la perforación y llenado de las macetas con el sustrato ya mencionado, en una cantidad de  $\frac{3}{4}$  por maceta, así mismo se llevó a cabo la siembra por lo cual consistió en cuatro semillas de frijol por maceta, en las cuales posteriormente se hidrataron con agua corriente.



**Figura 9.** Siembra de frijol.

#### 4.4.4 Infestación de la colonia de *Trialeurodes vaporariorum*.

Ya desarrolladas las plantas de fríjol, con un periodo de 15 días desde su siembra, y ya presenciadas las hojas verdaderas, de la planta de frijol, se trasladaron a un invernadero y se colocaron al lado de malezas infestadas con una alta densidad de mosquita blanca, para su previa infestación de las plantas de frijol en donde permanecieron un periodo de 48 horas para su ovoposición de huevecillos.



**Figura 10.** Infestación de la colonia de *Trialeurodes vaporariorum*.

#### 4.4.5 Establecimiento del cultivo infestado en el invernadero.

Al tercer día de haber sido infestadas las plantas de fríjol con mosquita blanca se retiraron del invernadero para ser trasladadas a otro invernadero en el cual fue seleccionado especialmente para el desarrollo del ensayo para las pruebas de efectividad con las distintas concentraciones de *B. bassiana*.



**Figura 11.** Establecimiento del cultivo infestado.

#### 4.4.6 Obtención de las tres concentraciones de esporas de *Beauveria bassiana*.

El medio nutritivo utilizado para el desarrollo de *B. bassiana* fue SDY por lo cual fueron extraídas las esporas, por el método de barrido, llevando el conteo en cámaras de Neubauer ya mencionada, para las diferentes concentraciones, por lo cual se prepararon 3 suspensiones de esporas para su posterior aplicación.

Obtención de las tres diferentes concentraciones: (1x10<sup>8</sup>), 2. (1x10<sup>7</sup>), 3. (1x10<sup>6</sup>).

Las concentraciones se ajustaron con la siguiente formula de volumen:  $V1 = ((C2 \cdot V2) \div C1)$  la cual se realizó sobre 40 ml de agua destilada por cada concentración para posteriormente llevar a cabo la aplicación.

$$V1 = ((C2 \cdot V2) \div C1)$$

1.  $V1 = 1 \times 10^6 \times 40 \text{ ml} / 3.4 \times 10^8 \text{ ml} = 0.117 \text{ ml de esporas}$

39.88 ml de agua.

2.  $V1 = 1 \times 10^7 \times 40 \text{ ml} / 3.4 \times 10^8 \text{ ml} = 1.17 \text{ ml de esporas.}$

38.83 ml de agua.

3.  $V1 = 1 \times 10^8 \times 40 \text{ ml} / 3.4 \times 10^8 \text{ ml} = 11.7 \text{ ml de esporas.}$

28.3 ml de agua



**Figura 12.** Concentraciones de esporas de *Beauveria bassiana*.

#### 4.5 Diseño del experimento.

Los tratamientos evaluados fueron cuatro:  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ , más el Testigo, cada uno con 5 repeticiones en cual se empleó un diseño distribuidos completamente al azar factorial. Con un total de 20 unidades por ensayo, tomando un foliolo por unidad para el conteo.

