

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Efectividad de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorok sobre *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en *Phaseolus vulgaris* L.
Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

DULCE ROSARIO LARA VILLANUEVA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2015.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efectividad de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorok sobre *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en *Phaseolus vulgaris* L.

Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

DULCE ROSARIO LARA VILLANUEVA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

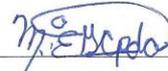
Aprobada por el Comité de Asesoría



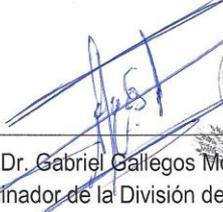
Dr. Sergio René Sánchez Peña
Asesor Principal



M.C. Erika Lizzeth Ramos Salas
Coasesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2015.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme llegar a este punto de mi vida; por estar conmigo desde siempre protegiéndome; por ayudarme con mis retos del día a día, y por ser mi fuente inagotable de amor y fuerza.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por brindarme la oportunidad de forjarme un futuro mejor, gracias a la adquisición de conocimientos que en ella obtuve.

A Dr. Sergio R. Sánchez Peña, por la oportunidad para realizar esta tesis siendo mi asesor; por su apoyo, confianza, y por compartir sus conocimientos que han sido un aporte invaluable.

A M. C. Erika L. Ramos Salas por su importante participación en el desarrollo de esta tesis como coasesor. Por su disponibilidad, paciencia y amabilidad.

A Dr. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda por su disposición y contribución en la revisión de esta tesis, además de ser partícipe de mi formación profesional.

A M.C. R. Ivonne Torrez Acosta por su colaboración en este proyecto; por compartir sus conocimientos, y sobre todo por su amistad incondicional.

Al Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) por darme la oportunidad de realizara parte de mi investigación dentro de sus instalaciones y por apoyarme con recursos para la realización de la misma.

A mis amigos y compañeros de grupo, agradeciendo por aquellos momentos vividos en los que su compañía, apoyo y candidez humana se hicieron presentes (Jorge Luis Martínez C., J. Adrián Bustos T. Jehieli Leana S.; Guadalupe López T., Daniela Jiménez L.; Andrea Romero A., Fernanda Cesatti I.)

A mis amigas María Elena Paredes y O. Margarita Sánchez por su apoyo y amistad brindada en esta etapa de mi vida.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Jacinto Lara Michaca y Cecilia Villanueva Vara

A quienes doy mi mayor agradecimiento, por ser la fuente de mi vida, origen de mi inspiración y causantes de muchos éxitos en mi vida. Por brindarme su fuerza, valentía, amor, comprensión y confianza. Sin su apoyo incondicional, no habría logrado la meta propuesta. Se que sus sacrificios habrán valido la pena. ¡Gracias por darme todo sin esperar nada a cambio!.

A mi hermana:

Ángela

A quien agradezco desde lo más profundo de mi corazón. Por ser ejemplo de lucha, valentía y tenacidad; por enseñarme a creer y mirar en mí cualidades que no conocía. Gracias por tu gran amor de hermana, pues sin ti no sería lo que soy no estaría donde estoy.

A mis hermanos:

Jaci, Herme y Arte.

Quienes me han brindado su apoyo de muchas maneras; por las tristezas y alegrías vividas en familia. Y por sus manifestaciones de amor, respeto y admiración infinitas.

A mis sobrinos:

Vanessa, Lisandro, Gael e Ivon

Por ser pequeña fuente de inmensa alegría para toda la familia. Gracias por su apoyo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
Justificación	2
Objetivo.....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Antecedentes.....	4
Frijol.....	5
Producción mundial	5
Importancia en México.....	6
Producción nacional	6
Descripción botánica	7
Mosquita Blanca	8
Taxonomía.....	9
Ciclo de vida.....	9
Biología y hábitos	10
Distribución.....	11
Hospederos	12
Importancia.....	13
Daños	15
Control	15
Control legal	15
Control cultural	16
Control químico	16
Control biológico.....	17
Hongos entomopatógenos.....	17
<i>Metarhizium</i> spp.....	18

<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin.....	19
Taxonomía.....	21
Modo de acción	21
Potencial epizoótico.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Trabajo en Laboratorio.....	24
Cepa de <i>Metarhizium anisopliae</i>	24
Reactivación de <i>M. anisopliae</i> por infección de larvas	24
Reactivación y propagación de la cepa en Medio Papa dextrosa agar (PDA).....	25
Reactivación de la cepa Medio tenebrio	25
Propagación masiva de la cepa en Medio SDY.....	26
Identificación de <i>Metarhizium anisopliae</i>	27
Trabajo en Invernadero.....	27
Establecimiento de plantas de frijol	28
Obtención de colonia de mosquita blanca	28
Preparación de los tratamientos	29
Procedimiento para la evaluación de las aplicaciones	31
Criterio de evaluación para la mortalidad de ninfas.....	31
Diseño experimental y análisis estadístico	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
Análisis de mortalidad con 1 Aplicación de <i>M. anisopliae</i>	33
Análisis de mortalidad con 2 Aplicaciones de <i>M. anisopliae</i>	34
Análisis de mortalidad con 3 Aplicaciones de <i>M. anisopliae</i>	36
Análisis con Arreglo Factorial.	37
Análisis por concentración.....	37
Análisis por aplicación	38
CONCLUSIONES	41
LITERATURA CITADA.....	42
APÉNDICE.....	49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales familias vegetales hospederas del complejo mosca blanca en el mundo.	12
Cuadro 2. Importancia económica de moscas blancas de Centroamérica.	14
Cuadro 3. Bases para la clasificación de la importancia económica de las moscas blancas de Centroamérica..	14
Cuadro 4. Microorganismos bioinsecticidas utilizados contra insectos plaga de los cultivos.	17
Cuadro 5. Identificación de especies de <i>M. anisopliae</i>	19
Cuadro 6. Comparación de medias de variable mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> 72 hr después de una aplicación de <i>M. anisopliae</i>	34
Cuadro 7. Comparación de medias de variable mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> después de dos aplicaciones de <i>M. anisopliae</i> a intervalo de 72 horas.....	35
Cuadro 8. Comparación de medias de variable mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> después de tres aplicaciones de <i>M. anisopliae</i> con intervalo de 72 horas.....	37
Cuadro 9. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> . ..	37
Cuadro 10. Comparación de medias de la variable de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> por concentración (prueba Tukey).	38
Cuadro 11. Análisis de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> por aplicaciones (prueba de Tukey).	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frijol.	5
Figura 2. Países Exportadores de Frijol 2008 (miles de toneladas y % del total)....	6
Figura 3. Participación Estatal en la Producción Nacional de Frijol en 2009..	7
Figura 4. <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	8
Figura 5. Adultos de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood)	8
Figura 6. Ciclo de vida de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood).....	9
Figura 7. Distribución de mosquita blanca.	11
Figura 8. 1. <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin: a) conidióforos b) Conidias.....	20
Figura 9. <i>Metarhizium anisopliae</i> Sorokin.	20
Figura 10. Modo de acción de hongos entomopatógenos	23
Figura 11. Preparación de cámaras húmedas para reactivación del hongo entomopatógeno.	24
Figura 12. <i>Metarhizium anisopliae</i> en medio PDA.	25
Figura 13. Preparación del Medio de Cultivo Tenebrio. A) Inoculación del medio líquido con <i>M. anisopliae</i> en PDA. B) Incubación del hongo. C) Medio de cultivo Tenebrio con <i>M. anisopliae</i>	26

Figura 14. Larva colonizada por <i>Metarhizium anisopliae</i>	26
Figura 15. Invernadero UAAAN.....	28
Figura 16. Material utilizado para establecimiento de plantas de frijol.	28
Figura 17. Siembra de frijol.	28
Figura 18. Infestación de plantas de frijol con mosquita blanca.....	29
Figura 19. Plantas de frijol infestadas con mosquita blanca.	29
Figura 20. Conteo de esporas.....	30
Figura 21. Concentraciones <i>M. anisopliae</i>	30
Figura 22. Mortalidad de ninfas de <i>T. vaporariorum</i> comparando resultados entre tratamientos después de una aplicación de <i>M. anisopliae</i>	33
Figura 23. Mortalidad de ninfas de mosquita blanca, comparando resultados entre tratamientos después de dos aplicaciones de <i>M. anisopliae</i>	35
Figura 24. Mortalidad de ninfas de mosquita blanca comparando resultados después de tres aplicaciones de <i>M. anisopliae</i>	36
Figura 25. Mortalidad de mosquita blanca causada por <i>Metarhizium anisopliae</i> en diferentes concentraciones mediante tres aplicaciones.	39
Figura 26. Mortalidad de mosquita blanca causada por <i>Metarhizium anisopliae</i> por efecto acumulado de tres aplicaciones.	40

RESUMEN

En las últimas décadas el control biológico, en el cual se encuentra el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, ha adquirido mayor relevancia a nivel mundial dentro de un contexto de Manejo Integrado de Plagas, como una opción de agente microbiológico para el control de las mismas. Por lo que surgió el interés de utilizarlo en el control de mosquita blanca que es un tipo de plaga de complicado control, debido a su rápida capacidad de proliferación en los cultivos de interés y por tener amplio rango de hospederos, además de adquirir resistencia a insecticidas químicos.

En este trabajo se evaluó la efectividad de *M. anisopliae* para controlar mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* en plantas de frijol bajo condiciones de invernadero. Se realizó el bioensayo preparando tres concentraciones 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 esporas/ml y un testigo agua. En el cual se realizaron tres aplicaciones, evaluando el porcentaje de mortalidad de ninfas.

Por lo que se demostró que las ninfas de *T. vaporariorum* son susceptibles a la patogenicidad de *M. anisopliae*. En la aplicación uno, se alcanzó un porcentaje de mortalidad de hasta 39.10%; en la segunda aplicación se obtuvo una mortalidad de 50.29%; y para la tercera aplicación se logró el 69.24% de mortalidad, por lo tanto conforme aumenta la concentración de esporas de *M. anisopliae* y el número de aplicaciones la efectividad sobre las ninfas se ve incrementada. Cuyos resultados revelan al uso de *M. anisopliae* como una alternativa para el control de la mosquita blanca.

PALABRAS CLAVE: Control biológico, hongos entomopatógenos, mosquita blanca, *Trialeurodes vaporariorum*, *Metarhizium anisopliae*.

Correo electrónico; Dulce Rosario Lara Villanueva, dulces@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. perteneciente a la familia de las fabáceas; es originario del continente Americano, a partir de donde los colonizadores lo llevaron a Europa y de ahí fue esparcido por el mundo.

Es una fuente nutricional, principalmente en regiones de bajos recursos donde se considera uno de los alimentos básicos; también es utilizado como abonos orgánicos y como forraje para ganado.

Para México en casi todas sus regiones el cultivo se encuentra presente ocupando el segundo lugar en superficie total sembrada.

El frijol es un cultivo muy vulnerable al ataque de varios insectos, tal es el caso de la mosquita blanca, que ha cobrado gran importancia a nivel mundial en las últimas décadas al convertirse en una plaga primaria; la cuál le causa grandes estragos al productor en sus cultivos.

La mosca blanca Hemiptera: Aleyrodidae es una plaga de importancia económica ya que afecta muchos cultivos como tomate, pimiento, papa y frijol entre otros, debido a su amplia distribución geográfica.

En América Latina, la mosca blanca comenzó a ser un problema al introducirse los insecticidas químicos para control de otras plagas en los cultivos; con el uso indiscriminado de los mismos se generó resistencia y eliminación de enemigos naturales.

En México las pérdidas causadas por la mosquita blanca son numerosas pues los brotes de esta plaga en algunas zonas han creado verdadera emergencia en algunos estados causando una devastación en cultivos de verano.

