

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de la Patogenicidad del Hongo *Isaria fumosorosea* Sobre Mosquita Blanca *Trialeurodes vaporariorum* Bajo Condiciones de Invernadero en Plantas de Frijol

Por:

ISRAEL CARRERA CARRERA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de la Patogenicidad del Hongo *Isaria fumosorosea* Sobre Mosquita Blanca *Trialeurodes vaporariorum* Bajo Condiciones de Invernadero en Plantas de Frijol

Por:

ISRAEL CARRERA CARRERA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada

Dr. Sergio René Sánchez Peña
Asesor Principal

M.C. Erika Lizzeth Ramos Salas
Coasesor

M.C. Reyna Ivonne Torres Acosta
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2015

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por haberme guiado y cuidado durante este paso en mi vida y por proveerme de la fuerza y de todo lo necesario para salir adelante.

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, Por brindarme la oportunidad de llevarme conocimientos y experiencias satisfactorias que guiaran mis pasos en mi vida profesional.

A la maravillosa **especialidad de Parasitología** nido de muchos que como yo eligieron esta carrera y que con mucho orgullo, pasión y respeto representaré.

Al **Dr. Sergio René Sánchez Peña**, por compartirme sus conocimientos, su tiempo, dedicación, apoyo incondicional y sobre todo por su gran amistad.

A la **M.C. Erika Lizzeth Ramos Salas** por su valioso tiempo, paciencia, comprensión, consejos, correcciones y claro su bonita amistad.

A la **M.C. Reyna Ivonne Torres Acosta**, por su colaboración y apoyo en la revisión de esta tesis, le agradezco por la confianza y amistad que me ha brindado.

Al **Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP)** por permitirme trabajar en sus instalaciones, por apoyarme con el material y recursos para realizar la investigación y a todo el personal por su apoyo en la resolución de dudas.

Al **Ing. José Alfredo Hernández Calderón** por su amistad, bondad, comprensión, apoyo y sobre todo su carisma.

A mis **Compañeros de la generación CXVIII** por su amistad y apoyo en los buenos y malos momentos, en especial a mis mejores amigos Javier A. Jiménez Zambrano, Francisco Rojas Vera, Fredy Herrera Aguayo y Fabián Quintero Tobar, con los que pase momentos muy agradables.

DEDICATORIAS

A mis padres: Ma. Félix Carrera Romero

Y

Luciano D. Carrera Paredes

A quienes me dieron la vida, a dos grandes personas a las cuales amo, quienes sin esperar nada a cambio me dieron todo. Es por ello que esta meta también es de ustedes, les agradezco eternamente su confianza depositada en mí.

A mis hermanos: Hugo

Blanca Nery

Elvira

Por la alegría que le dan a mi vida, ustedes que me han regalado momentos inolvidables, gracias por demostrarme su apoyo en todo momento, por eso y más muchas gracias los amo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Mosquita Blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>).....	4
Ubicación Taxonómica	4
Biología de <i>T. vaporariorum</i>	5
Descripción de los Estados de Desarrollo	6
Huevo	6
Instares ninfales	6
Adulto.	8
Adaptación.....	9
Daños ocasionados por <i>T. vaporariorum</i>	9
Hospederos de <i>T. vaporariorum</i>	11
La mosquita blanca <i>T. vaporariorum</i> como vector de virus en frijol común	11
Control Biológico de <i>T. vaporariorum</i>	12
Parasitoides.....	12
<i>Encarsia sp</i>	13
<i>Eretmocerus sp</i>	13
<i>Amitus sp</i>	14
Depredadores	14
Hongos Entomopatógenos	15
Condiciones adecuadas para la proliferación de los hongos entomopatógenos .	16
<i>Isaria fumosorosea</i>	17
Ubicación taxonómica.....	17
Descripción de <i>I. fumosorosea</i>	18
Biología y ecología	19
Modo de acción	19

Medios de Cultivo para los Hongos Entomopatógenos	20
Medio solido	20
Medio líquido	20
Formulación de hongos entomopatógenos en el control biológico	21
MATERIALES Y MÉTODOS	23
Sitio experimental	23
Obtención de la cepa	23
Caracterización de <i>I. fumosorosea</i>	23
Reproducción de <i>I. fumosorosea</i> en medio de cultivo SDY (Sabourad, dextrosa y extracto de levadura)	24
Reactivación de la cepa <i>I. fumosorosea</i> en medio tenebrio	25
Inoculación y reactivación de <i>I. fumosorosea</i> en larvas de <i>T. molitor</i> y <i>G. mellonella</i> en cámaras húmedas	25
Producción de <i>I. fumosorosea</i> en granos de arroz	26
Conteo de esporas de <i>I. fumosorosea</i>	27
Preparación de las suspensiones de esporas a diferentes concentraciones	28
Establecimiento del cultivo de frijol (<i>P. vulgaris</i>)	29
Establecimiento de la colonia de <i>T. vaporariorum</i>	29
Bioensayo 1. Infección de <i>T. vaporariorum</i> y evaluación de la patogenicidad de <i>I. fumosorosea</i> realizando una sola aplicación.	30
Bioensayo 2. Infección de <i>T. vaporariorum</i> y evaluación de la patogenicidad de <i>I. fumosorosea</i> realizando dos aplicaciones.	32
Diseño experimental y análisis de datos	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
Bioensayo 1. Infección de <i>T. vaporariorum</i> con <i>I. fumosorosea</i> realizando una sola aplicación.	34
Bioensayo 2. Infección de <i>T. vaporariorum</i> con <i>I. fumosorosea</i> realizando dos aplicaciones.	37
CONCLUSIONES	41
LITERATURA CITADA	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Número de especies depredadoras registradas atacando las seis especies más estudiadas de mosquita blanca (Gerling 1990).....	15
Cuadro 2. Reactivos utilizados en el medio de cultivo SDY	24
Cuadro 3. Componentes del medio tenebrio	25
Cuadro 4. Componentes del medio arroz.....	27
Cuadro 5 . Bioensayo con esporas de <i>I. fumosorosea</i> a diferentes concentraciones contra <i>T. vaporariorum</i> realizando una aplicación.	31
Cuadro 6. Bioensayo con 2 aplicaciones de esporas de <i>I. fumosorosea</i> a diferentes concentraciones sobre <i>T. vaporariorum</i>	33
Cuadro 7. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i>	35
Cuadro 8. Comparación de medias de la variable mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> (prueba Tukey) 4 días después de la aplicación.	36
Cuadro 9. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> bioensayo 2.	38
Cuadro 10. Comparación de medias de la variable mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> (prueba Tukey) 4 días después de la segunda aplicación.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. En el ciclo de vida de <i>T. vaporariorum</i> pueden reconocerse 4 estados: huevo, ninfas, pupa y adulto.....	5
Figura 2. Adulto y huevecillos de <i>T. vaporariorum</i> (por Centro Internacional de Agricultura Tropical).	6
Figura 3. Instares ninfales. A) Primer instar. B) Segundo instar. C) Tercer instar.	7
Figura 4. Pupa de <i>T. vaporariorum</i>	8
Figura 5. Adulto de <i>T. vaporariorum</i>	9
Figura 6. A) Vainas de frijol con fumagina. B) Ataque severo de fumagina. C) Planta con virus del mosaico dorado del frijol. (ICA 2005).	10
Figura 7. <i>Isaria fumosorosea</i> . A) Habitación en larvas de lepidópteros. Sinnemata derivada del huésped infectado. (Flechas). B) Colonias en medio de cultivo SDY. C-E) Conidióforos y células conidiogénicas. F) Conidias.....	18
Figura 8. Medios de cultivo. A) <i>I. fumosorosea</i> en medio líquido M1. B) <i>Isaria fumosorosea</i> en medio sólido SDY (Sucrosa, dextrosa y extracto de levadura) .	21
Figura 9. A) Larva de <i>T. molitor</i> recién inoculada. B) Crecimiento de <i>I. fumosorosea</i> en larvas de <i>T. molitor</i>	26
Figura 10. Suspensiones de esporas a diferentes concentraciones	28
Figura 11 . A) Siembra de las semillas de frijol en las macetas. B) Plantas de frijol para infestar.....	29
Figura 12. A) Plantas de frijol entre la maleza para infestarse con <i>T. vaporariorum</i> B) planta de frijol infestada con mosquita blanca.....	30

Figura 13. A) Hoja marcada, antes de la aplicación B) <i>I. fumosorosea</i> parasitando a ninfas de <i>T. vaporariorum</i>	32
Figura 14. Temperaturas y Humedad relativa registradas durante el bioensayo 1 ...	34
Figura 15. Mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> causada por una aplicación de <i>I. fumosorosea</i> a diferentes concentraciones de esporas.	37
Figura 16. Temperaturas y humedad relativa registradas durante el bioensayo 2	38
Figura 17. Mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> causada por dos aplicaciones de <i>I. fumosorosea</i> a diferentes concentraciones de esporas.	39
Figura18. Comparación de medias de los bioensayos 1 y 2	40

RESUMEN

Durante los últimos años se ha incrementado el interés por el hongo *Isaria fumosorosea* por que ha mostrado gran potencial como agente microbiológico para el control de insectos plaga, es por ello que ha surgido el planteamiento de utilizarlo en el control de la mosquita blanca, la cual es una de las plagas más importantes a nivel mundial debido al gran número de especies cultivadas que afecta y su amplio rango de hospederos.