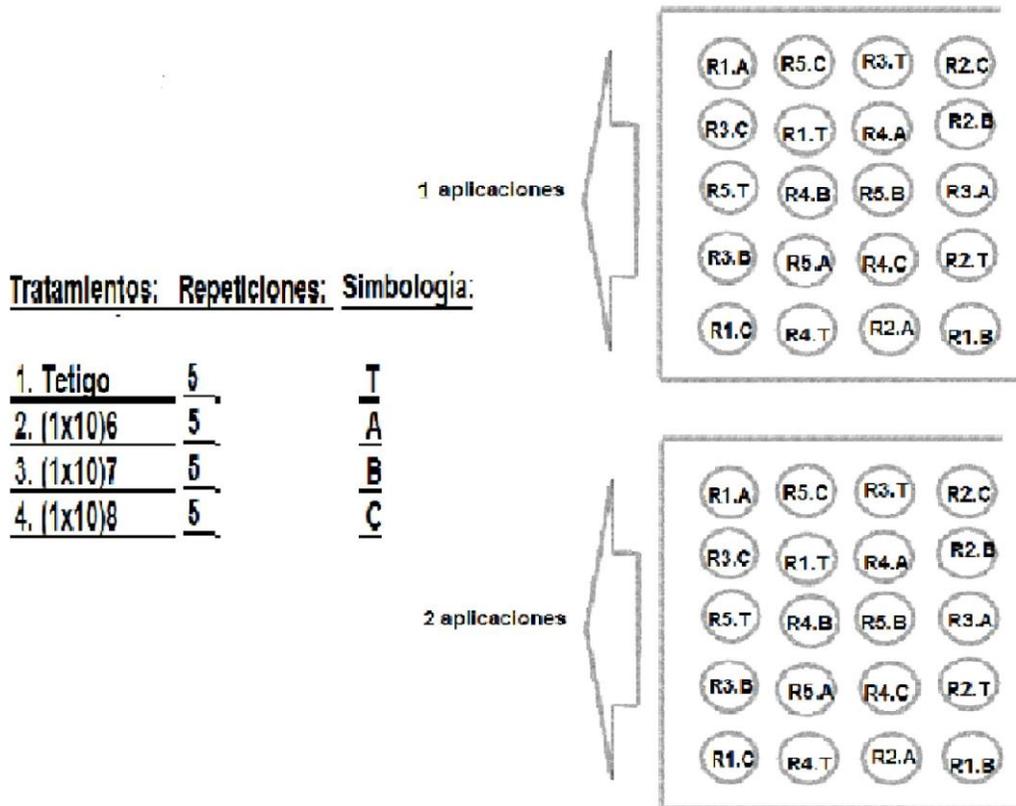
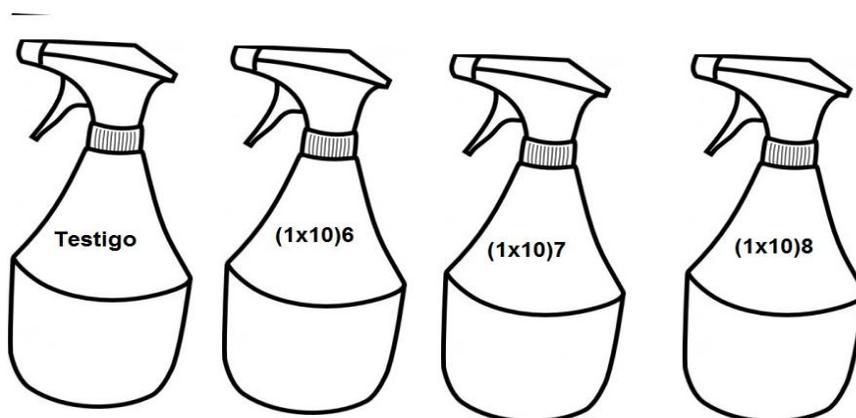


Figura 13. Distribución de los tratamientos.

#### 4.6 Preparación del material para la previa aplicación.

La aplicación de los tratamientos se realizó de la siguiente manera: Se etiquetaron cada una de las plantas ocupadas representada en la figura 16 y de la misma manera se seleccionaron y se marcaron los folíolos con la mayor cantidad de ninfas con un perímetro de 1 cm por cada unidad experimental como se muestra en la figura 17.

Cada tratamiento fue retirado del grupo de plantas para hacer la aplicación, en forma dirigida y así poder evitar la contaminación con los demás tratamientos. Con ayuda de cuatro atomizadores manuales de 1 L capacidad, con un contenido de solución de 40 ml de hongo por cada tratamiento. De tal manera que cada tratamiento contenía coadyuvante dispersante (Bionex) con el objetivo de obtener una mejor aplicación más eficiente, el cual se agregó la dosis correspondiente de acuerdo a las indicaciones del folleto técnico.



**Figura 14.** Material de aplicación y depósito de *Beauveria bassiana*.

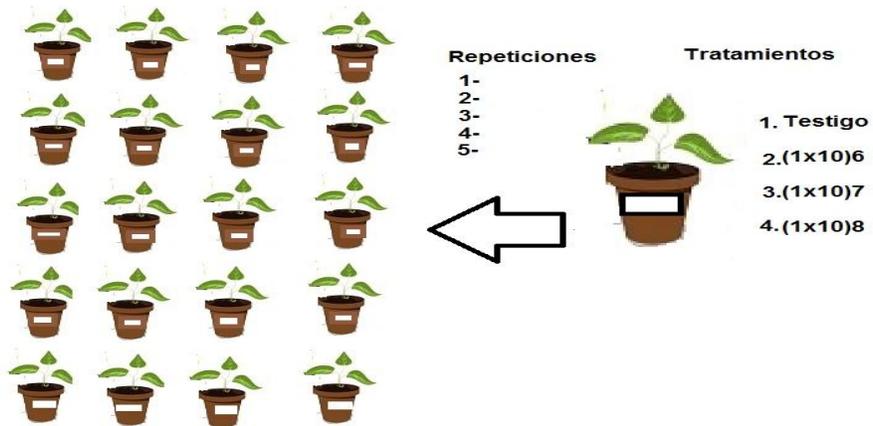
#### **4.6.1 Parámetros de medición.**

El parámetro fue el porcentaje de control de la plaga con respecto a la comparación de los tratamientos con los testigos, con base en conteo de **inmaduros vivos e inmaduros muertos.**