Los adultos de la mosquita blanca se reproduce continuamente a lo largo de todo el año; población que al alimentarse se crea una succión masiva de aminoácidos, afectando así los procesos de desarrollo normal de las plantas que hospeda. A su vez, la sustancia azucarada que excreta favorece la formación de fumagina, un complejo de hongos que interfiere con la fotosíntesis de las hojas,

provocando manchados y por lo tanto mala calidad; también es transmisora de virus como es el caso del mosaico dorado del frijol. Si no se controla a tiempo puede provocar baja producción e incluso pérdidas totales de los cultivos.

Para el manejo de la mosquita blanca, el control químico ha sido el método más explotado hasta ahora, por lo que el insecto ha mostrado resistencia a insecticidas tradicionales teniendo que ser reemplazados por otros que pueden ser menos accesibles e incluso más costosos; además generan daños al medio ambiente y son perjudiciales a la salud humana.

Debido a la problemática que presenta el control químico, se han hecho esfuerzos por generar alternativas para el manejo de las especies de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), destacando el control biológico dentro de un Manejo Integrado de Plagas, haciendo uso de enemigos naturales como los hongos entomopatógenos, parasitoides y depredadores.

Justificación

La alternativa que se propone para el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), como parte del Manejo Integrado de Plagas es el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. De acuerdo a la información con que se cuenta puede afectar diferentes estados de desarrollo de su hospedero, tiene cierta residualidad, no afecta al ecosistema ni hay consideraciones de daño para la salud humana, y se puede aplicar con métodos convencionales.

Cabe resaltar que al existir muchas especies de mosca blanca parecidas entre si, como las de gran importancia económica *Bemisia tabaci* y *T. vaporariorum* con otras no tan dañinas, muchos agricultores utilizan químicos contra ellas de igual manera eliminando sus enemigos naturales y volviéndolas resistentes a los insecticidas, por lo que pueden convertirse en plaga primaria.

Objetivo

Evaluar la efectividad de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin sobre mosquita blanca en plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* L. bajo Condiciones de Invernadero.

Objetivos específicos

- Evaluar las concentraciones 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 esporas/ml de *M. anisopliae* en el control de ninfas de mosquita blanca.
- Evaluar la efectividad de *M. anisopliae* con 1, 2 y 3 aplicaciones de las concentraciones 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 esporas/ml en el control de ninfas de mosquita blanca a nivel invernadero.

Hipótesis

- Se espera que el hongo entomopatógeno *M. anisopliae*, presente efectividad biológica de 50% de mortalidad, en el control de mosquita blanca *T. vaporariorum* sobre plantas de frijol *P. vulgaris* L.
- A mayor concentración de esporas de *M. anisopliae* mayor porcentaje de mortalidad se encontrará.
- Al realizar tres aplicaciones con esporas de *M. anisopliae* se incrementará la efectividad.

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

Alves (1986) señaló que las investigaciones y avances de la tecnología han venido buscando formas de controlar a las plagas con organismos vivos, como los agentes microbiales; dentro de estos se destacan los hongos entomopatógenos. Estos atacan diferentes insectos, de los que muchos son plagas en cultivos de importancia alimenticia y económica.

Barrios *et al.* (1997) mencionó que el uso y la producción de hongos entomopatógenos para el control de plagas inicia con la prueba de la contagiosidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) vuil., realizado por Agostino Bassi en 1835.

La idea de usar agentes microbianos para control de insectos surgió en el siglo XVIII. La producción masiva de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorok fue en un insecto para controlar el gorgojo de la remolacha azucarera *Cleonus punctiventus* (Germ.) (Zabaleta, 1994 citado por Gallegos *et al.*, 2004).

Elie Metchnikoff en 1879 empezó a producir artificialmente esporas del hongo *Metarhizium anisopliae* (Mets.) Sorokin y realizó en Rusia los primeros ensayos de campo para su empleo en el control del Escarabeido *Anisoplia austriaca* (Burges, 1981; Tanada y Kaya, 1993; citados por Araujo de Alburquerque *et al.*, 2009).

Los organismos de control biológico, siempre han estado presentes de forma natural en el medio ambiente, pero su población es inferior al de la plaga que ataca, pues son los más afectados por insecticidas. Por lo que en los últimos años, para compensar el desequilibrio se han desarrollado técnicas de producción masiva de insectos y hongos en laboratorio (Sarayasi, 2012).

Para el caso de mosca blanca, Ruiz *et al.* (2010) señalaron que para la especie *Bemisia tabaci*, existen antecedentes limitados de la actividad patogénica de *Metarhizium*, pero que Malsam *et al.* (2002) encontraron que *M. anisopliae* puede causar hasta 50% de mortalidad bajo condiciones de laboratorio, incrementando hasta el 100% si se usa aceite en la formulación de las esporas y aditivos al momento de la aplicación.

Frijol

El frijol es una semilla comestible de la familia de las fabáceas, originaria de América, donde México es considerado uno de los centros de origen de diversos tipos de frijol (Figura1), siendo el principal *Phaseolus vulgaris* L. (Financiera Rural, 2011).



Figura 1. Frijol (Fuente: Biodiversidad Mexicana, S/F).

Producción mundial

En 2008 los principales países productores fueron Brasil (17% de la producción mundial), India (15%), Myanmar (11%), China (8%), Estados Unidos (6%) y México (6%). Concentrado en conjunto el 56 % de toda la producción en dicho año (Figura 2) (Financiera Rural, 2011; S.E., 2012).

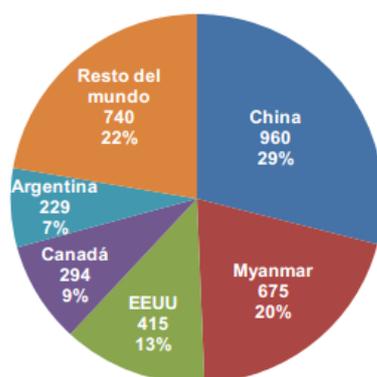


Figura 2. Países Exportadores de Frijol 2008 (miles de toneladas y % del total)
(Fuente: Financiera Rural, 2011).

Importancia en México

En México el cultivo del frijol junto con el maíz, representan toda una tradición productiva y de consumo, cumpliendo diversas funciones de carácter alimentario y socioeconómico que le han permitido trascender hasta la actualidad. Representa una fuente importante de ingresos para muchos productores; además de ser garantía de seguridad alimentaria, y una de las fuentes principales de proteína para muchas poblaciones. Es un alimento tradicional, de identificación cultural, básico para la dieta alimentaria de ayer, hoy y muy probablemente del futuro (SAGAR, 1998).

Producción nacional

En nuestro país, Zacatecas es el principal estado productor de frijol con el 25%, seguido de Sinaloa con el 16%, Durango con 13%, Chihuahua con 11% y Nayarit 7%, generando un volumen de producción de 760 mil toneladas de frijol. En el sur del país, solo Chiapas aporta el 7% de producción (Figura 3).

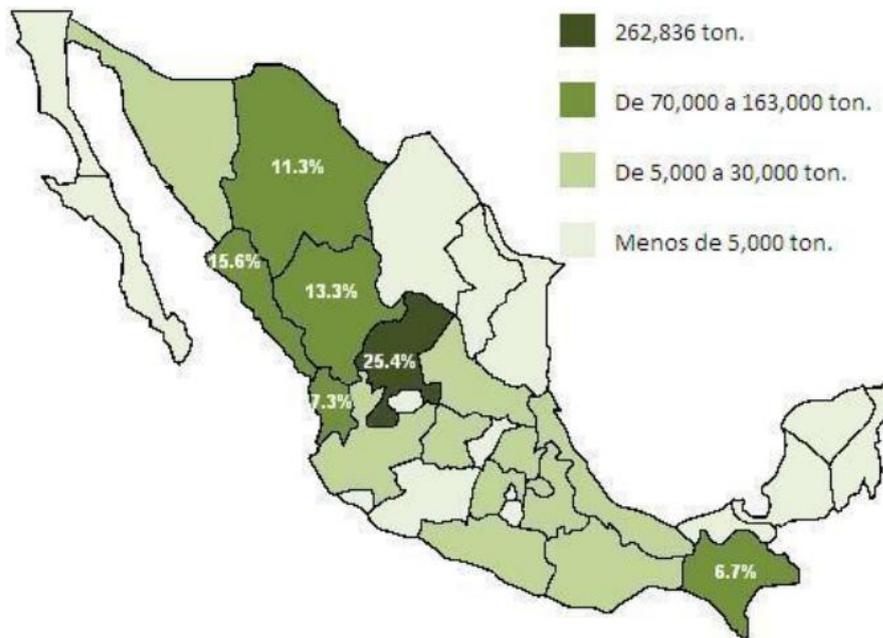


Figura 3. Participación Estatal en la Producción Nacional de Frijol en 2009.
(Fuente: Financiera Rural, 2011).

Descripción botánica

La planta de frijol (Figura 4) es una enredadera que alcanza entre cincuenta y setenta centímetros de altura, con tallos delgados y débiles, a veces rayados de color púrpura. Presenta una raíz pivotante y muchas raíces secundarias bien desarrolladas. Sus hojas son trifoliadas, dispuestas de tres en tres, con bordes ovals y estandarte redondeado. El fruto es una vaina suavemente curvada y dehiscente; esto significa que se abre naturalmente cuando está madura. Esta vaina puede medir de diez a 12 centímetros. En su interior, las semillas pueden ser oblongas, ovals o redondeadas, según la variedad, poco comprimidas y de color rojo, amarillo, café o negro (SIAP, 2014).



Figura 4. *Phaseolus vulgaris* L. (Fuente: SIAP, 2014).

Mosquita Blanca

A nivel mundial se citan 1,556 especies de moscas blancas, incluidas en 161 géneros y cerca de 30 especies para Centroamérica (Hilje *et al.*, 1993; Martín *et al.*, 2007).

La mosca blanca Hemiptera: Aleyrodidae es una de las plagas más importantes a nivel mundial. Durante los últimos 100 años dos especies, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Figura 5) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) han adquirido gran importancia debido a las pérdidas económicas causadas a diversos cultivos de interés agrícola a nivel mundial (Gerling, 2000). *T. vaporariorum* es nativa del suroeste de Norteamérica (Russell, 1977 citado por García *et al.*, 1995).



Figura 5. Adultos de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)
(Fuente: Cardona *et al.*, 2005).

Taxonomía

La clasificación corresponde a la citada por Borrór *et al.* (1989).

Reino: Animalia

Phyllum: Artrópoda

Clase: Hexápoda

Subclase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Homoptera

Familia: Aleyrodidae

Subfamilia: Aleyrodinae

Género: *Trialeurodes*

Especie: *vaporariorum*

Ciclo de vida

La mosquita blanca tiene cinco estadios (Figura 6); el primer instar es activo y sin alas, mientras que los siguientes tres estadios son inactivos, desarrollando alas internamente; el cuarto instar es la pupa del cual emerge el adulto (Cabezas, 2012).



Figura 6. Ciclo de vida de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)
(Fuente: Cardona, 2005).

La duración del ciclo de vida, de huevecillo a adulto y de cada etapa fenológica, difiere de acuerdo a la temperatura ambiental, pero de manera general la fase de huevecillo dura de cinco a nueve días, mientras que los tres primeros instares ninfales duran de dos a cuatro días y el último transcurre en seis días (Mondaca, 2005).

El huevo es depositado en el envés de la hoja por un pedicelo, en forma individual o en grupos; inicialmente son blancos, luego toman un color amarillo y finalmente pasan a tono café oscuro cuando van a eclosionar. En promedio un huevo mide 0.23 mm de longitud y 0.1 mm de ancho (Cardona *et al.*, 2005).

El primer instar ninfal es el único que se mueve para localizar sitio de alimentación, es de forma oval, translúcida y con manchas amarillas. En el segundo instar es semejante al anterior pero con bordes ondulados. Para el tercer instar es parecido difiriendo en mayor tamaño pues se logra ver a simple vista. Y en el cuarto instar es oval, plana, casi transparente y conforme avanza su desarrollo se ve opaca y en ese momento se le llama pupa, presentando hilos de cera largos y erectos, ya próximas a emerger se le puede observar los ojos. Finalmente aparece el adulto midiendo 1mm de longitud, de color amarillo limón, con alas transparentes, angostas en la parte anterior ensanchadas hacia atrás; cubiertas de polvillo blanco y con ojos color rojo oscuro (Cardona *et al.*, 2005).