En el presente trabajo se evaluó el potencial microbiológico de *I. fumosorosea* (cepa PFG/MS1) para controlar a *T. vaporariorum* bajo condiciones de invernadero en plantas de frijol. Se realizaron dos bioensayos utilizando tres concentraciones 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 esporas/ml y un testigo agua. En el bioensayo 1 se realizó una sola aplicación y en el bioensayo 2 se realizaron dos aplicaciones, en ambas pruebas se evaluó el porcentaje de mortalidad en ninfas.

Con este experimento se demostró que las ninfas de *T. vaporariorum* son vulnerables a la patogenicidad de *I. fumosorosea*. En el bioensayo 1 en donde se realizo una sola aplicación se presento un porcentaje mortalidad de hasta el 61.2 %, en el bioensayo 2 realizando dos aplicaciones se obtuvo una mortalidad del 91.5 %, por lo tanto a medida que aumenta la concentración de esporas de *I. fumosorosea* la efectividad se ve reflejada en el porcentaje de mortalidad. Los resultados indican que el uso de *I. fumosorosea* es una alternativa promisoro al problema de las plagas como la mosquita blanca y al uso excesivo de insecticidas químicos.

PALABRAS CLAVE: *Trialeurodes vaporariorum*, Control biológico, hongos entomopatógenos, *Isaria fumosorosea*, medios de cultivo, mosquita blanca.

Correo Electrónico: Israel Carrera Carrera, rael-1210@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos son importantes agentes en el control natural de insectos, que pueden ser utilizados en el manejo integrado de plagas (D'Alessandro *et al.*, 2011). Durante los últimos años se ha incrementado el interés en el hongo *Isaria fumosorosea* antes conocido como *Paecilomyces fumosoroseus*; (Luangsa Ard *et al.*, 2005), debido al gran potencial que tiene para controlar plagas sin afectar a los organismos benéficos (Zimmermann, 2008).

Trialeurodes vaporariorum es conocida como la mosquita blanca y 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. Los adultos y ninfas de este insecto succionan la savia del floema transmitiendo diferentes virus, este es uno de los daños indirectos que reduce los rendimientos drásticamente, además la producción de secreciones azucaradas por adultos y ninfas afecta la producción agrícola porque favorece el desarrollo de hongos como la fumagina (ascomicetes del orden de los Dothideales) impidiendo que se realice la fotosíntesis. En cultivos como el frijol *T. vaporariorum* puede causar pérdidas cercanas al 50% (Rendón *et al.*, 2001).

En los últimos años se han registrado casos de insectos resistentes a insecticidas sintéticos debido a la inmensa liberación de plaguicidas en el medio ambiente, por ello surge la necesidad de mejorar el cuidado del ambiente y buscar nuevas alternativas biológicas para el control de plagas. Dentro del control biológico podemos encontrar parasitoides, depredadores, virus, nematodos, bacterias y hongos.

La temperatura, la humedad relativa y la radiación solar son los factores medioambientales más importantes que afectan la germinación, el crecimiento vegetativo y la viabilidad de los hongos entomopatógenos (Vidal y Fargues, 2007).

Con relación a estos factores abióticos, se han encontrado resultados contrastantes en estudios de la virulencia de los hongos bajo diferentes condiciones ambientales, entre ellas la humedad. Se ha mencionado que el éxito logrado en el control de mosquita blanca y otras plagas mediante la aplicación de hongos entomopatógenos puede no alcanzarse cuando las condiciones climáticas no son favorables (Wraight et al., 2000).

OBJETIVOS

- Evaluar la susceptibilidad de ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* a la patogenicidad de *Isaria fumosorosea* bajo condiciones de invernadero.
- Evaluar la mortalidad causada por *I. fumosorosea* sobre *T. vaporariorum* utilizando diferentes concentraciones de esporas, realizando una sola aplicación y realizando dos aplicaciones.
- Determinar la influencia de la temperatura y la humedad relativa en la viabilidad de *I. fumosorosea*.

HIPÓTESIS

- Las ninfas de mosquita blanca (*T. vaporariorum*) son susceptibles a la patogenicidad del hongo *I. fumosorosea* bajo condiciones de invernadero.
- A mayor concentración de esporas de *I. fumosorosea* mayor porcentaje de mortalidad.
- Realizando dos aplicaciones con esporas de *I. fumosorosea* el porcentaje de mortalidad se incrementa al doble.
- La temperatura y la humedad relativa son factores asociados que influyen de manera importante en la viabilidad de *I. fumosorosea*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Mosquita Blanca (*Trialeurodes vaporariorum*)

Byrne *et al.*, (1990) señalan que en el mundo se han identificado cerca de 1200 especies de mosquitas blancas, principalmente por medio de características morfológicas basadas en el cuarto instar o pupa, dentro de estas se encuentra la mosquita blanca de los invernaderos: *Trialeurodes vaporariorum*. Ésta especie tiene una distribución cosmopolita y es polífaga con más de cien plantas hospedantes registradas.

Ubicación Taxonómica

Clasificación de la mosquita blanca según Westwood (1856).

Reino..... Animal

Phyllum..... Arthropoda

Clase..... Hexapoda

Orden..... Hemíptera

Suborden..... Sternorrhyncha

Superfamilia..... Aleyroidea

Familia..... Aleyrodidae

Genero..... *Trialeurodes*

Especie..... *T. vaporariorum*

Biología de *T. vaporariorum*

Cardona (1995) menciona que *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 (Figura 1).



Figura 1. En el ciclo de vida de *T. vaporariorum* pueden reconocerse 4 estados: huevo, ninfas, pupa y adulto

Descripción de los Estados de Desarrollo

Huevo

El huevo de mosquita blanca (Figura 2) es liso, alargado, la parte superior termina en punta y la parte inferior es redondeada, 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 ancho. La mosquita blanca pone los huevos en forma individual o en grupos (Cardona, 1995). Los huevos son inicialmente blancos, luego toman un color amarillo y finalmente se tornan café oscuro cuando están próximos a eclosión.



Figura 2. Adulto y huevecillos de *T. vaporariorum* (por Centro Internacional de Agricultura Tropical).

Instares ninfales

Primer instar.- La ninfa recién emerge del huevo se mueve para localizar el sitio de alimentación; es el único estado inmaduro que hace este movimiento y se le conoce como “crawler” o gateador (Figura 3 A). 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. En promedio el primer instar mide 0.27 mm de longitud y 0.15 mm de anchura. La duración promedio del primer instar es de tres días.

Segundo instar.- La ninfa de segundo instar (Figura 3 B) es translúcida, de forma oval con bordes ondulados. Mide 0.38 mm de longitud y 0.23 mm de anchura. La duración promedio del segundo instar es de tres días.

Tercer instar.- La ninfa de tercer instar (Figura 3 C) 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. La duración promedio del tercer instar es de tres días.

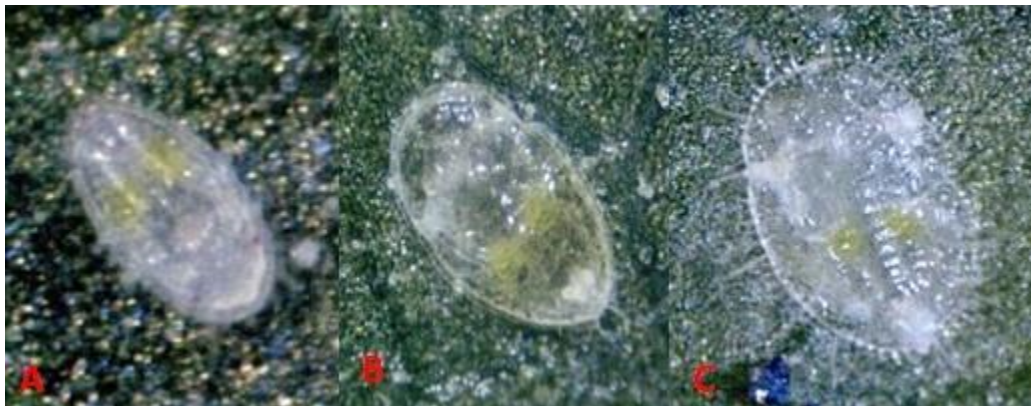


Figura 3. Instares ninfales. A) Primer instar. B) Segundo instar. C) Tercer instar.

Cuarto instar (pupa).- La ninfa recién formada de cuarto instar es oval, plana y casi transparente. A medida que avanza su desarrollo se torna opaca y en ese momento se le da el nombre de pupa (Figura 4). Presenta hilos de cera largos y erectos que le son característicos. 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, 1995).



Figura 4. Pupa de *T. vaporariorum*.

Adulto.

Recién emerge de la pupa, el adulto (Figura 5) mide aproximadamente 1 mm de longitud. 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. Los ojos son de color rojo oscuro. Las hembras son de mayor tamaño que los machos, viven entre 5 y 28 días. Se alimentan y ovipositan en el envés de hojas jóvenes, las cuáles seleccionan por atracción de color. Los adultos copulan apenas emergen, pero puede haber un período de preoviposición de un día.