**Figura 15.** Área marcada con población de ninfas de *T. vaporariorum*.

-Macetas etiquetadas con su tratamiento y sus cinco repeticiones



**Figura 16.** Etiquetado de las plantas de frijol.

## 4.7 Aplicación de los tratamientos *Beauveria bassiana*.

Las aplicaciones se efectuaron cuando los inmaduros de mosquita blanca alcanzaron el primer estadio (ninfas). De tal manera que los tratamientos se aplicaron por aspersión con un atomizador manual como ya se había mencionado. Se realizaron 2 ensayos: Un ensayo con 1 aplicación y Un segundo con 2 aplicaciones foliares, con muestreos a los 6 y 8 días, a partir del momento en que se aplicó hasta el día del conteo.

### 4.7.1 Experimento con una aplicación.

-Experimento que consistió en una sola aplicación en un grupo de 20 plantas por lo cual tuvo un trascurso de 6 días desde su aplicación a su conteo.



**Figura 17.** Experimento tratado con una aplicación.

### 4.7.2 Experimento con dos aplicaciones.

-Experimento que consistió en 2 aplicaciones (separadas por tres días) con un grupo de plantas con sus tratamientos y repeticiones por la cual desde la aplicación hasta el conteo tienen 8 días.



**Figura 18.** Experimento tratado con dos aplicaciones.

#### **4.8 Observación y toma de datos.**

La observación de los tratamientos se realizó en un estereoscopio de tal manera que sola se contó la superficie marcada, utilizando y registrando dos parámetros ya mencionados, **ninfas vivas** y **ninfas muertas**.



**Figura 19.** Observación visual al estereoscopio.

#### **4.9 Análisis Estadístico.**

La información de la población de la plaga de las evaluaciones de inmaduros de mosquita blanca *T. vaporariorum*, se analizó con los datos de porcentaje de mortalidad de ninfas de mosca blanca de los productos evaluados en los estudios de invernadero, se realizó por medio de diseños completamente al azar incluyendo 5 repeticiones, por tratamiento. La comparación de una aplicación y la de dos aplicaciones. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa SAS (Statistical Analysis System).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en esta investigación, sobre *B. bassiana* contra *T. vaporariorum* son presentados a continuación.

### 5.1 Medio nutritivo utilizado.

Se decidió por optar por el medio nutritivo SDY perteneciente a la fermentación sólida ya que se encontró una fácil manipulación y rápida esporulación del hongo *B. bassiana* y un contenido de esporas suficientes para las diferentes concentraciones para la aplicación.



Figura 21. *Beauveria bassiana* en medio de cultivo SDY

### 5.2 Signos y síntomas de infección causados en *Trialeurodes vaporariorum* por *Beauveria bassiana*.

Las ninfas con signos de infección se diferenciaban de las ninfas sanas por la pérdida de la turgencia, tonalidad amarillenta a oscura con los bordes del cuerpo levantado de color blanquecino en donde en las orillas del cuerpo de la ninfa comenzaba a emerger el micelio.