Biología y hábitos

Los individuos del complejo mosca blanca tienen reproducción sexual pero especies como *T. vaporariorum*, y otras de la familia Aleyrodidae pueden presentar partenogénesis de tipo telitoquia, donde la hembra no fecundada deposita huevos haploides que darán origen a machos (Medina, 1996; Sánchez, 1997).

T. vaporariorum como el resto de la subclase insecta es poiquilotermo, lo que se refiere a que su metabolismo depende de la temperatura ambiente, desarrollándose óptimamente entre 20-30°C en donde el tiempo generacional se

acorta y la fecundidad aumenta (Sánchez, 1997). La tasa de reproducción va a variar dependiendo de la planta hospedera, pero el promedio es de 160 huevecillos por hembra presentando rango de 50 a 400 (Medina, 1996).

En zonas tropicales el insecto muestra hasta 17 generaciones por año, dependiendo de las condiciones ambientales y del alimento (Salguero *et al.*, 1993).

La mosquita blanca se va a localizar en el envés de la hoja por lo general quietas; los adultos volarán al ser interrumpidos o por la necesidad de buscar alimento en las plantas jóvenes (Ortiz *et al.*, 2010).

Distribución

Las mosquitas blancas se encuentran generalmente en los trópicos y subtrópicos (Figura 7) (Ortiz *et al.*, 2012).

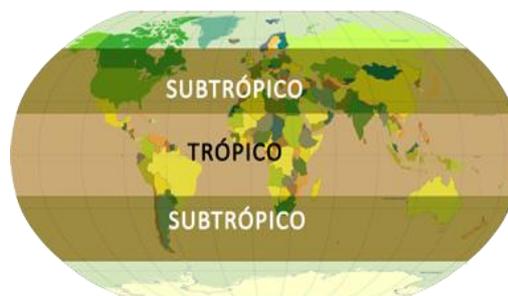


Figura 7. Distribución de mosquita blanca.

(Fuente: Bosques Secos (s/f)).

En la década de los ochenta, la mosquita blanca cambió su conducta, de ser plaga esporádica en algodón *Gossypium hirsutum* L., melón *Cucumis melo* L., calabaza *Cucurbita pepo* L., lechuga *Lactuca sativa* L. y remolacha azucarera *Beta vulgaris* L., llegó a ser un problema de proporciones epidémicas, debido a su

rápida tasa de crecimiento y movilización monocultivo y multicultivo dentro de un sistema agrícola (Medina, 1996).

En 1986, en EUA, apareció en los invernaderos de plantas de noche buena en Florida. En Arizona se observó por vez primera en 1926 y después en 1988, indicándose que provenía de Iraq o Paquistán y que fue introducida al país en productos vegetales (Medina, 1996).

La mosca blanca de los invernaderos *T. vaporariorum* es una especie fitófaga y polífaga que ataca seriamente cultivos hortícolas de importancia económica (Rendón *et al.*, 2001).

Hospederos

Según Vázquez *et al.* (1996) Russell (1977) registró 249 géneros de plantas hospedantes pertenecientes a 84 familias, que van desde cultivos de hortalizas hasta ornamentales y malezas (Cuadro 1), por lo que se dificulta su manejo por el amplio rango de hospederos.

Cuadro 1. Principales familias vegetales hospederas del complejo mosca blanca en el mundo (Fuente: Vázquez *et al.*, 1996).

Acanthaceae	Labiatae
Amaranthaceae	Malvaceae
Asclepiadaceae	Nyctaginaceae
Balsaminaceae	Papilionaceae
Boraginaceae	Passifloraceae
Commelinaceae	Portulacaceae
Compositae	Rubiaceae
Convolvulaceae	Rutaceae
Cucurbitaceae	Solanaceae
Euphorbiaceae	Sterculiaceae
Verbenaceae	

Trialeurodes vaporariorum ataca cerca de 250 especies de plantas diferentes. Entre los principales hospederos están habichuela y frijol *Phaseolus vulgaris*, tomate *Solanum lycopersicum*, pepino *Cucumis sativus*, pimentón *Capsicum annum*, zapallo *Cucurbita maxima*, berenjena *Solanum melongena*, papa *Solanum tuberosum* y algodón *Gossypium hirsutum* (Cardona, 2005).

Importancia

Las moscas blancas Hemiptera: Aleyrodidae constantemente son incluidas en las listas de plagas en México y el mundo (Ortega, 1999; Hodges *et al.*, 2005). El impacto económico causado por el complejo moscas blancas–virosis, ha provocado en México situaciones de verdadera emergencia, a grado tal que se han tenido que destruir miles de hectáreas de cultivos diversos, debido a la mala calidad, manchado y bajos rendimientos (Ortega, 1999).

En México, de las 67 especies reportadas, sólo son reconocidas de importancia económica *Bemisia tabaci* (Gennadius), *B. argentifolii* Bellows & Perring y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Cuadros 2 y 3), las cuales ocurren principalmente en cultivos de hoja ancha como melón, sandía, chile, tomate, algodón, frijol, col y cítricos (Ortega, 1999).

Según lo publicado en la revista 2000agro (2006), un factor que ha hecho que la mosquita blanca sea una plaga de importancia económica es que tiene una alta capacidad de generar resistencia a los insecticidas.

Cuadro 2. Importancia económica de moscas blancas de Centroamérica.
(Fuente: Caballero, 1994).

ESPECIE	CATEGORIA
<i>Aleurocanthus woglumi</i> Ashby	B
<i>Aleurodicus cocois</i> (Curtis)*	C
<i>Aleurodicus dispersus</i> Russell*	C
<i>Aleurodicus dugessi</i> Cockerell*	C
<i>Aleuroglandulus malangae</i> Russell	C
<i>Aleuroplatus</i> sp.	D
<i>Aleurothrixus floccosus</i> (Maskell)	C
<i>Aleurotrachelus</i> sp.	D
<i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius)	A
<i>Bemisia tuberculata</i> Bondar	B
<i>Ceraleurodicus altissimus</i> (Quaintance)*	D
<i>Dialeurodes citrifolii</i> (Morgan)	C
<i>Lecanoideus giganteus</i> (Quaintance & Baker)*	D
<i>Paraleurodes</i> sp.	D
<i>Tetraleurodes acaciae</i> (Quaintance)	C
<i>Tetraleurodes mori</i> (Quaintance)	D
<i>Trialeurodes abutiloneus</i> (Haldeman)	B
<i>Trialeurodes floridensis</i> (Quaintance)	D
<i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood)	A
<i>Trialeurodes variabilis</i> (Quaintance)	B

*Subfamilia Aleurodicinae

Cuadro 3. Bases para la clasificación de la importancia económica de las moscas blancas de Centroamérica. (Fuente: Caballero, 1994).

CATEGORIA	STATUS PLAGA	CONTROL	DENSIDAD	HOSPEDANTES	PAISES	ESPECIES
A	Clave	Generalmente	Alta	Muchos	Todos	2
B	Importante	Ocasional	Media	Varios	Varios	4
C	Esporádica	Raramente	Baja	Varios	Varios	7
D	Potencial	Ninguno	Baja	Varios	Varios	7
E	Inocua	Ninguno	Bajísima	Uno	Uno	0

Daños

Como daño directo las ninfas y adultos de la mosquita blanca, lo causan al succionar aminoácidos y azúcares a través de su aparato bucal, causando amarillamiento de la planta afectando así su desarrollo, y si la densidad de población es alta pueden provocarle hasta la muerte (Costa, 1969).

Otro daño es la excreción de mielecilla sobre las hojas, de la cual se nutren hongos no parásitos de varios tipos conocidos como fumaginas, encontrando a *Capnodium* sp. (Agrios, 1996) complejo de hongos cuya presencia en las hojas constituye una barrera para la incidencia de la luz sobre el mesófilo y, en consecuencia, reduce la actividad fotoquímica (Lemos *et al.*, 2006) reduciendo así el vigor de la planta (Butler, 1982).

Con respecto a la transmisión de enfermedades, *T. vaporariorum* puede ser vector de los virus, CuYV (cucumber yellows virus) en melón y pepino; y el BPYV (Beet pseudo yellow virus) en cucurbitáceas y lechuga (Gonsebatt, 2005).

Control

Los diferentes métodos de control por si solos no son eficientes para el manejo de la plaga, por lo que la implementación de lo que se conoce como Manejo Integrado de Plagas (MIP) se obtienen mejores resultados (Madrigal, 2001).

Control legal

En México, el control de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*, *B. tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*, *T. abutilonea*, *Tetraleurodes ursorum* y *Aleurothrixus floccosus*), junto con otras plagas de importancia económica esta regulado bajo la norma NOM-081-FITO-2001, para evitar su proliferación y dispersión tomando medidas fitosanitarias para el manejo y eliminación de focos de infección,

mediante establecimiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos (SAGARPA, 2002).

Control cultural

Se recomienda evitar las siembras escalonadas, rotar cultivos no hospederos, eliminar malezas hospederas, destruir los restos de cosecha, manejo de hospederos alternativos y usos de variedades resistentes (Granadillo, 2011).

Control químico

El control químico es el empleo de sustancias químicas sintéticas y/o naturales para el control de la mosca blanca, el cual se ha considerado el más efectivo para mantener las poblaciones a niveles no perjudiciales. Pero desafortunadamente cada día se van perdiendo productos capaces de seguir controlándola (Ghunther *et al.*, 1975; Cremlin, 1992).

El control químico es todavía el método más utilizado para el manejo de mosca blanca, pero debido a que no se ha usado correctamente, el insecto se ha vuelto resistente a algunos insecticidas. Los principios activos imidacloprid y buprofezin presentaron buen control de la plaga, sin embargo su eficiencia ha disminuido (Gonsebatt, 2005). Estudios del CIAT indican que ha adquirido resistencia a algunos organofosforados como metamidofos, malathion, monocrotofos y dimetoato, a algunos carbamatos como carbofuran y carbosulfan, además de piretroides como cipermetrina y cialotrina (Cardona, 2005; Carmona *et al.*, 2001 citado por Espinel *et al.*, 2006).

Este tipo de control de la mosca blanca se debe hacer en base en los niveles de infestación por el estado de desarrollo de primer instar. Si en un muestreo se encuentra que las ninfas de primer instar ocupan 30% o más del área del foliolo, esto significa que se ha alcanzado o sobrepasado el umbral de acción y es necesario ejercer control de inmediato (Cardona, 2005).

Control biológico

Se refiere al uso de medios biológicos como insectos, hongos entomopatógenos, bacterias, nematodos, virus y ácaros, que actúan sobre las plagas parasitándolas, depredándolas o causando enfermedades a los insectos plaga (Sarayasi, 2012).

Se entiende como la manipulación de enemigos naturales de los insectos plaga con el fin de limitar su población (Asaff *et al.*, 2002). Pretendiendo que las plagas sean controladas antes de rebasar el umbral económico, y buscando que los enemigos naturales pertenecientes al ambiente del cultivo se conserven mediante el manejo del agroecosistema o por la adición regular de estos (García de León *et al.*, 2003).

Cuadro 4. Microorganismos bioinsecticidas utilizados contra insectos plaga de los cultivos (Fuente: Gallegos *et al.*, 2003).