Las hembras ponen en promedio entre 80 y 300 huevos durante su ciclo de vida. *T. vaporariorum* se puede reproducir partenogenéticamente dando lugar a progenies constituidas exclusivamente por machos (Cardona, 1995). La mayoría de los adultos se mueven en el día. Su actividad aumenta en las primeras horas de la mañana y se mantiene durante el resto del día. Inicialmente los vuelos son muy cortos; a partir de los nueve días de vida su desplazamiento es mayor (hasta dos metros por día). Aunque este insecto es mal volador, las corrientes de aire lo dispersan fácilmente de un cultivo a otro. Otro factor que facilita la dispersión de la mosquita blanca entre cultivos y regiones, es el transporte de plantas infestadas de un sitio a otro (Cardona, 1995).



Figura 5. Adulto de *T. vaporariorum*.

Adaptación

T. vaporariorum se adapta muy bien a regiones con altitudes entre 950 y 3000 msnm, con temperaturas promedio de 18 a 22 °C y humedades relativas superiores al 60%. Las lluvias fuertes son un factor importante en la dinámica de población de moscas blancas, porque disminuyen el número de adultos en campo y pueden desprender gran cantidad de ninfas, lo cual ocasiona disminución de los niveles de infestación. (Rodríguez y Cardona, 2001).

Daños ocasionados por *T. vaporariorum*

Las ninfas y adultos sobreviven alimentándose en el envés de las hojas donde succionan la savia. El follaje se torna color amarillo moteado, seguido de defoliación y muerte de las plantas. Además, ninfas y adultos de la mosquita blanca secretan una sustancia azucarada (mielecilla) que sirve de sustrato para el desarrollo de un hongo llamado fumagina reduciendo la actividad fotosintética de las plantas dañadas. Cuando la infestación es muy alta, la fumagina puede cubrir el fruto afectando así la calidad del fruto (Figura 6 A y B).

Uno de los daños indirectos y quizá el mayor problema generado por este insecto es la transmisión de virus (Figura 6 C) pertenecientes a siete grupos que incluyen *Begomovirus* (Geminiviridae), *Carlavirus*, *Ipomovirus* y *Crinivirus*. Los virus más importantes por el daño causado en los cultivos agrícolas son los Begomovirus y los Crinivirus (Closteroviridae: *Crinivirus*).

Por otra parte Ortega y González (1989) señalan que al succionar la savia de las plantas hospederas llegan a causarles un debilitamiento que puede ocasionar su muerte, sobre todo en sembradíos con altas densidades. Sin embargo la mayor peligrosidad de este insecto está relacionada con la trasmisión de enfermedades virales, en este caso, no es necesaria la incidencia de poblaciones altas para que la virosis se manifieste.



Figura 6. A) Vainas de frijol con fumagina. B) Ataque severo de fumagina. C) Planta con virus del mosaico dorado del frijol. (ICA 2005).

Hospederos de *T. vaporariorum*

En el Bajío (Querétaro, Guanajuato, Aguascalientes y Jalisco) se le ha encontrado en los cultivos de jitomate, chile, frijol, brócoli, coliflor; en Veracruz se observan en calabaza, calabacita, melón, sandía, pepino, espinaca, acelga y frijol ejotero. En regiones como el Sur de Tamaulipas, partes de Durango y Coahuila es común encontrar a *T. vaporariorum* y otras especies como *B. tabaci* especialmente en algodón y hortalizas (Anónimo, 1992).

La Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH, 1992) indican que se han identificado 28 especies de plantas hospederas del vector que pertenecen a 11 familias distintas de las que sobresalen Compositae, Cucurbitaceae, Poaceae y Solanaceae. De las 28 especies mencionadas 10 son hospederos completos y 18 son hospederos ocasionales donde solo son visitados por el insecto adulto para alimentarse. Probablemente estos sean los más peligrosos porque la transmisión de la virosis solo es realizada por el adulto a través de un hospedero a otro.

La mosquita blanca *T. vaporariorum* como vector de virus en frijol común

Según Morales y Anderson (2001), el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) no es un hospedero preferido por *T. vaporariorum*, pero en ausencia de otras especies más adecuadas, este insecto puede alimentarse y reproducirse sobre esta leguminosa causando un daño severo como plaga y como vector de virus.

El frijol es uno de los hospederos más afectados por los begomovirus en más de 14 países de América Latina, donde varias epidemias han tenido lugar en las últimas décadas.

Los virus del mosaico dorado y el mosaico dorado amarillo son los más devastadores y los que han representado la mayor amenaza a la producción de frijol en los trópicos americanos (Morales 2000; Morales 2001; Morales y Anderson 2001).

La mayor contribución en el control de los begomovirus que afectan el frijol en América Latina ha sido el desarrollo de variedades resistentes. Siendo las principales fuentes de resistencia los genotipos de frijol negro de origen mesoamericano y los pertenecientes a las razas Durango y Nueva Granada (Morales 2000; Morales 2001).

Desde la llegada a América de *T. vaporariorum* y su continua expansión, nuevos virus han aparecido en diferentes países de América Latina. Ese es el caso del Virus del arrugamiento foliar del frijol, virus del mosaico enano del frijol y virus del mosaico cálido del frijol.

Control Biológico de *T. vaporariorum*

Parasitoides

Los parasitoides son insectos que se desarrollan durante su estado larval en los tejidos de otros artrópodos a los cuales terminan matando. Varios trabajos han sido adelantados como contribución a aclarar la taxonomía y conocimiento de los parasitoides de las principales especies de mosquitas blancas (Viggiani & Battaglia 1983; Viggiani 1989).

Los géneros *Encarsia*, *Eretmocerus* y *Amitus*, son considerados como los más promisorios en los programas de control biológico de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* y son los más estudiados en sus aspectos biológicos e interacciones planta-plaga-parasitoide, siendo por mucho *Encarsia formosa* Gahan, la especie mejor conocida y más estudiada (Gerling, 1990).

Encarsia sp

López y Ávila (1988) señalan que las hembras del género *Encarsia* se desarrollan como parasitoides primarios a partir de huevos diploides puestos dentro del cuerpo de las ninfas de mosca blanca preferiblemente en tercer y cuarto instar. La larva de *Encarsia* pasa por tres instares en su desarrollo, alimentándose de todo el contenido interno del cuerpo del huésped. Terminado el período larval el parasitoide descarga el meconio a lo largo del margen interior de la piel vacía del huésped. La pupa se forma llenando toda la cavidad del huésped, tomando la misma posición ventral de éste, pero terminado el período de pupa, el nuevo adulto gira a una posición dorsal para perforar un hueco de salida en la parte dorso anterior del huésped.

Eretmocerus sp

Todas las especies conocidas en este género son endoparasitoides solitarios de ninfas de mosquita blanca (Gerling, 1990). Los huevos son depositados debajo del cuerpo de la ninfa y al hacer eclosión la larva en primer instar, penetra en el cuerpo del huésped. La larva de este parasitoide también pasa por tres instares en su desarrollo y se alimenta de los fluidos internos del huésped. No descarga meconio al final del período y las sustancias de desecho sólo son descargadas a la salida del adulto, que emerge por un hueco que hace en la parte anterodorsal de la piel vacía del huésped. Los machos se desarrollan como parasitoides primarios en un período más corto que las hembras (Gerling, 1966).

***Amitus* sp**

Los estudios con este género son un poco más escasos que en los dos anteriores. Algunas especies se desarrollan en forma gregaria con tres o cuatro adultos del parasitoide por cada huésped, pero las especies registradas atacando a *T. vaporariorum* y *B. tabaci* son solitarias. *Amitus fuscipennis* (MacGown & Nebeker) es una especie estudiada en Colombia y considerada como uno de los enemigos naturales más promisorios para el control de *T. vaporariorum* en condiciones de campo. La hembra de *Amitus* deposita el huevo por debajo del cuerpo de la ninfa y la larva se desarrolla como endoparasitoide, pasando por tres instares, pupa dentro de la piel vacía del cuarto instar de la mosquita blanca y la pupa está envuelta en una piel de color negro y no melanizada a la piel huésped como lo hace *E. formosa* (Gerling, 1966).

Depredadores

La información acerca de los depredadores de moscas blancas es bastante limitada comparada con los parasitoides. Especies depredadoras de mosquita blanca han sido reportadas en cuatro órdenes de insectos y dos órdenes de arácnidos. Las familias que presentan mayor número de especies registradas son Coccinellidae que prevalecen en climas cálidos donde las plagas y los depredadores viven en campo abierto todo el año, el mayor número de depredadores de *B. tabaci* están en esta familia y en la familia Phytoseiidae del orden Acarina y es la única especie de mosquita blanca sobre la cual hay registro de ácaros depredadores.

El mayor número de especies depredadoras de *T. vaporariorum* se encuentra registrado en el orden Hemiptera y han sido estudiadas en el Japón y Europa en condiciones de invernadero. En Colombia la única especie sobre la cual se han adelantado estudios, es el coccinélido *Delphastus pusillus* (Leconte) la cual es

considerada como bastante promisorio para planes futuros del control biológico de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* (ICA, 1990; 1993).