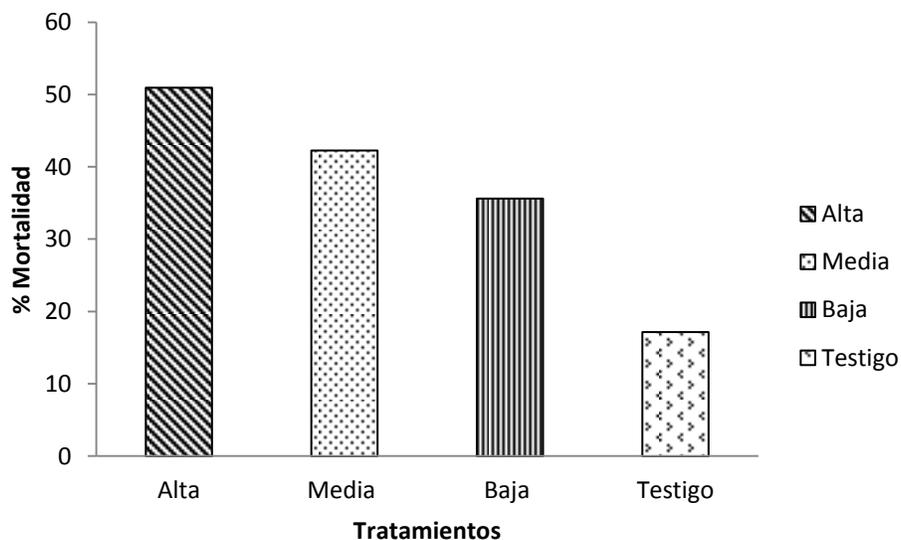


**Figura 22.** Ninfas infectadas por *Beauveria bassiana*.

### **5.3 Comparación de los diferentes tratamientos (concentraciones de esporas).**

La cepa de *B. bassiana* fue infectiva bajo condiciones de invernadero en ninfas de *T. vaporariorum*. Se comprobó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^6$ ), ( $P > 0.0025$ ,  $F = 4.11$ ), de acuerdo a Tukey cuadro 1. Las pruebas de homogeneidad indican que las varianzas son iguales (Barlett  $P = 0.0001$  y Brown & Forsythe 0.0235).

En la figura 22, se observa que de acuerdo a Tukey no existe una diferencia significativa en los diferentes tratamientos evaluados (Alta  $1 \times 10^8$ , Media  $1 \times 10^7$ , Baja  $1 \times 10^6$ ), Con un promedio de Alta 50.957 %, Media 42.273 %, Baja 35.625 %, más Testigo 17.171 %.



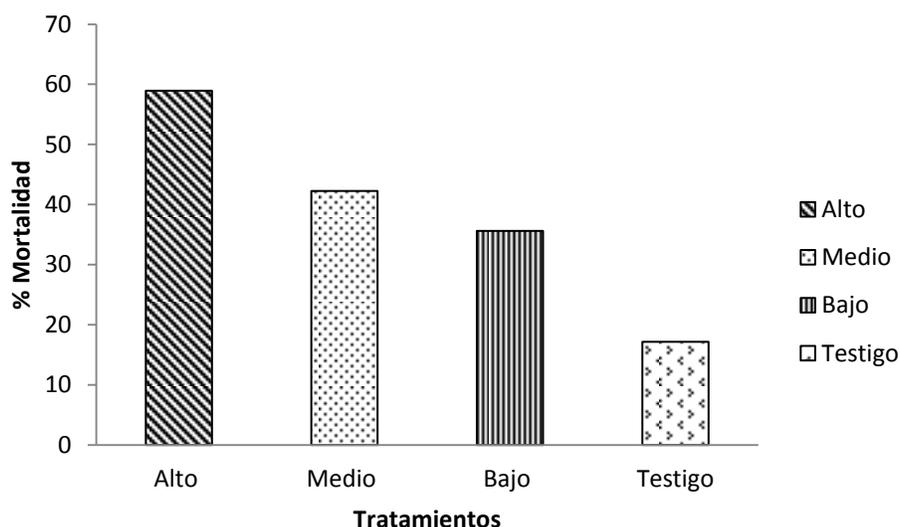
**Figura 23.** Porcentaje de control de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*. Con los diferentes tratamientos Tukey.

**Cuadro 1.** Porcentaje de mortalidad de *Trialeurodes vaporariorum*, con efecto de *Beauveria bassiana*, con diferentes concentraciones bajo condiciones de invernadero.

Tratamiento	Promedio	
Alta $1 \times 10^8$	50.957	A
Media $1 \times 10^7$	42.273	A
Baja $1 \times 10^6$	35.625	A
Testigo	17.171	B

Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales al 5 % de nivel de significancia, por medio del modelo Tukey.

La evaluación de los diferentes tratamientos (Alta  $1 \times 10^8$ , Media  $1 \times 10^7$ , Baja  $1 \times 10^6$ ), nos determina un promedio de Alta 50.957 %, Media 42.273 %, Baja 35.625 %, mas Testigo 17.171 %. De acuerdo los modelos estadísticos Duncan y LSD, indican que los tres tratamientos (Alto, Medio y Bajo) son diferentes entre sí, y diferentes del testigo. Podemos observar que es el tratamiento Alto es el más agresivo y existe una diferencia significativa con los otros dos, así mismo el testigo comparado con los tres tratamientos ya mencionados de acuerdo a la figura 24.