Bacterias	Virus
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Bacillus popilliae</i> <i>Bacillus sphaericus</i> <i>Bacillus larvae</i> <i>Bacillus moritai</i>	Baculovirus Granulovirus Virus de la poliedrosis nuclear (VPN) Virus de la poliedrosis citoplásmica (VPC)
Actinomicetos	Hongos
<i>Streptomyces avermectilis</i> <i>Saccharopolyspora spinosa</i>	<i>Beauberia bassiana</i> <i>Metarhizium anisopliae</i> <i>Metarhizium flavoviridae</i> <i>Verticillium lecanii</i> <i>Paecilomyces sp.</i> <i>Nomuraea rileyi</i> <i>Hirsutella sp.</i> <i>Aschersonia aleyrodis</i> <i>Entomophthora sp.</i> <i>Coelomomyces sp.</i> <i>Massospora sp.</i>
Nemátodos	
<i>Romanomermis culicivorax</i> <i>Steinernema sp.</i> <i>Heterorhabditis sp.</i>	

Hongos entomopatógenos

Los hongos Entomopatógenos son agentes de control biológico de insectos y frecuentemente ocasionan epizootias que reducen significativamente sus poblaciones (MaCoy *et al.*, 1988). Conociéndose más de 700 especies pero poco más de 10 son usados en control biológico de insectos (Hajeck *et al.*, 1994).

El uso de hongos entomopatógenos para el control biológico de mosquita blanca ha cobrado importancia en los últimos años. En este contexto, los géneros *Paecilomyces*, *Lecanicillium*, *Aschersonia*, *Beauveria* y *Metarhizium* se han empleado con bastante éxito de manera experimental o en aplicaciones de campo (Monzón, 2001; Rodríguez *et al.*, 2003; Pucheta *et al.*, 2006; citados por Ruiz *et al.*, 2011). En general, los hongos representan una excelente alternativa porque pueden infectar diferentes estados de desarrollo de su hospedero y son de baja o nula patogenicidad para organismos benéficos y para el humano (Cuadro 4) (Ferron, 1977).

Debido a su modo de infección distintivo, a diferencia de otros agentes entomopatógenos estos no requieren ser ingeridos por su hospedero para causar la infección; en su lugar, las esporas pueden penetrar directamente a través de la cutícula, gracias a la acción coordinada de enzimas hidrolíticas, y a la presión mecánica ejercida en el punto de contacto. Las enzimas participantes son factores determinantes en el éxito de la infección (Carrillo *et al.*, 2009).

***Metarhizium* spp.**

Entre los hongos Entomopatógenos, el género *Metarhizium* (Metschnikoff) Sorokin es el más difundido a nivel mundial, utilizándose para el control de diversas plagas agrícolas (Gómez, 1999).

El género *Metarhizium* presenta amplio rango de hospederos; puede parasitar más de 300 especies de insectos de diversos órdenes (Gómez *et al.*, 1997). Ha tenido éxito en varios programas de control biológico de plagas agrícolas, como en caña de azúcar y pastos (Bautista *et al.*, 2005), *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) en maíz (Hernández *et al.*, 2003), *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) en algodón (Filho *et al.*, 2002; Ujjan *et al.*, 2007) y *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) en granos almacenados (Khashaveh *et al.*, 2008).

Metarhizium spp. produce conidióforos ramificados, y en cada uno se forma una cadena biseptada de conidias alargadas, que crecen densas y adheridas. Las conidias jóvenes son de color blanco cambiando a un verde más oscuro al madurar; su tamaño permite diferenciar las especies de género (Cadro 5) (Ferrón, 1981; Hernández *et al.*, 1997; citados por Gallegos *et al.*, 2003).

Cuadro 5. Identificación de especies de *M. anisopliae* (Fuente: Humber, 1998).

CONIDIA	PHIALIDE	COLOR of conidia	OTHER CHARACTERS	SPECIES
9 µm long, cylindrical, often with middle ± constricted	cylindrical	green (many possible shades), yellow-green, brown (often with green tones) to yellow	ubiquitous, with extremely wide host range, more often affecting hosts in soil than on aerial plant parts	<i>anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>
11 µm long (shape same as for <i>M.a. anisopliae</i>)			widely distributed; possibly stable diploid form of <i>M.a. var. anisopliae</i>	<i>anisopliae</i> var. <i>majus</i>
7-9 µm long, ± ovoid	clavate (wider at apex)	Dull grey-green; often comparatively slow to begin to sporulate on cultures	affecting Orthoptera; best known from Africa; previously identified as <i>M. flavoviride</i>	<i>anisopliae</i> var. <i>acridum</i>
7-9 µm long ovoid			Grows more slowly and sporulates later in culture than <i>M. anisopliae</i> ; widely distributed	<i>flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i>
7 µm long ovoid	Clavate, with apex sometimes nearly conical	white to pale brown	Conidia in powdery masses rather than compact columns	<i>flavoviride</i> var. <i>minus</i>
4-6 x 1.5-2.5 µm ovoid				<i>album</i>

El género incluye especies las especies *M. anisopliae* con conidias de 3.5 a 18 µm; *M. flavoviride* Grams y Rozypal formando conidias elipsoides de tamaño intermedio a la anterior (Ferrón, 1981; Hernández *et al.*, 1997; citados por Gallegos *et al.*, 2003) y *M. álbum* Petch, que presenta masa conidial blanca y conidios ovales a elipsoidales de longitud mayor a 7 µm (Rombach *et al.*, 1987 citado por Gómez, 1999).

***Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin**

Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin es un microorganismo que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza (Gómez, 1999). Forma conidióforos simples o agregados; posee conidias alargadas, ovoides o cilíndricas

dispuestas en cadenas (Figura 8); de color verde olivo, por lo que la micosis que causa se conoce como muscardina verde (Berlanga *et al.*, 1997; CB-08, 1999; citados por Olayo, 1999).

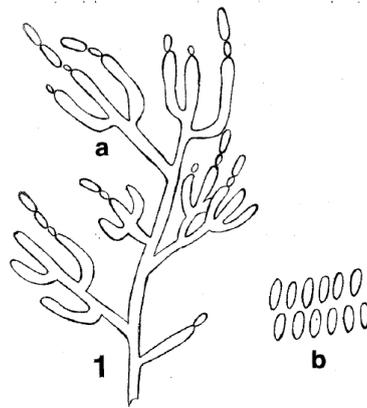


Figura 8. 1. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin: a) conidióforos
b) Conidias. (Fuente: Gómez, 1999).

Metarhizium anisopliae presenta dos variedades: *M. anisopliae* var *anisopliae*, que forma conidias cilíndricas de color verde, generalmente truncadas en ambos extremos, ovales, de tamaño entre 3.5 y 9.0 μm de largo; y *M. anisopliae* var *major* (Jhonson) Tulloch presenta conidias de 9.0 a 18.0 μm de largo (Figura 9) (Ferrón, 1981; Hernández *et al.*, 1997 citados por Gallegos *et al.*, 2003; Rombach *et al.*, 1987 citado por Gómez, 1999).

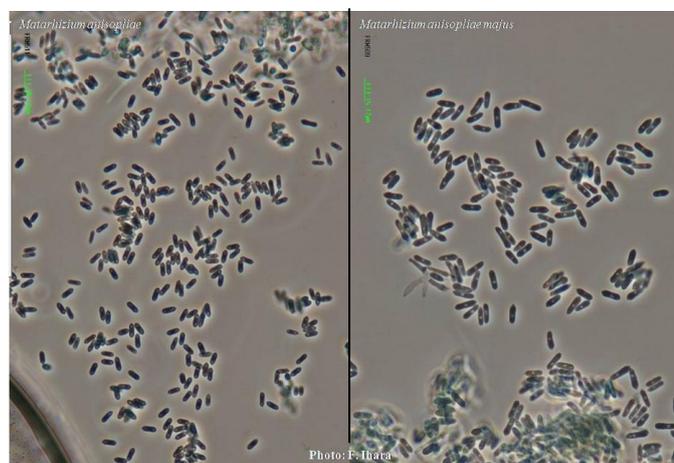


Figura 9. *Metarhizium anisopliae* Sorokin (Fuente: NARO, S/F).

Taxonomía

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Metarhizium*

Espécie: *M. anisopliae*

De acuerdo a la clasificación más reciente encontrada en Mancillas (2011).

Modo de acción

Esta demostrado que la actividad entomopatógena de los hongos depende de sus equipamiento enzimático, como es el caso para la penetración de la cutícula del insecto encontrando las proteasas, quitinasas, lipasas, quitobiosas, lipooxigenasas y otras, que degradan los componentes cuticulares y proveen nutrientes para la proliferación del hongo dentro del insecto (Leger *et al.*, 1986; Khan *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2007 citados por Carrillo *et al.*, 2009).

El proceso de infección se inicia cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento del insecto, mientras encuentra un espacio propicio para iniciar la formación del tubo germinativo. Entonces el hongo excreta enzimas hidrolíticas que van degradando la cutícula del insecto, y coadyuvar con la penetración por presión mecánica iniciada por el apresorio, el cual es una estructura especializada formada en el tubo germinativo (López *et al.*, 1990).

El tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para penetrar la cutícula

(Riquelme *et al.*, 1998). Además de anclaje, ejerce una presión hacia el interior del insecto (Pucheta *et al.*, 2006).

La germinación tiene lugar en un rango de 12 horas necesitando una humedad relativa mayor a 80% (Bartnicki, 1994 citado por Silva, 2010) y las epizootias están correlacionadas con la humedad relativa de 70 a 100 % (Kuno *et al.*, 1982 citado por Bermudez, 2006).

Estando dentro desarrolla cuerpos hifales, los cuales se diseminan por el hemocele donde el insecto puede responder a la infección por mecanismos enzimáticos o fagocitosis (Boucias *et al.*, 1998), antes de la invasión de diversos tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi y hemocitos, ocasionando la muerte del insecto que puede resultar debido a combinación de factores como agotamiento de nutrientes, obstrucción física o invasión de órganos y toxicosis (Araujo de Albuquerque, 2009); una vez agotados muchos de los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento micelial e invade todos los órganos del hospedero.

La muerte sobreviene por una combinación de efectos como daño físico de tejidos, toxicosis, deshidratación de las células por pérdida de fluido y consumo de nutrientes (Bustillo, 2001 citado por Archuleta, 2012).

Finalmente las hifas emergen del interior a la superficie y si hay condiciones favorables forman nuevas esporas (Figura 10) (Hajek *et al.*, 1994; Pucheta *et al.*, 2006 citados por Carrillo *et al.*, 2009).



Figura 10. Modo de acción de hongos entomopatógenos (Fuente: Biomaca. S/F).

Potencial epizootico

Un complejo número de procesos interactivos, tanto ambientales como bióticos, son necesarios para el desarrollo o inhibición de epizootias causadas por hongos entomopatógenos, incluyendo la sensibilidad a la radiación solar, antagonistas microbianos; comportamiento del hospedante, condiciones fisiológicas y edad; vigor y edad del patógeno; presencia de pesticidas; temperatura, humedad y cantidad del inoculo apropiadas (Ferron *et al.*, 1991; Lacey *et al.*, 1995 citados por Araujo de Albuquerque *et al.*, 2009).

Por lo que el éxito del hongo entomopatógeno como agente microbiano de control va a depender del uso adecuado del propágulo, formulado y aplicado en dosis y estadio susceptible del insecto hospedante, condiciones ambientales favorables al patógeno y prácticas culturales apropiadas (Lacey *et al.*, 2001 citado por Araujo de Albuquerque *et al.*, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo en Laboratorio

Cepa de *Metarhizium anisopliae*

La cepa con la que se trabajó fue proporcionada por el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) que forma parte del corporativo Bioindustrial del Norte.

Reactivación de *M. anisopliae* por infección de larvas

Para mantener viable el hongo entomopatógeno, fue necesaria una reactivación en medios específicos. Para lo cual se prepararon cámaras húmedas bajo condiciones asépticas. En una caja de Petri con división, se colocó un trozo de algodón estéril impregnado con agua estéril en cada división. Se hizo un barrido de conidias de una caja Petri con *M. anisopliae*. De la suspensión obtenida se extrajo 1 ml para hacer diluciones. Después se tomaron 2 larvas de *Tenebrio molitor* y se sumergieron en la suspensión, luego se depositaron en la cámara húmeda. Finalmente se dejaron colonizar por el hongo a 28° C con una humedad relativa de 70% diez días aproximadamente (Figura 11).