Cuadro 1. Número de especies depredadoras registradas atacando las seis especies más estudiadas de mosquita blanca (Gerling 1990).

Mosca blanca	Coleóptera	Hemíptera		Díptera	Neuróptera		Acarina
	Cocc	Anth	Mird		Con	Chrys	Phytos
<i>Aleuricanthus woglumi</i>	16	-	-	2	-	-	-
<i>Aleurothrixus floccosus</i>	7	-	-	-	-	-	-
<i>Bemisia tabaci</i>	10	1	-	2	1	7	12
<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	1	6	3	2	-	1	-
<i>Aleurolobus barodensis</i>	5	-	-	-	-	1	-
<i>Aleurodicus dispersus</i>	12	-	-	1	-	2	-

Cocc=Coccinelidae; Anth=Anthocoridae; Mird=Miridae; Con=Coniopterigidae; Chry=Chrysopidae; Phytos=Phytoseiidae.

Hongos Entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son microorganismos capaces de infectar y desarrollar una enfermedad en un insecto huésped al cual generalmente terminan matando. Los hongos entomopatógenos también presentan amplias perspectivas para el control biológico de la mosquita blanca.

Se han descrito más de 750 especies de hongos entomopatógenos y el aislamiento de nuevas cepas. Dentro de los más utilizados a nivel mundial se encuentran *Metarhizum anisopliae* (33.9%), *Beauveria bassiana* (33.9%), *Isaria fumosorosea* (5.8%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%) (de Faria y Wraight, 2007).

Condiciones adecuadas para la proliferación de los hongos entomopatógenos

Una epizootia causada por hongos entomopatógenos está fuertemente influenciada por factores climatológicos como son los rayos ultravioleta, la temperatura, la humedad relativa, y los fungicidas, los cuales afectan la viabilidad y la persistencia de las estructuras infectivas de los hongos entomopatógenos, específicamente las esporas. La susceptibilidad y la relación con los hospederos se relacionan con los nutrimentos presentes en los insectos, que son el medio para la propagación dispersión y persistencia de los hongos. Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de humedad y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Hajek, 1997).

Doberski (1981), realizó ensayos para determinar el efecto de la humedad y temperatura de hongos entomopatógenos, encontrando que *P. fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* infestaron a temperatura de 2 °C contrario a *Metarhizium anisopliae* que no tiene efectividad por debajo de los 10 °C, concluyendo que los hongos actúan de manera significativa a temperaturas de 15 a 20 °C pero la optima es de 25 °C, hallando similitud con los resultados de Hallsworth y Magan (1999), quienes afirman que los rangos de temperatura para el crecimiento óptimo de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *I. fumosorosea* son de 25, 30 y 20 °C, respectivamente. De acuerdo a Ignoffo (1992) los hongos entomopatógenos son exitosos cuando la humedad relativa (HR) se encuentra en un rango del 80 al 100 %.

Isaria fumosorosea

El hongo entomopatógeno *I. fumosorosea* (Wize) Brown y Smith es un patógeno de amplio intervalo de hospederos y gran distribución geográfica, que ha sido aislado del suelo y de insectos de diversos órdenes como homópteros, coleópteros y colémbolos, es utilizado para el control de plagas que afectan a cultivos de gran importancia económica. Entre ellas se encuentran *T. vaporariorum*, *Lyriomisa trifolli* y *Thrips palmi* (Osborne y Landa, 1992).

Ubicación taxonómica

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Cordycipitaceae

Género: *Isaria*

Especie: *Isaria fumosorosea*

(Luangsa-ard et al., 2005)

Descripción de *I. fumosorosea*

Samson (1974) Describe al género *Isaria* y menciona dentro de sus características morfológicas la presencia de hifas hialinas, amarillentas, septadas, la mayoría con la pared lisa, los conidióforos están formados de 4 a 6 fiálides constituidas por una parte basal cilíndrica o hinchada. Las conidias, cilíndricas o fusiformes, se disponen en enredadas cadenas basípetas, están formadas por una sola célula (raramente dos), son hialinas, ligeramente pigmentadas y tienen pared lisa o equinulada (Figura 7). La pared de las clamidósporas cuando está presente, es más gruesa o equinulada, lisa, u ornamentada.

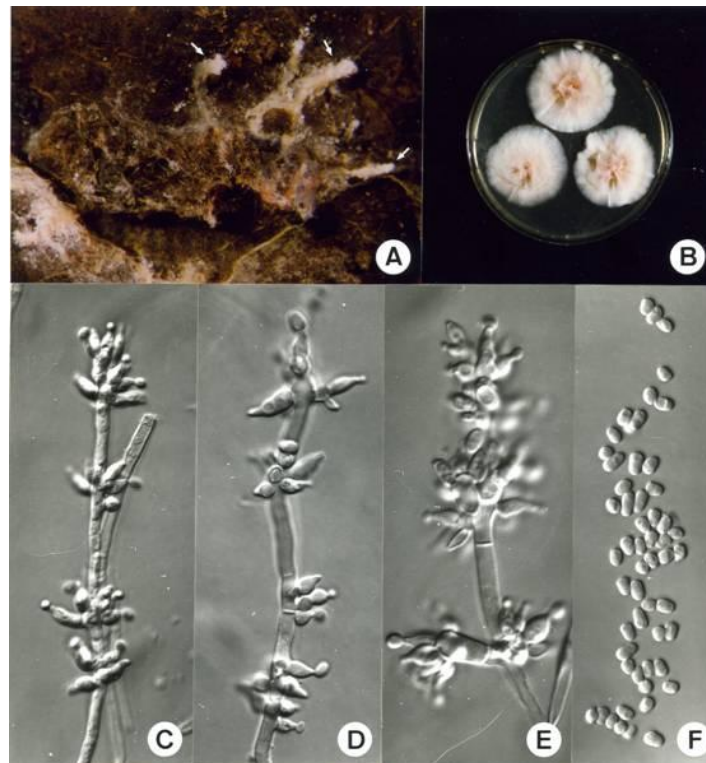


Figura 7. *Isaria fumosorosea*. A) Habitación en larvas de lepidópteros. Sinnemata derivada del huésped infectado. (Flechas). B) Colonias en medio de cultivo SDY. C-E) Conidióforos y células conidiogénas. F) Conidias.

Biología y ecología

El ciclo de vida de este hongo consiste en las siguientes etapas: adhesión de las conidias o blastosporas al huésped, germinación, penetración, crecimiento vegetativo y conidiogénesis. En condiciones de campo, el hongo crece y se desarrolla rápidamente sobre todos los estadios de mosca blanca, completando su ciclo de vida a las 120 horas (Osborne & Landa, 1992). En medio de cultivo sintético, las colonias de *I. fumosorosea* crecen de manera moderada cuando son incubados a 24 °C (25–30 mm de diámetro a los 7 días y 50-65 mm a las 2 semanas).

Modo de acción

El ciclo infeccioso de *I. fumosorosea* es particularmente rápido bajo condiciones óptimas. El proceso de infección se inicia a partir de la unión de un conidio o blastospora del hongo a la cutícula del huésped. Los primeros síntomas de infección aparecen a las 24-48 horas. Cuando la conidia o blastospora se adhiere a la cutícula del huésped, germina y se observa un aparente crecimiento saprofito en el exterior del insecto. La infección se inicia a partir de la invasión por parte de la hifa del hongo por los orificios naturales del insecto o bien a través de los segmentos del cuerpo (Osborne y Landa, 1992).

Los conidios adheridos al dorsum del insecto están presentes en el hemocele del huésped a las 24 horas, multiplicándose mediante la formación de cuerpos hifales y blastosporas. El micelio aparece a las 48 horas y a las 72 horas ocurre la esporulación, alcanzándose un máximo a los 5-7 días (Osborne & Landa, 1992; Smith, 1993; Altre & Vandenberg, 2001).

Medios de Cultivo para los Hongos Entomopatógenos

Cañedo y Ames (2004) definen que el medio de cultivo es una sustancia o solución que permite el desarrollo de microorganismos, mientras que el cultivo es el producto del crecimiento de un organismo. Los medios utilizados en micología deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo y reproducción de los hongos (carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, entre otros) y un pH ligeramente ácido (6 – 6.3) para facilitar su crecimiento e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos. Se puede añadir antibióticos para inhibir el crecimiento de bacterias saprofitas que suelen contaminar las muestras.

Medio sólido

Para conseguir un medio sólido se debe agregar una sustancia solidificante como el agar (gelatina vegetal) o el agar (polisacáridos provenientes de algas), el cual no tiene valor nutritivo sino que sirve simplemente para mantener la humedad por un tiempo más o menos prolongado (Figura 8 B). La humedad es fundamental para el desarrollo de los hongos, porque cuando ésta comienza a disminuir, la formación de micelio también disminuye y el hongo tiene que asegurar su perpetuidad formando estructuras propagativas (esporas, conidias) y de conservación (clamidosporas). El agar empieza a derretirse a partir de 80°C y soporta temperaturas altas sin descomponerse, solidificándose entre los 35 y 50 °C (Cañedo y Ames, 2004).