**Figura 24.** Porcentaje de control de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*.

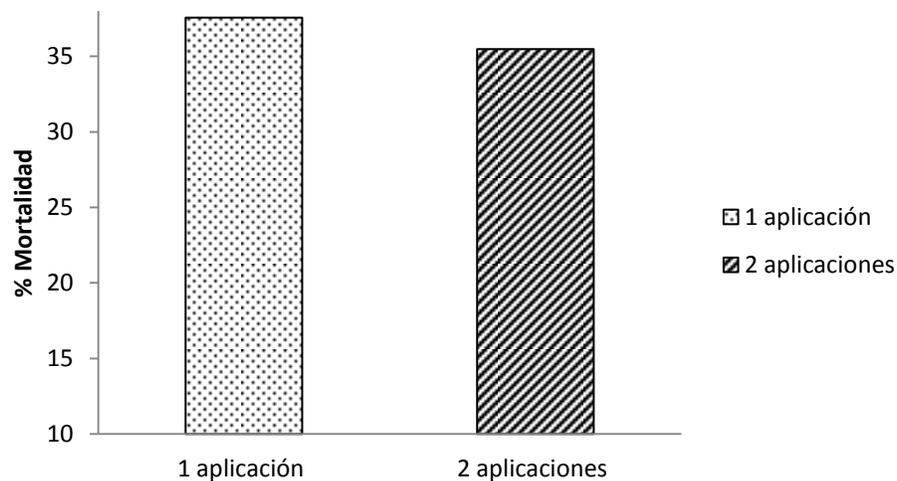
**Cuadro 2.** Porcentaje de mortalidad de *Trialeurodes vaporariorum*, con efecto de *Beuveria bassiana*, con diferentes concentraciones bajo condiciones de invernadero.

Tratamiento	Promedio	
Alta $1 \times 10^8$	50.957	A
Media $1 \times 10^7$	42.273	AB
Baja $1 \times 10^6$	35.625	B
Testigo	17.171	C

Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales al 5 % de nivel de significancia, por medio de los modelos Duncan y LSD.

## 5.4 Comparación de una vs. dos aplicaciones.

Al evaluar una aplicación y dos aplicaciones de *B. bassiana* contra ninfas de *T. vaporariorum* bajo condiciones de invernadero no se encontró diferencia significativa de acuerdo a Tukey, sin embargo, el resultado de las medias en el tratamiento de 2 aplicaciones se consideró mejor, ya que los parámetros eran ninfas vivas y ninfas muertas y muchos de los cadáveres de las ninfas ya no se encontraban en el área pero existía el daño en la superficie marcada, como se muestra en la figura 25.



**Figura 25.** Comparación de los ensayos: A una aplicación y dos aplicaciones sobre el efecto de *Beauveria bassiana* sobre Mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum*, bajo condiciones de invernadero.

En el cuadro 3, observamos que entre las dos diferentes aplicaciones, (una aplicación y dos aplicaciones), estadísticamente de acuerdo al modelo de Tukey no existe diferencia significativa ya los datos arrojados nos demuestran una similitud entre ellos.

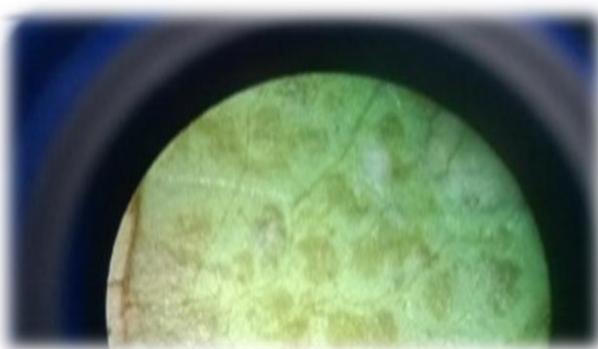
**Cuadro 3.** Comparación de efectividad de una aplicación y dos aplicaciones de *Beauveria bassiana*, sobre *Trialeurodes vaporariorum*, bajo condiciones de invernadero.

Aplicaciones	Unidades	Promedio	
1 aplicación	20	37.547	A
2 aplicaciones	20	35.466	A

Aplicaciones con la misma letra son estadísticamente iguales al 5 % de nivel de significancia, por medio del modelo Tukey.

### 5.5 Observaciones.

En los ensayos realizados en comparación con dos diferentes aplicaciones (una aplicación y dos aplicaciones), se consideró que es mejor la doble aplicación ya que se observó que existía un mayor grado de mortalidad de *T. vaporariorum*. Con efecto de *B. bassiana*, Aunque esto no fue registrado ya que solamente se tomó el parámetro de ninfas vivas y ninfas muertas, y en este caso de la doble aplicación ya no existía el cadáver de la ninfa de mosquita blanca, solo existía el daño en el foliolo de hoja de frijol como se muestra a continuación. En resumen, el porcentaje de mortalidad fue similar, pero el número de ninfas era menor, en dos aplicaciones.