Figura 11. Preparación de cámaras húmedas para reactivación del hongo entomopatógeno.

La concentración de conidias de la suspensión se determinó con una cámara Neubauer (Marienfeld, Alemania) y un microscopio compuesto.

Reactivación y propagación de la cepa en Medio Papa dextrosa agar (PDA)

Para preparar medio PDA (Agar Papa Dextrosa), se disolvieron 39 g del medio deshidratado en 1 L de agua destilada, esterilizándose a 121° C durante 15 minutos. Una vez gelificado el medio en cajas Petri, se procedió a sembrar el hongo *M. anisopliae* por estría; incubándose a 28.5°C por dos semanas (Figura 12).



Figura 12. *Metarhizium anisopliae* en medio PDA.

Reactivación de la cepa Medio tenebrio

Se maceró 0.5 g de cutícula de *Tenebrio molitor* y se vació en 100 ml de agua destilada, después se esterilizó a 121°C por 15 min; posteriormente se le incorporó 50 µl de antibiótico (gentamicina). El medio se inoculó agregando un cubo de 1 cm² aproximadamente de medio PDA con hongo crecido; se colocó en un agitador a 28.5°C por 5 días; luego se retiró y se preservó a 25° C con fotoperiodo normal, hasta obtener conidias que fueron sembradas nuevamente en medios solidos (Figura 13).



Figura 13. Preparación del Medio de Cultivo Tenebrio. A) Inoculación del medio líquido con *M. anisopliae* en PDA. B) Incubación del hongo. C) Medio de cultivo Tenebrio con *M. anisopliae*.

Propagación masiva de la cepa en Medio SDY

Para preparar el medio SDY, se pesó 65 g. de agar dextrosa sabouraud y 15 g de extracto de levadura, y se mezclaron en 1L de agua destilada; lo resultante se esterilizó a 121°C por 15 minutos y se dejó enfriar para vaciar en cajas Petri. Ya solidificado el medio se realizó la siembra del hongo por estría, aislando esporas de larvas de *Tenebrio molitor* colonizado por *M. anisopliae* (Figura 14). A partir de ésta siembra, se optó por realizar solo tres siembras más para conservar la patogenicidad del hongo.



Figura 14. Larva colonizada por *Metarhizium anisopliae*.

Identificación de *Metarhizium anisopliae*.

Macroscópica. Mediante la observación visual con un estereoscopio se observó la forma de crecimiento de la colonia, aspecto, textura, coloración, y ramificación del conidióforo de acuerdo a

Microscópica. Con una aguja de disección se tomó una porción del hongo y se colocó en un portaobjetos con lactofenol, se observó en el microscopio compuesto con 40X de aumento para precisar el microorganismo con el que se trabajó. Observando hifas septadas lisas; con conidias de extremos redondeados, lisas y agrupadas en cadenas de acuerdo a lo descrito por Humber (1998).

Trabajo en Invernadero

Las evaluaciones se llevaron a cabo en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en colonia Buenavista, municipio de Saltillo, Coahuila; cuyas coordenadas geográficas son 25° 21 20" de Latitud Norte y 101° 01 30" de Longitud Oeste y a una Altitud msnm de 1743 m (Figura 15).



Figura 15. Invernadero UAAAN.

Establecimiento de plantas de frijol

Para germinar las semillas de frijol se utilizó una mezcla 3:1 (v/v) de peat moss y perlita, en recipientes de plástico de 1 litro a 3/4 partes de su capacidad (Figura 16). Se sembraron 4 semillas de frijol por recipiente, regando cada tercer día (Figura 17).



Figura 16. Material utilizado para establecimiento de plantas de frijol.



Figura 17. Siembra de frijol.

Obtención de colonia de mosquita blanca

Los adultos de *T. vaporariorum* se obtuvieron de cultivos de la familia Asteraceae, género *Heliopsis* de plantas infestadas de otro invernadero, cercano al utilizado. Se trasladaron las plántulas de *Phaseolus vulgaris* (de 30–45 días de edad) cerca de esas plantas infestadas con mosquita blanca de manera natural, con el fin de que quedaran expuestas a la colonia para lograr la infestación

(Figuras 18 y 19). Posteriormente las plantas de frijol con la colonia de la mosquita blanca establecida se trasladaron al invernadero elegido.

A partir de la colonia obtenida se infestaron nuevas plantas, exponiéndolas solo por 4 días con el fin de obtener huevecillos de *T. vaporariorum*; retirando manualmente todos los adultos de la mosquita, y aislando las plantas con tela malla para evitar una reinfestación.



Figura 18. Infestación de plantas de frijol con mosquita blanca.



Figura 19. Plantas de frijol infestadas con mosquita blanca.

Las plantas depositadas en el invernadero contaron con una temperatura entre 20 y 32°C y con humedad relativa de 50 a 80%.

Preparación de los tratamientos

Para la aplicación de los tratamientos, se preparó una suspensión de esporas de *M. anisopliae* en agua destilada a partir de un cultivo en medio SDY;

haciendo un raspado con un portaobjetos a la caja Petri con el hongo crecido. El concentrado de esporas obtenido se filtró con malla para separar partes del medio sólido desprendido.

La suspensión madre (1.4×10^9) se determinó mediante el conteo de esporas en cámara de Neubauer observada bajo microscopio (Figuras 20 y 21) utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{esporas}}{\text{ml}} = (\text{Promedio})(25)(10000)(\text{Dilución}).$$

Y se ajustó a las concentraciones 1×10^8 , 1×10^7 y 1×10^6 esporas/ml mediante la fórmula:

$$V1 = \frac{C2 \cdot V2}{C1}.$$

A los tratamientos se adicionó 0.05% de surfactante (Bionex[®]) como agente de dispersión.



Figura 20. Conteo de esporas.



Figura 21. Concentraciones *M. anisopliae*

Las aplicaciones se hicieron a través de aspersiones dirigidas al envés de las hojas de frijol sobre las ninfas de *T. vaporariorum*, utilizando microaspersores de plástico. La diferencia de tiempo entre cada aplicación fue de 72 horas.

Procedimiento para la evaluación de las aplicaciones

Para la evaluación de las tres aplicaciones de *M. anisopliae* se empleó el método destructivo. Recolectando muestras de cada tratamiento por separado, en recipientes de plástico con orificio cubierto por una malla.

Las aplicaciones de los tratamientos correspondientes se realizaron después de la recolecta de muestras, las que se trasladaron al laboratorio, donde se procesaron con ayuda de un estereoscopio y después se desecharon. Procedimiento que se siguió para las evaluaciones de las tres aplicaciones.

Criterio de evaluación para la mortalidad de ninfas

El registro de las ninfas muertas se realizó con un estereoscopio, contabilizando las ninfas consideradas como muertas aquellas con cambio de coloración, pérdida de turgencia, deformación y presencia de micelio en el cuerpo.

Diseño experimental y análisis estadístico

La variable por medir correspondió a ninfas muertas existentes en el envés de la hoja.

La unidad experimental correspondió a 30 plantas de frijol (por cada tratamiento), y la unidad de muestreo fue de 15 hojas al azar previamente infestada con ninfas de mosca blanca y con la aplicación del respectivo tratamiento.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar y con arreglo factorial.

El análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) se llevaron a cabo con el programa estadístico SAS (Software Inc., 2002, versión 9.00). Los valores utilizados para realizar el análisis de varianza se transformaron mediante la función arcoseno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de mortalidad con 1 Aplicación de *M. anisopliae*.

Los resultados de la primera aplicación del *M. anisopliae* (Figura 22) muestran diferencias entre los tratamientos aplicados; presentando mayor mortalidad la concentración 1×10^8 con un 39.1%, seguida de la más baja que fue 1×10^6 con un 32.15%. Presentando diferencias con los resultados obtenidos por García *et al.* (2010) que indicaron que de tres hongos aislados entre los que destaca *M. anisopliae*, obtuvieron mortalidades superiores al 80%, con la diferencia de que sus observaciones las realizaron con dosis promedio de 1.8×10^9 esporas/g en diferentes plagas que incluye a la mosquita blanca en hortalizas.

La gráfica (Figura 22) muestra los resultados resumidos correspondientes a una aplicación de *M. anisopliae*, en la cual se puede apreciar los porcentajes máximos de mortalidad obtenidos a las 72 horas.

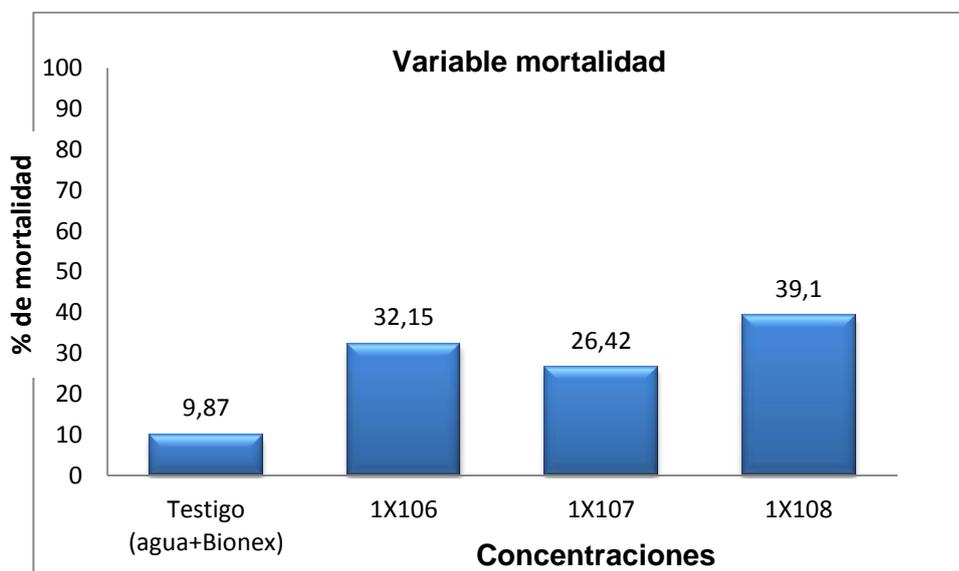


Figura 22. Mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* comparando resultados entre tratamientos después de una aplicación de *M. anisopliae*.

Los datos analizados (Cuadro 6) indican que los mejores tratamientos fueron 1×10^8 y 1×10^6 al formar parte del mismo grupo. Aunque este último también forma grupo con la concentración 1×10^7 por lo que puede ser estadísticamente igual a ambos tratamientos. Pero todos los tratamientos muestran diferencia significativa respecto al testigo.

Cuadro 6. Comparación de medias de variable mortalidad de *T. vaporariorum* 72 hr después de una aplicación de *M. anisopliae*.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	38.521	15	TRA3
A B	33.965	15	TRA1
B	30.707	15	TRA2
C	18.133	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

C.V. 22.64199

Análisis de mortalidad con 2 Aplicaciones de *M. anisopliae*.

En la segunda aplicación (Figura 23) el efecto alcanzó el 50.2% de mortalidad con la concentración alta; para la concentración media se presentó un incremento alcanzando el 35.29%; y la dosis baja no mostró incremento tan perceptible ya que solo llegó al 33.81%. Resultados que se asemejan a los obtenidos por Ruiz *et al.* (2011) bajo condiciones de invernadero, cuyos valores obtenidos por el efecto de cepas de *Metarhizium* variaron de 18.3 a 65%.