Medio líquido

Los medios líquidos son aquellos a los que no se incorpora la sustancia solidificante, pudiendo tener la misma composición que los medios sólidos. Son utilizados para obtener una producción masiva con fines de inoculación en sustratos de propagación (Figura 8 A) Los medios líquidos generalmente se colocan en un

agitador continuo durante tres o más días de acuerdo a la especie que se está propagando. (Cañedo y Ames, 2004).

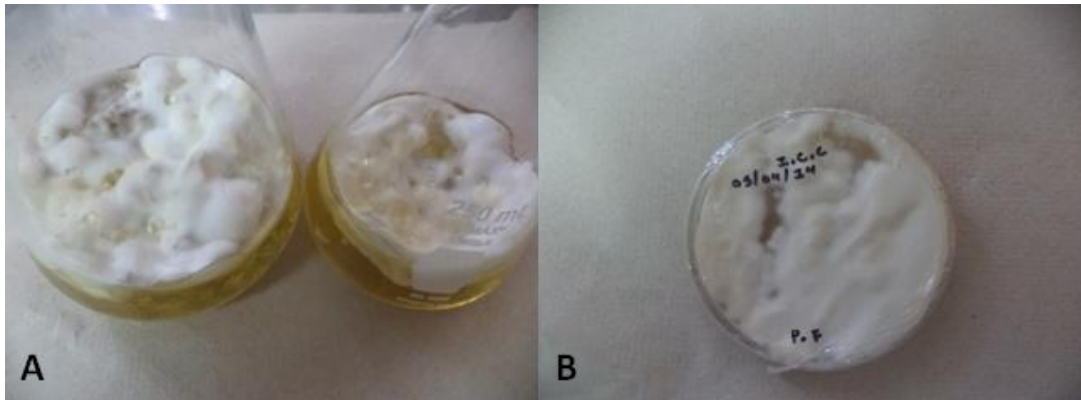


Figura 8. Medios de cultivo. A) *I. fumosorosea* en medio líquido M1. B) *Isaria fumosorosea* en medio solido SDY (Sucrosa, dextrosa y extracto de levadura)

Formulación de hongos entomopatógenos en el control biológico

Según Alean Carreño (2003), la formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo se encuentre protegido al momento de la aplicación, evitar la sedimentación y la formación de grumos que tapen las boquillas. Para Tanzini *et al.*, (2001), el éxito de un bioplaguicida de origen microbiano radica en una buena formulación, que depende de las características del microorganismo, su relación con los componentes de la formulación y el ambiente de almacenamiento.

La estabilidad, viabilidad y persistencia en campo de los entomopatógenos es en gran medida determinada por el tipo de formulación (Cortez y Madrigal, 2006). Para Carballo (1998), se debe tener en cuenta diferentes aspectos para la producción de productos biológicos tales como un medio de cultivo óptimo, un

sistema de obtención masiva del inóculo, garantizar la estabilidad del producto y determinar las condiciones de almacenamiento, así como bioensayos de laboratorio, invernadero y campo que confirmen la efectividad del producto formulado.

El mismo autor, también señala que los materiales utilizados para la formulación no deben tener actividad biológica ni afectar la actividad del hongo, deben ser inocuos al ambiente, presentar características físicas que permita la mezcla de los conidios, facilitar la aplicación del producto y que sean económicamente rentables. Entre los sustratos descritos por Vélez et al. (1997), están el arroz, trigo y medios líquidos.

De acuerdo a Medugno *et al.*, (2007) y Teera-Arunsiri *et al.*, (2003), se han desarrollado los polvos humectantes como formulación seca, debido a su larga vida de conservación, buena miscibilidad en agua que permite formar una suspensión homogénea de fácil aplicación con un equipo atomizador; sin embargo es necesario realizar pruebas de contenido de humedad y tamaño de la partícula. Según Monzón (2001), la viabilidad del hongo no debe ser menor de 95% y el contenido de humedad entre cuatro a seis por ciento.

Para Fernández y Juncosa (2002), la temperatura y la humedad son las principales limitantes en la eficacia de los hongos que se han contrarrestado con la adición de coadyuvantes que mejoran la germinación de esporas, tales como el aceite de maíz sin refinar que reduce los requerimientos de humedad, o los surfactantes como Tween 20 que mejora la dispersión de las esporas en gotas, en la germinación, infección y desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

La fase de laboratorio se realizó en el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) ubicado en Av. México 300 Col. Latinoamericana, Saltillo, Coahuila.

La fase de aplicación en campo se llevó a cabo en el invernadero experimental del departamento de Parasitología de la Universidad Autonomía Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. El invernadero está Localizado a 25° 21' 07" N, 101° 01' 36" O con una altitud de 1782 msm.

Obtención de la cepa

Se utilizó el hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* de la cepa con clave PFG/MS1, la cual fue aislada de una mosquita blanca en Culiacán, Sinaloa, Mex. Actualmente se encuentra depositado en el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) que forma parte del corporativo Bioindustrial del Norte.

Caracterización de *I. fumosorosea*

Se tomó una asada de una placa petri la cual se colocó en un portaobjetos y se le agrego azul de algodón, se cubrió la laminilla con un cubreobjetos y se observó al microscopio óptico con contraste de fase y aumento de 400X. Se determinó si las características observadas concuerdan con las descritas por Samson (1974) para la especie.

Se observó en la laminilla hifas septadas con pared lisa, conidióforos formados por 4 a 6 fiálides, con conidias fusiformes de pared lisa, coincidiendo con la descripción de Samson (1974).

Reproducción de *I. fumosorosea* en medio de cultivo SDY (Sabourad, dextrosa y extracto de levadura)

La cepa se reprodujo utilizando el medio de cultivo solido SDY con el fin de obtener el material biológico suficiente para realizar la investigación.

Se mezclaron los componentes (Cuadro 2) en un matraz con 1 litro de agua destilada, se agitó hasta obtener una mezcla homogénea, posteriormente se esterilizó el material en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos. Después de enfriarse se vació en cajas Petri dentro una cámara de flujo laminar. Al solidificarse el medio se inoculó el hongo usando el método de asada y en seguida se incubaron las placas a 28 °C durante cuatro días hasta que comenzó a crecer la colonia, este método es el recomendado por García *et al.*, (2011).

Cuadro 2. Reactivos utilizados en el medio de cultivo SDY

Reactivo	Cantidad (1L)
Agua destilada	1L
Agar Dextrosa Sabouraud	65 g
Extracto de levadura	10 g
Agar bacteriológico	1 g

Reactivación de la cepa *I. fumosorosea* en medio tenebrio

Se utilizó el medio tenebrio (Cuadro 3) con el fin de reactivar la patogenicidad de *I. fumosorosea*,

Se utilizó al insecto *Tenebrio molitor* más conocido como gorgojo negro. Se maceró hasta obtener un polvo fino el cual se agregó en 1 L de agua destilada, posteriormente se le agregó gentamicina (50 µl/L) utilizando micropipeta, Se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos, después de enfriarse se le agregó 1cm² de *I. fumosorosea* obtenido de una placa petri, se esperó el desarrollo del hongo y esporulación a temperatura ambiente.

Cuadro 3. Componentes del medio tenebrio

Ingrediente	Cantidad
Agua destilada	1L
Polvo de tenebrio	5 g/L
Gentamicina	50 µl/L

Inoculación y reactivación de *I. fumosorosea* en larvas de *T. molitor* y *G. mellonella* en cámaras húmedas

Se inoculó a *I. fumosorosea* en larvas de tenebrio (Figura 9) y galleria para observar el proceso de infección y promover la reactivación de la patogenicidad. Posteriormente se aisló el hongo y se resembró en medio SDY.

A una placa con *I. fumosorosea* se le agregó agua estéril y se hizo un barrido de esporas utilizando un cubre objetos estéril. Las larvas se sumergieron durante 1 minuto en la suspensión de esporas y se depositaron en placas petri con división, las cuales contienen un fragmento de algodón estéril húmedo.

Las placas se incubaron durante 4 días a una temperatura de 28°C, posteriormente se mantuvieron a temperatura ambiente.

Los síntomas iniciales de las larvas infectadas fueron manchas oscuras en el tegumento y pérdida de movimiento, 4 días después de la inoculación. La emergencia del hongo se presentó hasta el decimo día cubriendo a las larvas con micelio de color blanco. Ninguna larva de tenebrio o galleria sobrevivió a la infección del hongo.