**Figura 25.** Daño de las ninfas en foliolo de frijol sin cadáver de *Beauveria bassiana*.

## 6. CONCLUSIÓN

Las conclusiones que se obtuvieron después de realizar los análisis correspondientes son los siguientes.

### **La evaluación de los tratamientos.**

Conforme a la evaluación de los diferentes tratamientos ( $1 \times 10^6$ ), ( $1 \times 10^7$ ), ( $1 \times 10^8$ ) con respecto a la efectividad del hongo *B. bassiana* con el efecto de mortalidad sobre *T. vaporariorum* nos demuestra que no hay diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo al modelo estadístico Tukey, sin embargo de acuerdo a las pruebas de Duncan y LSD si existen diferencias significativas entre los tratamientos. Esto es factible por las diferencias notables entre los mismos (mortalidad de 51 vs. 36% entre tratamientos).

### **Evaluación de las aplicaciones.**

La evaluación de las dos diferentes aplicaciones (una aplicación y dos aplicaciones), nos demuestra un resultado en el cual no existe diferencia significativa de acuerdo a Tukey. Sin embargo aparentemente si hubo diferencia en números totales de ninfas: en dos aplicaciones había al parecer menos ninfas.

Estos resultados indican que el hongo *Beauveria bassiana* puede ser un agente efectivo de control biológico de mosquita blanca, en invernadero y posiblemente en campo.

## 7. LITERATURA REVISADA

Byrne M, Shavelson RJ, Muthen B. 1989. Testing for the equivalence of factor covariance and mean structures: The issue of partial measurement invariance. *Psychol Bull.*

Cardona, C.; V. Rodríguez. I. Bueno, J. 2005. Biología y Manejo de la Mosca Blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Habichuela y Fríjol. [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos\\_Ciat/Car%C3%A1tula.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Car%C3%A1tula.pdf). 8 de noviembre Del 2014.

Fransen, J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. In *Whiteflies: their binomics, pest status and management*. D. Gerling, Ed. Great Britain, Intercep. p. 187-209.

Cazorla D y Morales P. 2011. Estudio histopatológico y ultraestructural de la infección de *Beauveria bassiana* (Ascomycota) sobre *Rhodnius prolixus* (Triatominae). <http://www.scielo.org.ve/pdf/bmsa/v51n1/art08.pdf>. 18 de febrero del 2015.

Falconi F, Flores A y Castellanos P. 2010. Letalidad de hongos entomopatogenos sobre *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pirrhocoridae). <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v17n2/pdf/a13v17n2.pdf>. 16 de febrero del 2015.

Gill, 1992; Brown y Guedira, GL, Badaeva, ED, BS y Cox, TS 1996. Sustituciones de cromosomas de *Triticum timopheevii* en el trigo común y algunas observaciones sobre la evolución de las especies de trigo poliploides. *Theor Appl. Genet.* , 93: 1291-1298.

González, S. M. y Salazar, T. j. 2010. Eficacia de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin en el control de *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) en fresa Rev. Chapingo Ser.Hortic vol.16 no.3 Chapingo sep. /dic.

Guerrero, P. 2004. Evaluación y estudio del efecto residual de la aplicación de plaguicidas en productos de cosecha. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. PAG 2. <http://www.g77.org/pgtf/finalrpt/INT-00-K09-FinalReport.pdf>.

Gómez L. 2008. Hongos entomopatógenos. El agrónomo. 05 de marzo del 2015. <http://agronomord.blogspot.mx/2008/07/hongos-entomopatgenos.html>

Lacey, LA; Fransen, JJ; Carruthers, R. 1995. Global distribution of naturally occurring fungi of Bemisia, their biologies and use as biological control agents. In Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage Control and Management. Intercept. Hants, UK.

M. Orozco, J. Farias. 2000. Uso de *Beauveria bassiana* para el control de *Bemisia argentifolii*. Campo Experimental Tecomán Colima.

<http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rmip56/art5-a.htm>

M. Barreiro.1995. SAGARPA. 14 de diciembre del 2014.<http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/044/ca044.pdf>.

Mena, C. J. y R. V. Valle. 2010. Manejo integrado de plagas y enfermedades de frijol en Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, (INIFAP).

<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/PlagasFrijol.pdf> . 16 de febrero del 2015.

Mena J y Velásquez R. 2010. Manejo integrado de plagas y enfermedades de frijol en Zacatecas. Inifap.