La siguiente gráfica (Figura 23) se considera la mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* después de dos aplicaciones de *M. anisopliae* en la cual nuevamente sobresale el porcentaje obtenido por el tratamiento 1×10^8

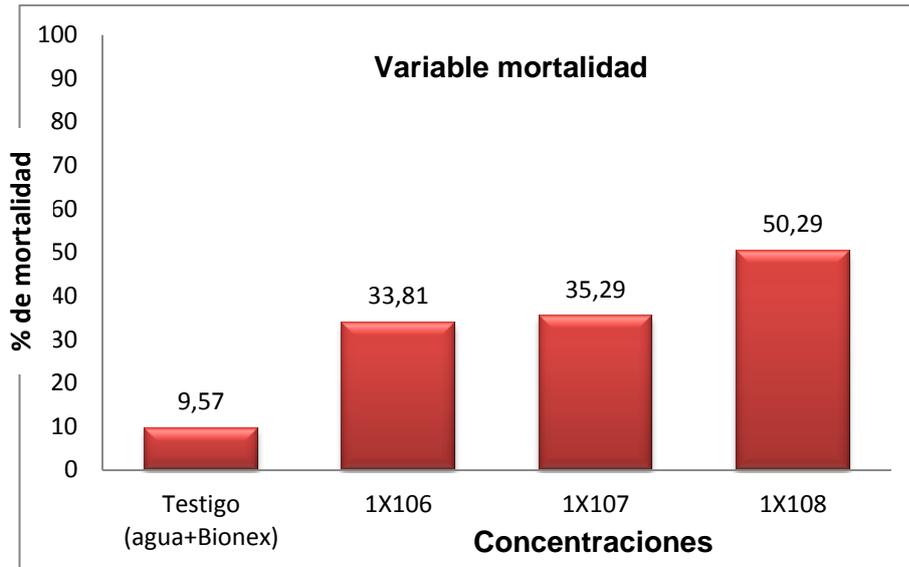


Figura 23. Mortalidad de ninfas de mosquita blanca, comparando resultados entre tratamientos después de dos aplicaciones de *M. anisopliae*.

En el análisis (Cuadro 7) el tratamiento tres difiere del resto, por lo que es estadísticamente diferente a todos los demás. No presentándose lo mismo para los otros dos tratamientos que se consideran estadísticamente iguales pero diferente al testigo.

Cuadro 7. Comparación de medias de variable mortalidad de *T. vaporariorum* después de dos aplicaciones de *M. anisopliae* a intervalo de 72 horas.

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	45.210	15	TRA3
B	36.313	15	TRA2
B	35.264	15	TRA1
C	17.123	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.
C.V. 18.54556

Análisis de mortalidad con 3 Aplicaciones de *M. anisopliae*.

Con tres aplicaciones (Figura 24) el mayor efecto lo conservó la dosis alta incrementado a un 69.24%; seguido de la dosis media con 56.99% por encima de la dosis baja con 46.33%. Malsam *et al.* (2002) encontraron que *M. anisopliae* puede causar hasta 50% de mortalidad bajo condiciones de laboratorio, incrementando hasta el 100% si se usa aceite en la formulación de las esporas y aditivos al momento de la aplicación.

En la siguiente gráfica se observan (Figura 24) los porcentajes de mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* por efecto acumulado de tres aplicaciones de *M. anisopliae*.

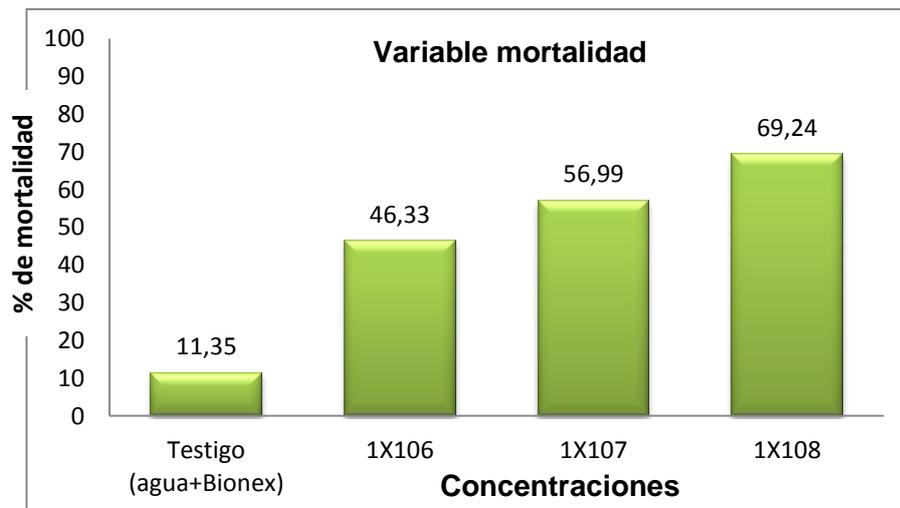


Figura 24. Mortalidad de ninfas de mosquita blanca comparando resultados después de tres aplicaciones de *M. anisopliae*.

El análisis para aplicación 3 (Cuadro 8) revela que como consecuencia de pertenecer al mismo grupo el tratamiento 1 y 2, se consideran estadísticamente iguales, por lo que no muestran una clara diferencia entre si en el efecto de control de *T. vaporariorum*, pero si existe clara diferencia con los resultados del testigo.

Cuadro 8. Comparación de medias de variable mortalidad de *T. vaporariorum* después de tres aplicaciones de *M. anisopliae* con intervalo de 72 horas.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	56.581	15	TRA3
B	49.241	15	TRA2
B	42.895	15	TRA1
C	19.408	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.
C.V = 15.85151

Análisis con Arreglo Factorial.

Mostrando el análisis de varianza (Cuadro 9) se observa que el valor de $P=0.001$ es menor que el nivel de significancia= 0.05 ($P\leq 0.05$), por lo tanto se rechaza la igualdad de medias y se concluye que al menos un tratamiento es diferente.

Cuadro 9. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de *T. vaporariorum*.

FUENTE	DF	ANOVA SS	CUADR. DE LA MED.	F-VAL.	PR > F
Tra	3	19777.62508	6592.54169	152.04	<.0001
Fecha	2	4398.94306	2199.47153	50.72	<.0001
Tra*Fecha	6	1549.82278	258.303	5.96	<.0001

C.V. 18.66475

Análisis por concentración

De acuerdo al análisis aplicado (Cuadro 10) el mejor tratamiento fue el de la concentración más alta (1×10^8). En cuanto a los otros tratamientos con concentración media (1×10^7) y concentración baja (1×10^6) no hubo diferencia significativa entre si por lo que se considera que son estadísticamente iguales en cuanto a su efecto generado; pero si presentan diferencia respecto al testigo.

Cuadro 10. Comparación de medias de la variable de mortalidad de *T. vaporariorum* por concentración (prueba Tukey).

Variable mortalidad			
TUKEY AGRUPAMIENTO	MEDIA	N	TRATAMIENTO
A	46.771	45	Alta
B	38.754	45	Mediana
B	37.375	45	Baja
C	18.221	45	Testigo

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

C.V. 18.66475

Análisis por aplicación

Comparando el efecto que tuvieron las tres aplicaciones, se observa que hay diferencia significativa entre si (Cuadro 11) ya que las tres forman grupos distintos. Siendo así, que el efecto de tres aplicaciones produjo mejores resultados que con el de dos y una sola aplicación.

Cuadro 11. Análisis de mortalidad de *T. vaporariorum* por aplicaciones (prueba de Tukey).

Variable mortalidad			
TUKEY AGRUPAMIENTO	MEDIA	N	No. APLICACIÓN
a	42.031	60	3
b	33.478	60	2
c	30.331	60	1

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

C.V. 18.66475

Los resultados obtenidos sometidos al análisis estadístico, a través del cual se pudo comparar el efecto que tuvo cada concentración de esporas de *M. anisopliae* (Figura 25) y el número de aplicaciones (Figura 26) arrojaron lo siguiente.

Al aplicar la concentración de esporas baja 1×10^6 tres veces no obtenemos un efecto de control significativo.

Mientras que al aplicarse la concentración media 1×10^7 las tres veces se logra la mitad de mortalidad del insecto.

Y finalmente con la concentración alta 1×10^8 mediante tres aplicaciones se han logrado el 69.24% de control sobre la mosquita blanca.

Guerrero *et al.* (2003) mencionaron que al realizar tres aplicaciones de *M. anisopliae* a una concentración de 1×10^8 conidios/ml sobre ninfas de mosquita blanca en tomate, causaron mortalidad de 83%: en la 1ra y 3ra aplicación a los 10 días 56.5% y 66%, mientras que en la 2da aplicación fue de 33%. Resultados considerados semejantes a los obtenidos en esta evaluación.

En la gráfica (Figura 25) podemos apreciar el concentrado de mortalidad de ninfas por efecto de *M. anisopliae* en diferentes concentraciones, comprendido en tres aplicaciones.

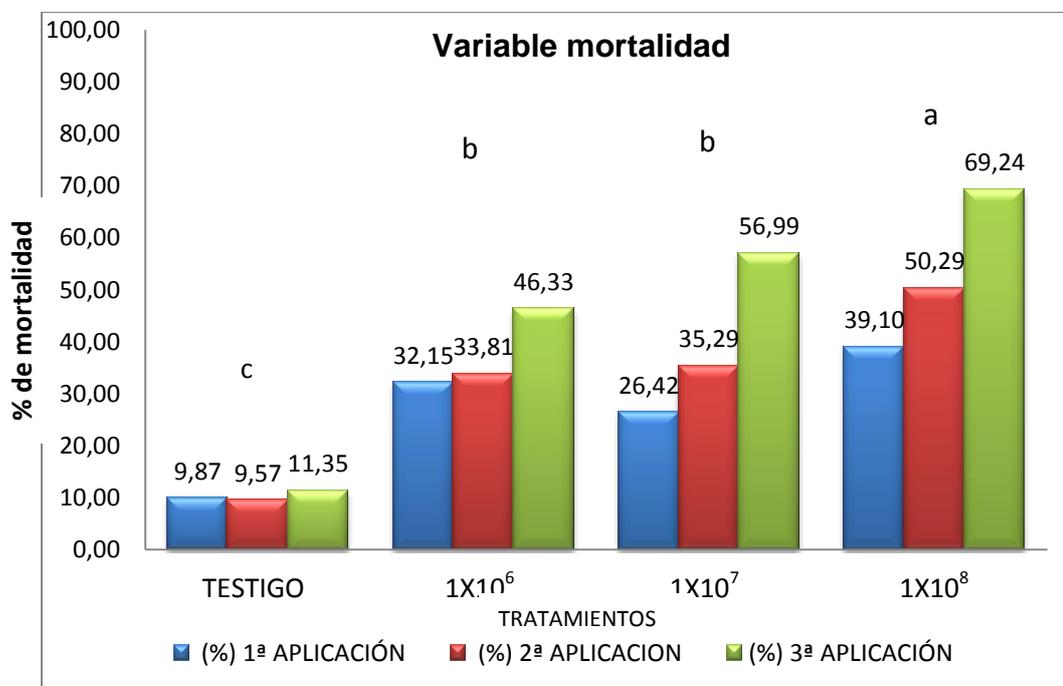


Figura 25. Mortalidad de mosquita blanca causada por *Metarhizium anisopliae* en diferentes concentraciones mediante tres aplicaciones.