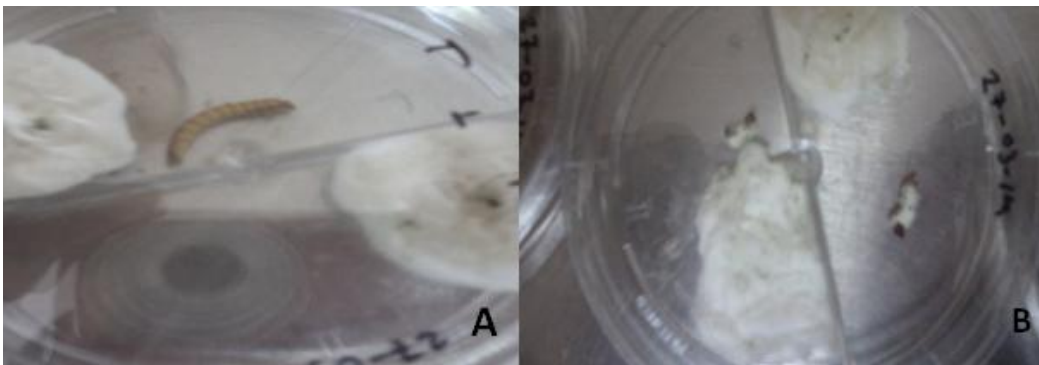


Figura 9. A) Larva de *T. molitor* recién inoculada. B) Crecimiento de *I. fumosorosea* en larvas de *T. molitor*

Producción de *I. fumosorosea* en granos de arroz

Para realizar el bioensayo se requiere producir el hongo en mayor volumen para cubrir de manera satisfactoria la prueba biológica.

Se calentó 1 litro de agua hasta alcanzar 80°C, se añadieron 600 g de arroz en el agua, posteriormente se agregaron 500 µl de gentamicina, 10 ml de cloro (Cuadro 4) y se contaron 2 minutos para apagar la flama. Se decantó el agua caliente y el arroz se enjuagó 3 veces con agua corriente, posteriormente se dejó secar y se separó en bolsas de plástico conteniendo 200 g de arroz cada una, estas fueron selladas y llevadas a esterilizar a una temperatura de 121°C durante 15

minutos. Para inocular *I. fumosorosea* en el arroz se utilizó extracto de soya inoculada con el hongo, la cual se agregó a las bolsas con el arroz (40 ml / bolsa). La producción se mantuvo a temperatura ambiente hasta la esporulación del hongo.

Cuadro 4. Componentes del medio arroz

Ingredientes	Cantidad 600g
Agua	1 L
Arroz	600 g
Gentamicina	500µl
Cloro	10 ml
Medio soya (inoculada)	120 ml

Conteo de esporas de *I. fumosorosea*

De la producción de *I. fumosorosea* en granos de arroz se tomaron 200 g y se depositaron en un matraz con 700 ml de agua destilada. Posteriormente se agitó el recipiente hasta observar el desprendimiento del hongo en los granos de arroz, en seguida se eliminaron los granos de arroz. De la suspensión resultante se tomó 5 ml con la pipeta y se depositó en un tubo de ensayo con 45 ml de agua destilada. (Dilución 1:10), Se continuó con las diluciones hasta obtener la proporción 1:1000.

Se tomaron 50 µl con la micropipeta de la dilución 1:1000 y se colocó en la cámara de Neubauer la cual se observó en un microscopio compuesto con una ampliación de 40x siguiendo la técnica descrita por Goettel e Inglis (1994). La concentración de esporas fue de 1×10^9 esp/ml.

Preparación de las suspensiones de esporas a diferentes concentraciones

En este trabajo se decidió utilizar las concentraciones 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 esporas/ml (Figura 10) y un control agua. La concentración resultante de la suspensión de esporas fue de 1×10^9 esp/ml, de acuerdo a esto se ajustaron las otras concentraciones (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 esporas/ml) utilizando la formula: $V = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1}$.

Una vez ajustadas las suspensiones se agregó tween 80 en cantidades de 1.5 μ l/ 50 ml. Y 150 μ l de adherente (Break thru[®]) para mejorar las propiedades físicas de las suspensiones, en el testigo solo se agregó el adherente.



Figura 10. Suspensiones de esporas a diferentes concentraciones

Establecimiento del cultivo de frijol (*P. vulgaris*)

Se estableció dentro del invernadero del departamento de parasitología en la UAAAN.

Se sembraron semillas de frijol (cv. Flor de mayo) en macetas de un 1L, las cuales contienen una mezcla de peatmoss, perlita mineral expandida y suelo (Figura 11). Los riegos se aplicaron a la base de la planta utilizando una regadera de orificios finos.



Figura 11 . A) Siembra de las semillas de frijol en las macetas. B) Plantas de frijol para infestar.

Establecimiento de la colonia de *T. vaporariorum*

Al aparecer la primera hoja trifoliada las plantas se colocaron entre maleza infestada con *T. vaporariorum*, la cual se encontraba en camas germinadoras dentro de un invernadero (Figura 12). Las plantas se expusieron durante 48 horas para conseguir un alto porcentaje de infestación con huevecillos. Al retirar las plantas de la maleza se eliminaron los adultos de *T. vaporariorum* con el fin de obtener una población de la misma cohorte, posteriormente se pasaron las plantas al invernadero

y se esperó hasta que apareciera el primer instar ninfal de *T. vaporariorum* para poder aplicar los tratamientos con *I. fumosorosea*.



Figura 12. A) Plantas de frijol entre la maleza para infestarse con *T. vaporariorum*
B) planta de frijol infestada con mosquita blanca.

Bioensayo 1. Infección de *T. vaporariorum* y evaluación de la patogenicidad de *I. fumosorosea* realizando una sola aplicación.

Durante el periodo experimental se registraron las temperaturas máximas y mínimas y la humedad relativa promedio utilizando un termómetro psicrómetro.

La aplicación de las suspensiones de esporas se realizó 7 días después de infestar las plantas con adultos de *T. vaporariorum*, cuando se presentó el primer instar ninfal. Se eligieron dos folíolos al azar de cada planta y se trazó en cada folíolo un círculo de 2 cm de diámetro cerca de la base de la hoja (Figura 13 A) utilizando un plumín de punta fina con el fin de tomar esta superficie como unidad de muestra y se contó el número de ninfas presentes en la superficie marcada utilizando una lupa.

La aspersión de la suspensiones se realizó empezando con el testigo para evitar contaminar el equipo de aplicación, posteriormente se asperjaron los tratamientos 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 esporas/ml tratando de lograr el mayor cubrimiento en el follaje de la planta utilizando un aplicador de bajo volumen, posteriormente se intercalaron las macetas de forma aleatoria.

Cuadro 5 . Bioensayo con esporas de *I. fumosorosea* a diferentes concentraciones contra *T. vaporariorum* realizando una aplicación.

Tratamiento	Formulación	Concentración esporas/ml	Forma de aplicación	Estado biológico de <i>T. vaporariorum</i>
T1		1×10^8		
T2	Tween 80+ Break thru	1×10^7		
T3		1×10^6	Aspersión foliar	Ninfa 1
Testigo	Break thru	-		

La evaluación del porcentaje de mortalidad se realizó 5 días después de la aplicación, el conteo de individuos muertos se realizó cortando las hojas marcadas de cada tratamiento para ser observadas en un microscopio estereoscopio. Se consideraron individuos muertos aquellos con cambios de coloración, brillo, forma, aspecto del cuerpo y crecimiento de micelio sobre estos (Figura 13 B), técnica utilizada por Pozo y Rodríguez (2003). El número promedio de ninfas por planta fue de 43.

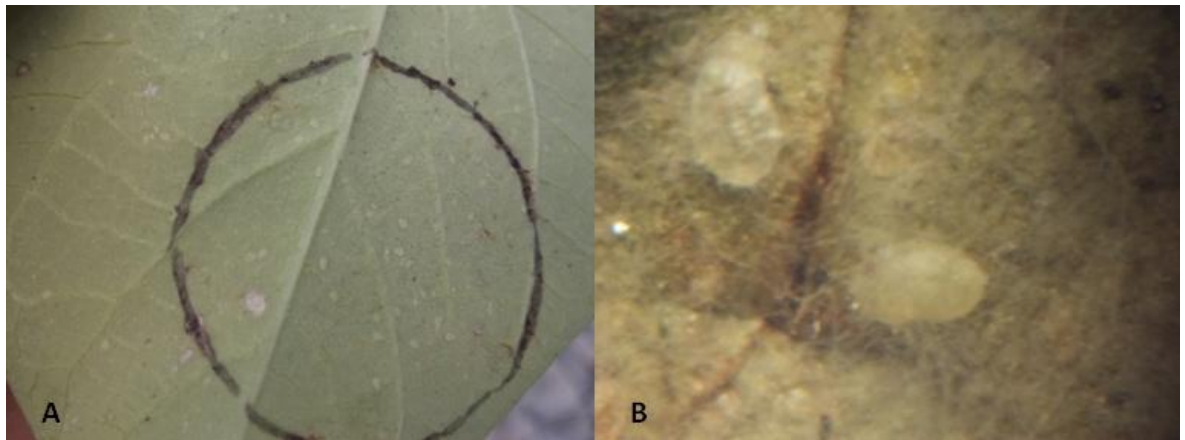


Figura 13. A) Hoja marcada, antes de la aplicación B) *I. fumosorosea* parasitando a ninfas de *T. vaporariorum*

Bioensayo 2. Infección de *T. vaporariorum* y evaluación de la patogenicidad de *I. fumosorosea* realizando dos aplicaciones.

De la misma forma que en el bioensayo 1 se eligieron dos folíolos al azar de cada planta y se delimitó el área de muestra.