<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/PlagasFrijol.pdf>. 08 de febrero del 2015.

Torres, D. y Capote, T. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. Ecosistemas. Vol., 13. Pág., 2-6. <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=50>.

Ulloa y Ramírez, 2007; citados por, Gálvez y Salinas. 2015. Cultura, patrimonio y futuro del frijol en México. Revista UNAM. <http://www.revista.unam.mx>. 03 de noviembre del 2014.

Sanidad Vegetal de la Consejería de Agricultura de la Junta de Andalucía en Almería y del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2011. Mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*). Diario Digital de Actualidad Hortofrutícola. <http://www.hortoinfo.es/index.php/plagas/2222-mosca-blanca-02-11>

W. De La Rosa , R. Alatorre , J. F. Barrera , C. Toriello. 2000. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae).

<http://jee.oxfordjournals.org/content/93/5/1409.abstract>. 05 de febrero del 2015.

## 8. APÉNDICE

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 18

Obs	Fecha	Tra	Rep	DP
1	1D	TESTIGO	REP1	20.1007
2	1D	TESTIGO	REP2	20.9068
3	1D	TESTIGO	REP3	0.0000
4	1D	TESTIGO	REP4	26.6680
5	1D	TESTIGO	REP5	22.7865
6	1D	CBAJA	REP1	35.2644
7	1D	CBAJA	REP2	32.3115
8	1D	CBAJA	REP3	43.8351
9	1D	CBAJA	REP4	39.2315
10	1D	CBAJA	REP5	37.7612
11	1D	CMEDIANA	REP1	39.5473
12	1D	CMEDIANA	REP2	34.1909
13	1D	CMEDIANA	REP3	44.1317
14	1D	CMEDIANA	REP4	49.1066
15	1D	CMEDIANA	REP5	34.7150
16	1D	CALTA	REP1	0.0000
17	1D	CALTA	REP2	52.6288
18	1D	CALTA	REP3	90.0000
19	1D	CALTA	REP4	90.0000
20	1D	CALTA	REP5	37.7612
21	2D	TESTIGO	REP1	21.3340
22	2D	TESTIGO	REP2	14.9632
23	2D	TESTIGO	REP3	16.2964
24	2D	TESTIGO	REP4	14.4011
25	2D	TESTIGO	REP5	14.2518
26	2D	CBAJA	REP1	25.4466
27	2D	CBAJA	REP2	40.2910
28	2D	CBAJA	REP3	28.7105
29	2D	CBAJA	REP4	33.8037
30	2D	CBAJA	REP5	39.5965
31	2D	CMEDIANA	REP1	37.8168
32	2D	CMEDIANA	REP2	42.7941
33	2D	CMEDIANA	REP3	38.4317
34	2D	CMEDIANA	REP4	57.5351
35	2D	CMEDIANA	REP5	44.4594
36	2D	CALTA	REP1	43.6353
37	2D	CALTA	REP2	48.6319
38	2D	CALTA	REP3	39.7622
39	2D	CALTA	REP4	55.7301
40	2D	CALTA	REP5	51.4198

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 19

Procedimiento ANOVA

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Tra	4	CALTA CBAJA CMEDIANA TESTIGO
Rep	5	REP1 REP2 REP3 REP4 REP5
Fecha	2	1D 2D

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 20  
 Número de observaciones 40

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: DP

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	7	6352.68442	907.52635	4.11	0.0025
Error	32	7063.25669	220.72677		
Total correcto	39	13415.94111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DP Media
0.473518	40.69657	14.85688	36.50646

Fuente	DF	Cuadrado de Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tra	3	6167.101227	2055.700409	9.31	0.0001
Fecha	1	43.339247	43.339247	0.20	0.6607
Tra*Fecha	3	142.243947	47.414649	0.21	0.8854

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DP

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

-	Alfa	0.05
	Error de grados de libertad	32
	Error de cuadrado medio	220.7268
	Valor crítico del rango estudentizado	3.83162
	Diferencia significativa mínima	18.002

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tra
A	50.957	10	CALTA
A			
A	42.273	10	CMEDIANA
A			
A	35.625	10	CBAJA
B	17.171	10	TESTIGO

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango múltiple de Duncan para DP

NOTA: Este test controla el índice error comparisonwise de tipo I, no el índice de error experimentwise.