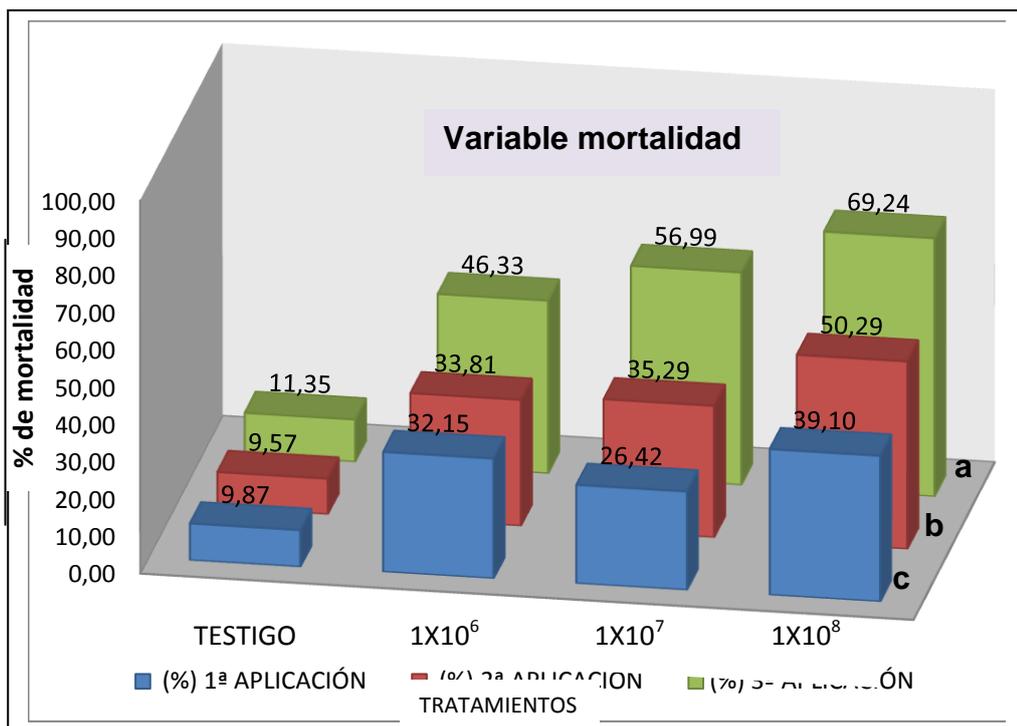


Figura 26. Mortalidad de mosquita blanca causada por *Metarhizium anisopliae* por efecto acumulado de tres aplicaciones.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, las ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* son vulnerables al ataque del hongo *Metarhizium anisopliae*, presentando poco más del 50% de mortalidad en planta de frijol bajo condiciones de invernadero; resultados que confirman la hipótesis inicial por lo que es aceptada.

Respecto a la efectividad de las concentraciones utilizadas, la que mayor tuvo fue la de 1×10^8 , al presentar mayor control de ninfas, presentándose así en más de una aplicación; sin embargo, las concentraciones menores 1×10^7 y 1×10^6 no presentaron diferencia de control entre sí en ningún caso; por lo que la hipótesis planteada de a mayor concentración mayor efecto, aplica a partir de la concentración 1×10^8 .

El efecto de tres aplicaciones resultó concordante con lo planteado; pues con lo observado que determinó que con una sola aplicación de esporas de *M. anisopliae* no hay un control de ninfas significativo; al realizar una segunda aplicación la efectividad se incrementó. Pero al hacer una tercera aplicación el efecto fue mayor.

Por lo que se sugiere que se realicen tres aplicaciones de *M. anisopliae* con una concentración de 1×10^8 para lograr mejores resultados en el control de ninfas de mosquita blanca dentro de un contexto de Manejo Integrado de Plaga.

LITERATURA CITADA

- 2000agro. Revista Industrial del Campo. 2006. Lo negro de la mosquita blanca. [En línea] <<http://www.2000agro.com.mx/agroindustria/lo-negro-de-la-mosquita-blanca/>> [Citado 15-julio-2014].
- Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. Limusa. 2ª ed. México. p 343-344.
- Alves S. B. 1986. Controle Microbiano de Insectos. Editora Manole Ltda. Brasil. Pp. 73-124.
- Araujo de Albuquerque E. M.; E. H. de Albuquerque M. 2009. Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de “moscas blancas” (Homoptera: Aleyrodidae). Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronómica, Recife, vols. 5 y 6, p.209-242.
- Archuleta, 2012. Caracterización morfológica y molecular de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin de suelos cultivados y no impactados en el norte de Sinaloa. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México.
- Asaff TA; VY Reyes; V.E. López L.; M. De la Torre M. (2002) Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. Avance y Perspectiva, México 21: 291-295.
- Barrios, M.; ADHS-Popol Vuh, Matagalpa; F. Guaharay; Proyecto CATIE/INTA-MIP (NORAD); Managua C. Grimm. Instituto Austriaco para la Cooperación Internacional. 1997. Producción y suministro de hongos Entomopatógenos en Nicaragua. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza. Enero-Diciembre. Avances Técnicos Tomo VIII. pp.83. [En línea] <http://books.google.com.mx/books?id=_uAOAQAIAAJ&pg=PA83&dq=antecedentes+metarhizium+anisopliae&hl=es419&sa=X&ei=NRHZU6uWBubd8AGw8IDICA&ved=0CCcQ6AEwAw#v=onepage&q=antecedentes%20metarhizium%20anisopliae&f=true> [Citado 30-julio-2014].
- Bautista, G.A., C. González C. 2005. Tres dosis de *Metarhizium anisopliae* sobre la mosca pinta (*Aeneolamia* spp.) en caña de azúcar en la región de los ríos, estado de Tabasco. Universidad y Ciencia 21(41): 37-40.
- Bermúdez, C. J. P. 2006. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok en el combate de *Imatidium neivai* Bondar en palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq). Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Manabi. Portoviejo, Manabi, Ecuador. 49p.
- Biodiversidad Mexicana. s/f. [En línea] <<http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/alimentacion/frijol.html>> [Citado 28-septiembre-2014].

- Biomaca. S/F. Entomopatógenos. [En línea] <<http://biomacacr.com/component/content/article/78-microorganismos-beneficos/72-insectors>> [Citado 12-octubre-2014].
- Bosques Secos. (s/f). [En línea] <<http://www.bosquessecos.org/informacion-sobre-los-bosques-secos/>> [Citado 8-octubre-2014].
- Boucias, D.G. y C. Pendland, J. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts.
- Butler, G. D. 1982. Development of sweet potato whitefly and temperature in Imperial Agricultural Briefs. EUA. P4.
- Caballero, R. 1994. Clave de campo para inmaduros de moscas blancas de Centoamérica (Homoptera: Aleyrodidae). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. CEIBA. Volumen 35(1):47-51. Pp 47-50.
- Cabezas, M. F. A. Introducción a la entomología. México. Trillas. UAAAN. 1996 (reimp. 2012) pp. 131.
- Cardona, C.; I. V. Rodríguez, J. M. Bueno y X. Tapia C. 2005. Biología de la Mosca Blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Habichuela y Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIA1); Department for International Development (DFID). Publicación CIAT; no. 345. 50 p. [En línea] <http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Car%C3%A1tula.pdf> [Citado 10-octubre-2014].
- Carrillo, R. M. T.; A. Blanco L. 2009. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. Revista: Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato. México. Vol. 19 no. 2 Mayo-Agosto 2009. Pp. 49.
- Costa, A. S. 1969. Whiteflies as virus vectors, in viruses, Vector and Vegetation, Interscience. EUA. Pp. 95-119.
- Cremlym, R. 1982. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Edit. Limusa 1ª Edición. México, D. F. 355 pp.
- Espinel, C.C.; L. Villamizar R.; L. Torres T.; E. Grijalba B.; M. D. Lozano; A. M. Cotes P.; A. López Á.; J. García G.; V. González. 2006. Desarrollo de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Boletín técnico. Editor Corpoica. 58 pp.
- Ferron, P. 1977. Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Fungi, Annual Review of Entomology 23:409-442, EE.UU.
- Filho, C.E., E. Marques J., R. Barros. 2002. Selection of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) and *Beauveria bassiana* (Huebner) caterpillars. Scientia Agricola 59: 457-462.

- Financiera Rural. 2011. Monografía del Frijol. México D.F.
- Gallegos, M. G.; M. Cepeda S.; R. P. Olayo Paredes. 2003. Entomopatógenos. México. Edit. Trillas.Reimp. 2004. 148 p.
- García de León S; Mier T. 2003. Panorama actual de la producción comercial y aplicación de bioplaguicidas en México. Soc Rur Prod Medio Amb 4: 65-81.
- García, G. C. y M. B. González M. 2010. Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. Rev. Ra Ximhai, Vol. 6, Número 1, enero-abril. Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp 17-22.
- García, P. J. M. y J. C. M., Sánchez. 1995. Estudios para la cría masiva de *Amitus fuscipennis* MacGown & Nebeker (Hymenoptera: Platigastridae), parasitoides de la mosca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía.
- Gerling, D. 2000. Whiterflies revisited. XXI International congress of Entomology. Abstract book. Brazil. August 20-26 p. 64-67
- Gómez, H. 1999. Experiencias en la utilización del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnickoff) Sorokin en el control de plagas agrícolas en el Perú. Revista Peruana de Entomología Vol. 41: pp. 79-82. Octubre. Programa Nacional de Control Biológico, SENASA. Lima, Perú.
- Gómez, M.; Tinti N., Alves L. 1997. Characterization of new biotypes of P157 strain of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, got by treatment with gamma radiation. Boletín Micológico 12(2): 41-48.
- Gonsebatt G. F. 2005. La Mosca Blanca en el Cinturón Hortícola de Rosario. Revista agromensajes de la facultad. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional del Rosario. Publicación 17. [En línea] <<http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/17/12AM17.htm>> [Citado 25-octubre-2014].
- Granadillo, C. J.A. 2011. Identificación de parasitoides asociados a *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hom: Aleyrodidae) sobre frijol *Phaseolus* sp. en cuatro municipios de la provincia de García Rovira, Santander, Colombia. Tesis de Licenciatura. Universidad de Santander. Facultad de Ciencias. Bucaramanga. Pp 85.
- Guerrero, G. C.; M. Fonseca F.; M. I. Castellá M.; E. Suárez S. 2003. Patogenicidad del hongo *Metarhizium anisopliae* sobre *Bemisia* spp. Fitosanidad. Vol. 7, no. 2. Pp 76. [En línea] <http://www.researchgate.net/profile/Josefina_Cao/publication/233748697_RESEA_HISTORICA_ACERCA_DEL_CARO_DEL_MOHO_PHYLLOCOPTRU_TA_OLIVORA_PLAGA_PRINCIPAL_DE_LOS_CTRICOS_EN_CUBA/links/0046352441992e7f88000000.pdf#page=68> [Citado el 30-nov-2015].