La primera aplicación de esporas de *I. fumosorosea* se realizó a los 7 días después de la infestación con *T. vaporariorum* sobre ninfas de primer instar, la segunda aplicación se llevó a cabo 3 días después de la primera aplicación sobre las ninfas sobrevivientes de segundo instar. En ambas aplicaciones se utilizó un aplicador de bajo volumen tratando de cubrir todo el follaje de las plantas. El orden en que se asperjaron los tratamientos fue el mismo que en el bioensayo 1.

Cuadro 6. Bioensayo con 2 aplicaciones de esporas de *I. fumosorosea* a diferentes concentraciones sobre *T. vaporariorum*.

Núm. de aplicaciones	Tratamiento	Formulación	Concentración esporas/ml	Forma de aplicación	Estado biológico de <i>T.vaporariorum</i>
2	T1		1×10^8	Aspersión foliar	Ninfa 1 y 2
	T2	Tween 80+ Break thru	1×10^7		
	T3		1×10^6		
	Testigo	Break thru	-		

La evaluación del porcentaje de mortalidad se realizó 4 días después de la segunda aplicación. El criterio utilizado para determinar la mortalidad fue la técnica utilizada por Pozo y Rodríguez (2003), el número promedio de ninfas por planta fue de 52 por plata.

Igual que en el bioensayo 1 se registraron las temperaturas máximas y mínimas y la humedad relativa.

Diseño experimental y análisis de datos

Los tratamientos 1×10^8 , 1×10^7 y 1×10^6 esporas/ml y el control (agua destilada) fueron distribuidos en un diseño completamente al azar con 5 repeticiones cada uno. Cada unidad experimental consiste en una maceta con una planta a la cual se le marcaron 2 folíolos escogidos al azar como muestra.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), y comparación de medias (prueba Tukey, ≤ 0.05) con el programa de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5 Facultad de Agronomía UANL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo 1. Infección de *T. vaporariorum* con *I. fumosorosea* realizando una sola aplicación.

La temperatura media durante el experimento fue de 24°C siendo ideal para el desarrollo del hongo. Las temperaturas máximas y mínimas promedio fueron de 32 y 16 °C. Se ha reportado que la temperatura óptima para el crecimiento de *I. fumosorosea* es entre los 20 y 30 °C (Vidal *et al.*, 1997); sin embargo, se le ha identificado como una especie compleja en el sentido de que existen aislados que pueden crecer entre los 5 y 35 °C (Zimmermann, 2008), La humedad relativa promedio fue del 74 % (Figura 14). Condiciones de alta humedad (>85%) han sido reportadas como necesarias para que *I. fumosorosea* infecte a la mosquita blanca (Landa *et al.*, 1994).

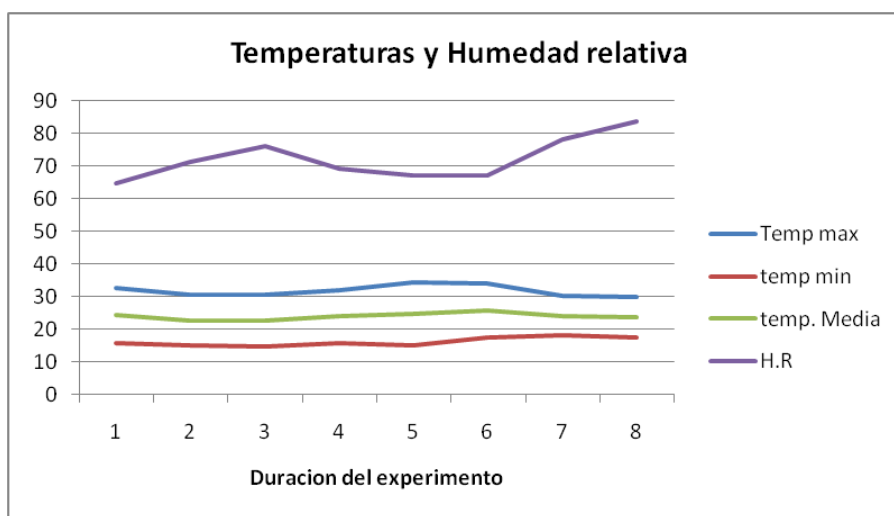


Figura 14. Temperaturas y Humedad relativa registradas durante el bioensayo 1

Se expone el análisis de varianza (Cuadro 7) en el cual se aprecia que el valor de $P=0.000$ asociado al resultado 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 7. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de *T. vaporariorum*

ANÁLISIS DE VARIANZA $\alpha=0.05$					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	7451.609375	2483.86987	179.634	0.000
ERROR	16	221.238281	13.827393		
TOTAL	19	7672.847656			
C.V. =9.04%					

Se observa que los cuadrados medios (Cuadro 7) reflejan la magnitud real de cada fuente de variación. Así, vemos que las variaciones debido a los tratamientos son mucho mayores que las variaciones debido al error lo cual indica que las diferencias observadas entre las concentraciones de cada tratamiento son significativas y que no se deben a pequeñas variaciones muestrales.

Se aprecia (Cuadro 8) que las concentraciones 1×10^8 y 1×10^7 son estadísticamente iguales, por lo tanto el porcentaje de mortalidad por infección en ambas es similar. La concentración 1×10^8 tuvo una efectividad del 61.20 % mientras que en la concentración 1×10^7 fue del 55.20 %. Para la concentración 1×10^6 la efectividad disminuyó al 36.24 %, pero aun siendo mayor en comparación con el testigo que mostro una mortalidad del 11.73 %.

Cuadro 8. Comparación de medias de la variable mortalidad de *T. vaporariorum* (prueba Tukey) 4 días después de la aplicación.

Variable mortalidad		
Tratamiento	Media	
1	61.2020	A
2	55.2620	A
3	36.2480	B
4	11.7380	C

Nivel de significancia = 0.05
 Tukey= 6.7350

T1= 1x10⁸, T2= 1x10⁷, T3= 1x10⁶, T4= testigo absoluto

Realizando una sola aplicación de la suspensión de esporas 1x10⁸ de la cepa PFG/MS1 se obtuvo un porcentaje aceptable de mortalidad del 61.20 %. Flores, *et al.*, (2013) obtuvieron un 48 % de mortalidad utilizando la misma concentración de esporas.

Por otro lado Ayhan y Kubilay (2005) realizaron la aplicación de 9 aislamientos de *I. fumosorosea* (1x10⁷ esporas/ml) ocasionando alrededor del 65 % de mortalidad acumulada, estos datos son superiores con un 9.74% en comparación con la cepa utilizada en esta investigación utilizando la misma concentración.

Al aplicar la suspensión 1x10⁶ esporas/ml el porcentaje de mortalidad fue bajo (36.24%). El porcentaje de mortalidad no es suficiente para integrar ésta concentración en un programa de manejo integrado de *T. vaporariorum*.

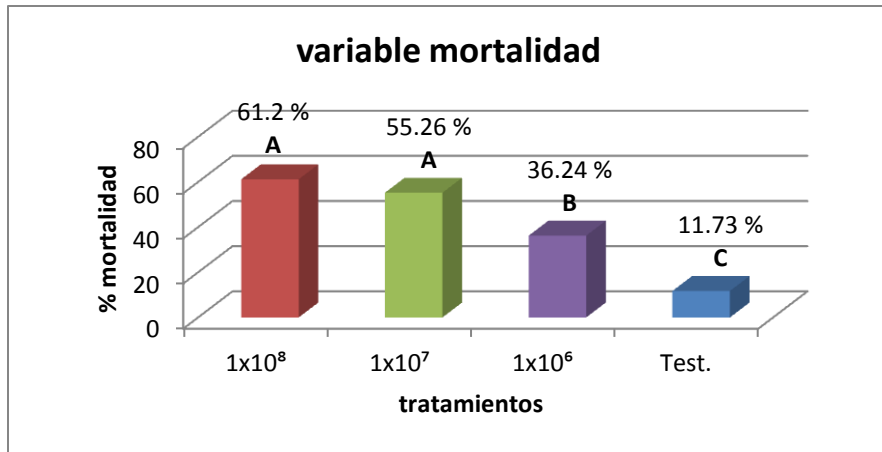


Figura 15. Mortalidad de *T. vaporariorum* causada por una aplicación de *I. fumosorosea* a diferentes concentraciones de esporas.

Bioensayo 2. Infección de *T. vaporariorum* con *I. fumosorosea* realizando dos aplicaciones.

Durante la realización de este bioensayo la temperatura fue ligeramente mayor ($2^{\circ}\text{C}\pm$) que en el bioensayo 1. La temperatura media fue de 26°C siendo óptima para desarrollo de *I. fumosorosea*, y las temperaturas máximas y mínimas promedio fueron de 35 y 17°C . La humedad relativa promedio fue baja alcanzando el 60% (Figura 16). Se observó en pocas ocasiones la formación de esporas sobre la superficie de ninfas muertas, lo que probablemente está asociado a la baja humedad relativa que se presentó durante el experimento. Se ha señalado que una vez que las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie se inicia la formación de esporas cuando la humedad relativa es alta (Pucheta *et al.*, 2006).