Alfa 0.05  
Error de grados de libertad 32  
Error de cuadrado medio 220.7268

Número de medias	2	3	4
Rango crítico	13.53	14.22	14.67

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	Tra
A	50.957	10	CALTA
A			
B A	42.273	10	CMEDIANA
B			
B	35.625	10	CBAJA
C	17.171	10	TESTIGO

Procedimiento ANOVA

Tests t de Dunnett para DP

NOTA: Este test controla el error experimentwise de tipo I para las comparaciones de tratamientos con un control.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	32
Error de cuadrado medio	220.7268
Valor crítico de t de Dunnett	2.46561
Diferencia significativa mínima	16.382

Las comparaciones importantes del nivel 0.05 están indicadas por \*\*\*.

Tra Comparación	Diferencia entre medias	Simultáneo 95% Límites de confianza	
CMEDIANA - CALTA	-8.684	-25.066	7.698
CBAJA - CALTA	-15.332	-31.714	1.050
TESTIGO - CALTA	-33.786	-50.168	-17.404 ***

Procedimiento ANOVA

t Tests (LSD) para DP

NOTA: Este test controla el índice de error comparisonwise de tipo I, no el índice de error experimentwise.

Alfa 0.05  
Error de grados de libertad 32  
Error de cuadrado medio 220.7268  
Valor crítico de t 2.03693  
Diferencia menos significativa 13.534

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

t Agrupamiento	Media	N	Tra
A	50.957	10	CALTA
A			
B A	42.273	10	CMEDIANA
B			
B	35.625	10	CBAJA
C	17.171	10	TESTIGO

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 25

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DP

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	32
Error de cuadrado medio	220.7268
Valor crítico del rango estudentizado	2.88068
Diferencia significativa mínima	9.5699

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Fecha
A	37.547	20	1D
A			
A	35.466	20	2D

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 26

Procedimiento ANOVA

Nivel de Tra	Nivel de Fecha	N	-----DP----- Media	Dev std
CALTA	1D	5	54.0780011	37.9919303
CALTA	2D	5	47.8358367	6.2973413
CBAJA	1D	5	37.6807636	4.3288294
CBAJA	2D	5	33.5696494	6.5412239
CMEDIANA	1D	5	40.3382975	6.3504252
CMEDIANA	2D	5	44.2074518	7.9669074
TESTIGO	1D	5	18.0923936	10.4266950
TESTIGO	2D	5	16.2492857	2.9544948

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 27

Procedimiento ANOVA

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Tra	4	CALTA CBAJA CMEDIANA TESTIGO
Rep	5	REP1 REP2 REP3 REP4 REP5
Fecha	2	1D 2D

Número de observaciones 40

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 28

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: DP

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	6167.10123	2055.70041	10.21	<.0001
Error	36	7248.83988	201.35666		
Total correcto	39	13415.94111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DP Media
0.459685	38.86989	14.19002	36.50646

Fuente	DF	Cuadrado de Anova SS	la media	F-Valor	Pr > F
Tra	3	6167.101227	2055.700409	10.21	<.0001

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 29

Procedimiento ANOVA

Test de Bartlett para la homogeneidad de la varianza DP

Fuente	DF	Chi-cuadrado	Pr > ChiSq
Tra	3	28.8618	<.0001

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 30

Procedimiento ANOVA

Nivel de Tra	N	Media	Dev std
CALTA	10	50.9569189	25.8834667
CBAJA	10	35.6252065	5.6603754
CMEDIANA	10	42.2728746	7.0916535
TESTIGO	10	17.1708397	7.2898152

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 31

Procedimiento ANOVA

Test Brown y Forsythe para la homogeneidad de la varianza DP  
ANOVA de desviaciones absolutas de las medianas de grupo

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tra	3	1081.2	360.4	3.56	0.0235
Error	36	3640.8	101.1		

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 32

Procedimiento ANOVA

Nivel de		-----DP-----	
Tra	N	Media	Dev std
CALTA	10	50.9569189	25.8834667
CBAJA	10	35.6252065	5.6603754
CMEDIANA	10	42.2728746	7.0916535
TESTIGO	10	17.1708397	7.2898152

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 33

Procedimiento ANOVA

Test de Levene para homogeneidad de la varianza DP  
ANOVA de desviaciones absolutas de las medias de grupo

Fuente	DF	Suma de	Cuadrado	de la	F-Valor	Pr > F
		cuadrados	media			
Tra	3	1081.2	360.4		3.60	0.0225
Error	36	3601.6	100.0			

Sistema SAS 15:29 Wednesday, February 3, 2015 34

Procedimiento ANOVA

Nivel de		-----DP-----	
Tra	N	Media	Dev std
CALTA	10	50.9569189	25.8834667
CBAJA	10	35.6252065	5.6603754
CMEDIANA	10	42.2728746	7.0916535
TESTIGO	10	17.1708397	7.2898152