- Gunther, F. A.; L. Jeppson, 1962. Insecticidas modernos y la producción mundial de alimentos 1ª Edi. Editorial Continental S.A. México. D.F. pp.293.
- Hajeck, A.E. y J. ST. LEGER, R. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.
- Hernández, V.V.; D. Hunter M.; L. Barrientos L.; R. Lezama G.; F. Reyes V. 2003. Susceptibility of *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) to *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes): laboratory and field trials. *Journal of Orthoptera Research* 12:89-92
- Hilje, L.; D. Cubillo y L. Segura. 1993. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30:24-30.
- Hodges, G. S.; G. A. Evans. 2005. An identification guide to the whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the Southeastern United States. *Florida Entomologist* 88 (4): 518–534.
- Humber, R. A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. American Phytopathological Society. Entomological Society of America Workshop, Joint annual meeting 1998. Las Vegas, Nevada, USA. 26. [En línea] <<http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/80620510/APSwkshoprev.pdf>> [Citado 28-nov-2015].
- Khashaveh, A.; Safaralizade M. A.; Ghosta Y. 2008. Pathogenicity of three Iranian isolates of the fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Against Granary Weevil, *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biological Science* 8: 804-808.
- Lemos F., José Pires de; Paiva, Élder Antônio Sousa. 2006. The effects of sooty mold on photosynthesis and mesophyll structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King., Meliaceae). *Bragantia*, Campinas, v.65, n. 1, p. 11-17. [En línea] <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0006-87052006000100003&script=sci_arttext>. [Citado 21-noviembre-2015].
- López, L. LV; D. Claugher.1990. Appresoria of the nematophagous fungus *V. suchlasporium*. *Micron Microsc Acta* 21: 125-130.
- Macoy, C.W.; A. Samson, R.; G. Boucias, D. 1988. Microbial insecticides, Part A: Entomogenous protozoa and fungi. En: Ignoffo, C.M. y Mandava, N.B. (Eds.). *Handbook of Natural Pesticides*, Vol. 5. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 151-236.
- Madrigal, C.A. 2001. Notas sobre el control biológico de plagas. Centro de publicaciones, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

- Malsam, O.; M. Kilian; E.C. Oerke; H.W. Dehne. 2002. Oils for increased efficacy to control whiteflies. *Biocontrol Science and Technology* 12: 337-348.
- Mancillas, P. J. M. 2011. Caracterización de secreciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con actividad patogénica contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México. Pp.71.
- Martin, J. H.; L. Mound A. 2007. An annotated check list of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). *Zootaxa* 1492: 1–84.
- Medina, C. T.S. 1996. La mosquita blanca. Universidad Autónoma de Baja California Mexicali, Baja California, México. pp 56. [En línea] <http://books.google.com.mx/books?id=tAXj0UsGnUQC&pg=PA11&lpg=PA11&dq=distribuci%C3%B3n+de+mosquita+blanca&source=bl&ots=SsrrG_AuV6&sig=nF4de0IM5Jz4sFa9TBLYAICLc_E&hl=es419&sa=X&ei=hrpSVNnUFdKcygStxlAw&ved=0CCEQ6AEwAQ#v=onepage&q=distribuci%C3%B3n%20de%20mosquita%20blanca&f=false> [Citado 22-septiembre-2014].
- Mondaca, C. E. 2005. Estrategias para un manejo integrado de mosca blanca y geminivirus en tomate. Editorial Fundación Produce Sinaloa. Folleto técnico no. 25. Pp. 45. [En línea] <<http://www.fps.org.mx/divulgacion/attachments/article/873/Estrategias%20para%20un%20manejo%20integrado%20de%20mosca%20blanca%20y%20geminivirus%20en%20tomate.pdf>> [Citado 30-noviembre-2014].
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 63:95-103, Costa Rica.
- NARO. S/F. National Agriculture and Food Organization. [En línea] <http://www.naro.affrc.go.jp/org/fruit/epfdb/Deutte/Metarh/phi-co_M.htm> [Citado 10-octubre-2014].
- Olayo, P. R. P.1999. Entomopatógenos utilizados en control microbial de insectos plaga. Monografía. UAAAN. Saltillo, Coahuila,México. pp 112.
- Ortega, A. L. D. 1999. Mosca blanca vectora de virus en hortalizas (Homoptera: Aleyrodidae) pp: 149–176. In: S. Anaya R. y J. Romero N. (eds.). *Hortalizas, plagas y enfermedades*. Ed. Trillas. D. F, México.
- Ortiz, C. M.; R. Medina T.; R. Valdivia B.; A. Ortiz C.; S. Alvarado C. y J. R. Rodríguez B. 2010. Mosquitas blancas plaga primaria de hortalizas en Nayarit.
- Pucheta, D. M.; A. Flores M.; S. Rodríguez N.; M. de la Torre M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos, *Interciencia* 31(12): 856- 860, Venezuela.
- Rendón, F.; Cardona, C.; Bueno, J. 2001. Pérdidas causadas por *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) y Thrips palmi (Thysanoptera:

- Thripidae) en habichuela en el Valle del Cauca. Rev.Col. Entomol. 27 (1 - 2):34-43.
- Riquelme M; PCG. Reynaga; G. Gires y GS. Bartnicki. 1998. What determines Growth Direction in Fungal Hyphae?. Fungal Genet Biol 24: 101-109.
- Rodríguez Dos Santos A.; M. Pozo N. 2003. Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. Bol. San. Veg. Plagas 29:211-218, España.
- Ruiz, S. E.; W. Chan C.; A. Pérez G.; J. Cristóbal A.; B. Uch V., J. M. Tun S. y R. Munguía R. 2011. Crecimiento, esporulación y germinación in vitro de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. Revista Mexicana de Micología. Impresa en México / 33: 9-15. [En línea] <<http://revistamexicanademicologia.org/wp-content/uploads/2011/04/2-TR-191-VOL-33-9-15-FINAL.pdf>> [Citado 04-julio-2014].
- SAGAR. 1998. Situación actual y perspectiva de la producción del frijol en México 1990-2000. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Pp 51.
- SAGARPA. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, Manejo y eliminación de focos de infestación de plagas, mediante el establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 8 p.
- Salguero, V.; F. Gunaray. 1993. La Mosca Blanca. MIP-CATIE. N° 4.
- Sánchez, L.M. 1997. Evaluación de las fluctuaciones poblacionales de la mosca clanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood al introducir el pararitoide *Encarsia Formosa* Gahan como alternativa de manejo de plaga, en cultivos de rosas para exportación, en la Sabana de Bogotá. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad Agronomía.
- Sarayasi, T. S. R. 2012. Control biológico de plagas- una alternativa a los insecticidas. LEISA Revista de agroecología. Vol.28, n.1. [En línea] <<http://www.agriculturesnetwork.org/magazines/latin-america/28-1-insectos-y-agricultores/control-biologico-de-plagas>> [Citado 19-julio-2014].
- SE. 2012. Análisis de la Cadena de Valor del Frijol. Secretaria de Economía. Dirección General de Industrias Básicas. México. 38 p. [En línea] <http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/analisis_cadena_valor_frijol.pdf> [Citado 17-septiembre-2014].
- SIAP. 20014. Frijol, *Phaseolus vulgaris* L. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México. [En línea] <<http://www.siap.gob.mx/frijol/>> [Citado 28-septiembre-20014].
- Silva, U. N. A. 2010. Efectos de fungicidas sobre formulados de los entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana*

utilizados contra la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*). Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Pp.132.

Ujjan, A. A.; S. Shahzad. 2007. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* strain on pink hibiscus mealy bug (*Maconellicoccus hirsutus*) affecting cotton crop. *Pakistan Journal Botanic* 39:967-973.

Vázquez, L.L.; M. de la Iglesia; A. Mateo y M. Borges. 1996. Plantas hospedero de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Cuba. *Rev. Biol. Trop.* 44(3)/45(1):143-1

APÉNDICE

Ninfas de mosquita blanca infectadas por *Metarhizium anisopliae*.



**ANÁLISIS ANOVA DE LA VARIABLE PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE LA
MOSQUITA BLANCA *T. vaporariorum*.**

Arreglo Factorial

Tratamientos: 4

Repeticiones: 15

Fechas: 12,15,18

Número de observaciones: 180

PROCEDIMIENTO ANOVA

INFORMACIÓN DEL NIVEL DE CLASE

CLASE	NIVELES	VALORES
Tra	4	CAIta CBaja CMediana Testigo
Rep	15	Rep1 Rep10 Rep11 Rep12 Rep13 Rep14 Rep15 Rep2 Rep3 Rep4 Rep5 Rep6 Rep7 Rep8 Rep9
Fecha	3	1D 2D 3D
		Número de observaciones 180

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRA.	CUADRA. DE LA MEDIA	F-VAL.	Pr>F
Modelo	11	25726.39092	2338.76281	53.94	<.0001
Error	168	7284.77309	43.36174		
Total correcto	179	33011.16401			

R-CUADRADO	COEF. VAR	RAÍZ MSE	DP MEDIA
0.779324	18.66475	6.584964	35.28021

FUENTE	DF	ANOVA SS	CUADRA. DE LA MEDIA	F-VAL.	PR > F
Tra	3	19777.62508	6592.54169	152.04	<.0001
Fecha	2	4398.94306	2199.47153	50.72	<.0001
Tra*Fecha	6	1549.82278	258.30380	5.96	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Turkey (HSD) para DP

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	168
Error de cuadrado medio	43.36174
Valor crítico del rango estudentizado	3.66980
Diferencia significativa mínima	3.6024

TUKEY AGRUPAMIENTO	MEDIA	N	TRA
A	46.771	45	CAIta
B	38.754	45	CMediana
B	37.375	45	CBaja
C	18.221	45	Testigo

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DP

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	168
Error de cuadrado medio	43.36174
Valor crítico del rango estudentizado	3.34421
Diferencia significativa mínima	2.843

TUKEY AGRUPAMIENTO	MEDIA	N	FECHA
A	42.031	60	3D
B	33.478	60	2D
C	30.331	60	1D

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

		DP		
NIVEL DE TRA	NIVEL DE FECHA	N	MEDIA	DEV STD
CAlta	1D	15	38.5210378	7.96036553
CAlta	2D	15	45.2104157	5.23017988
CAlta	3D	15	56.5821995	6.38479387
CBaja	1D	15	33.9649854	9.66296326
CBaja	2D	15	35.2648441	7.69213584
CBaja	3D	15	42.8947152	7.43613688
CMediana	1D	15	30.7074725	4.88883698
CMediana	2D	15	36.3132754	5.34685286
CMediana	3D	15	49.2398412	8.22413206
Testigo	1D	15	18.1321039	2.82484071
Testigo	2D	15	17.1233033	6.24840915
Testigo	3D	15	19.4083474	3.72383458

**PROCEDIMIENTO ANOVA PARA LA VARIABLE MORTALIDAD DE NINFAS
DE *T. vaporariorum* MEDIANTE 1 APLICACIÓN DE *M. anisopliae*.**

Información del nivel de clase
 Clase Niveles Valores
 trat 4 TES, TRA1, TRA2, TRA3
 Número de observaciones 60

Variable dependiente: spy sprays

Fuente	DF	Suma de cuadra.	Cuadra. de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	3438.048232	1146.016077	24.30	<.0001
Error	56	2641.222533	47.164688		
Total correcto	59	6079.270765			

R-cuadrado 0.565536
 Coef Var 22.64199
 Raiz MSE 6.867655
 spy Media 30.33150

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	3438.048232	1146.016077	24.30	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para spy

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 56
 Error de cuadrado medio 47.16469
 Valor crítico del rango estudentizado 3.74475
 Diferencia significativa mínima 6.6403

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	38.521	15	TRA3
B A	33.965	15	TRA1
B	30.707	15	TRA2
C	18.133	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

**PROCEDIMIENTO ANOVA PARA LA VARIABLE MORTALIDAD DE NINFAS
DE *T. vaporariorum* MEDIANTE 2 APLICACIONES DE *M. anisopliae*.**

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
trat	4	TES TRA1 TRA2 TRA3
Número de observaciones		60

Variable dependiente: spy sprays

Fuente	DF	Suma de cuadra.	Cuadra. de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	6245.157847	2081.719282	54.00	<.0001
Error	56	2158.631227	38.546986		
Total correcto	59	8403.789073			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	spy Media
0.743136	18.54556	6.208622	33.47767

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	6245.157847	2081.719282	54.00	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para spy

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	56
Error de cuadrado medio	38.54699
Valor crítico del rango estudentizado	3.74475
Diferencia significativa mínima	6.0031

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	45.210	15	TRA3
B	36.313	15	TRA2
B	35.264	15	TRA1
C	17.123	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

**PROCEDIMIENTO ANOVA PARA LA VARIABLE MORTALIDAD DE NINFAS
DE *T. vaporariorum* MEDIANTE 3 APLICACIONES DE *M. anisopliae*.**

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
trat	4	TES, TRA1, TRA2, TRA3
Número de observaciones	60	

Variable dependiente: spy sprays

Fuente	DF	Suma de cuadra.	Cuadra. de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	11643.56314	3881.18771	87.43	<.0001
Error	56	2485.83468	44.38991		
Total correcto	59	14129.39782			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	spy Media
0.824066	15.85151	6.662575	42.03117

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	11643.56314	3881.18771	87.43	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para spy

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	56
Error de cuadrado medio	44.38991
Valor crítico del rango estudentizado	3.74475
Diferencia significativa mínima	6.442

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	56.581	15	TRA3
B	49.241	15	TRA2
B	42.895	15	TRA1
C	19.408	15	TES

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.