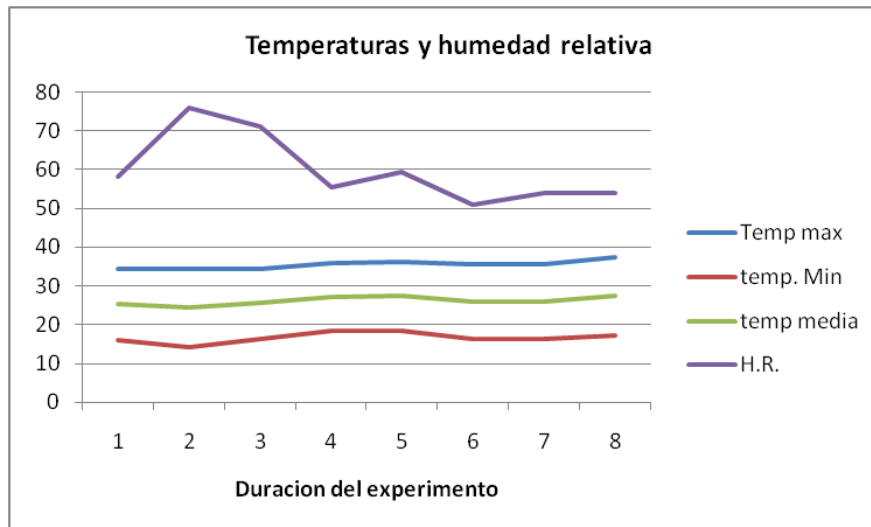


Figura 16. Temperaturas y humedad relativa registradas durante el bioensayo 2

El análisis de varianza (Cuadro 9) para este bioensayo refleja que el valor de $P=0.000$ asociado al resultado es menor que el nivel de significancia $= 0.05$ ($P \leq 0.05$), por lo tanto se rechaza la igualdad de medias. La variabilidad debida a los tratamientos claramente predomina sobre la del error lo cual indica amplias diferencias entre los tratamientos.

Cuadro 9. ANOVA de la variable porcentaje de mortalidad de *T. vaporariorum*, bioensayo 2.

Análisis de varianza $\alpha=0.05$					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	17806.80469	5935.601563	317.3588	0.000
ERROR	16	299.250000	18.703125		
TOTAL	19	18106.05469			
C.V.=7.00%					

Se aprecia (Cuadro 10) que los tres tratamientos y el testigo son estadísticamente diferentes y que hay un aumento en el porcentaje de mortalidad en comparación con el bioensayo 1.

Cuadro 10. Comparación de medias de la variable mortalidad de *T. vaporariorum* (prueba Tukey) 4 días después de la segunda aplicación

Variable mortalidad			
Tratamiento	Media		
1	91.504005	A	
2	76.237999	B	
3	67.152000	C	
4	12.384001	D	

Nivel de significancia = 0.05
 Tukey= 7.8330

T1= 1×10^8 , T2= 1×10^7 , T3= 1×10^6 , T4= testigo absoluto

La concentración 1×10^8 tuvo una efectividad del 91.5 %, los porcentajes de mortalidad para las concentraciones 1×10^7 y 1×10^6 fueron del 76.23 y 67.15 %, en el testigo el porcentaje de mortalidad fue similar al bioensayo 1 con 12.38 %

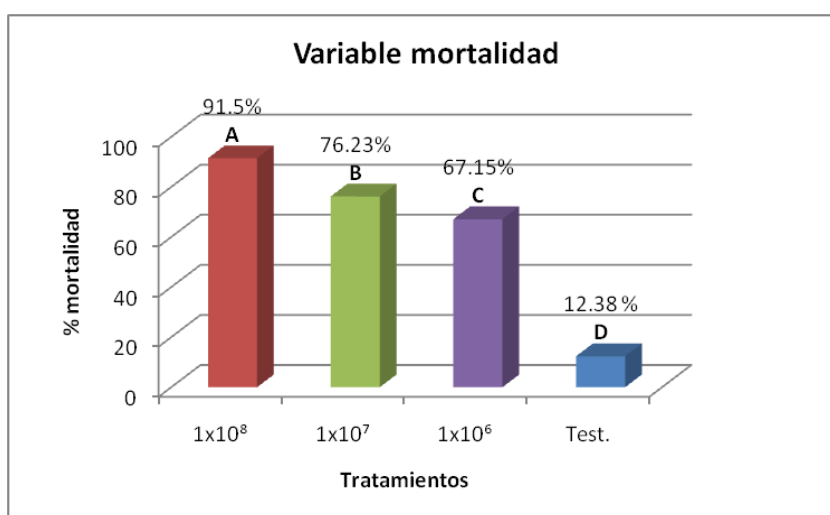


Figura 17. Mortalidad de *T. vaporariorum* causada por dos aplicaciones de *I. fumosorosea* a diferentes concentraciones de esporas.

Se observan (Figura 18) las diferencias entre las medias de los tratamientos al realizar una y dos aplicaciones de esporas de *I. fumosorosea* utilizando las mismas concentraciones.

Al realizar dos aplicaciones con la concentración 1×10^8 el porcentaje de control aumentó en un 30.3 %, con la concentración 1×10^6 el porcentaje aumentó un 30.91%, bajo las misma condiciones la concentración 1×10^7 mostro un incremento del 20.97 %. Observándose un déficit en el aumento de la mortalidad en comparación con las otras dos concentraciones. En el testigo no hubo cambio significativo al realizar las dos aplicaciones puesto que solo se aplico agua más adherente. El incremento de mortalidad fue del 0.65 %.

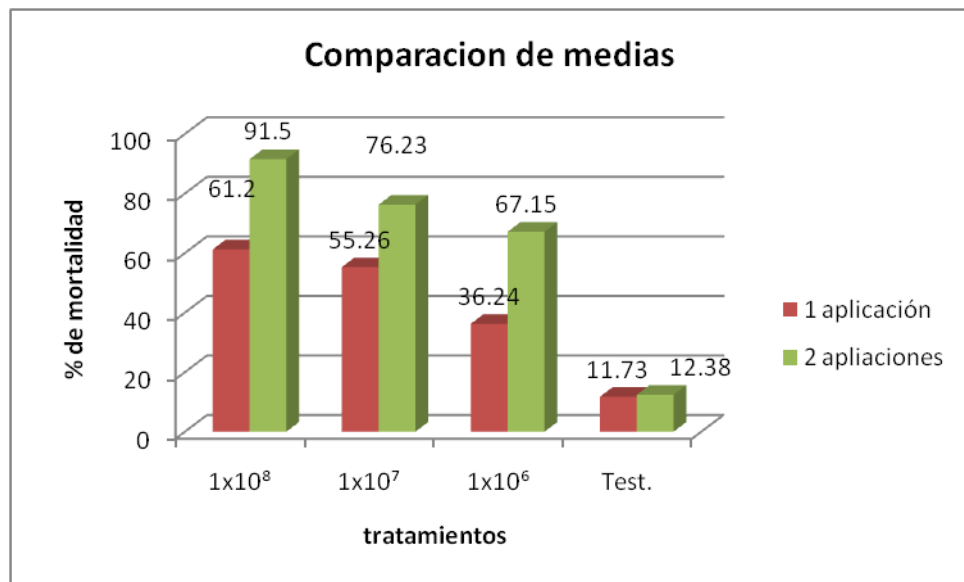


Figura18. Comparación de medias de los bioensayos 1 y 2

CONCLUSIONES

Las ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* son susceptibles a la patogenicidad de *Isaria fumosorosea* en condiciones de invernadero, puesto que se observaron claras diferencias en porcentaje en comparación con el testigo absoluto.

A medida que aumenta la concentración de esporas de *I. fumosorosea* la efectividad se ve reflejada en el porcentaje de mortalidad. En los dos bioensayos los tres tratamientos ejercieron un efecto positivo en el control de ninfas de mosca blanca, dentro de ellos la concentración 1×10^8 fue la que mejor efecto ejerció sobre las poblaciones de ninfas. Presentó hasta un 91.5 % de control, realizando dos aplicaciones.

La temperatura no fue un factor que limitara la patogenicidad de *I. fumosorosea* puesto que permaneció dentro de los intervalos que han sido reportados como favorables para el crecimiento del hongo. Sin embargo, la baja humedad ambiental influyó negativamente en la esporulación del hongo, principalmente durante el bioensayo 2.

En el bioensayo 1 en donde solo se realizó una sola aplicación los porcentajes de mortalidad fueron bajos, por lo tanto se debe utilizar la concentración más alta (1×10^8 esporas/ml) para integrarla en un programa de manejo integrado de la mosquita blanca, incluso se debe aumentar la concentración.

Al realizar dos aplicaciones se incrementa en promedio un 27% el porcentaje de mortalidad. E incluso se observa que se potencializa la acción del hongo como sucedió en el bioensayo 2 en la concentración 1×10^6 en la cual el porcentaje de control aumento un 31%.

La cepa con clave PFG/MS1 mostro potencial patogénico contra *Trialeurodes vaporariorum*. Recomiendo realizar dos aplicaciones utilizando la concentración 1×10^8 esporas/ml a intervalo de 3 días, e integrar otras alternativas de control para conseguir un manejo integrado de la mosquita blanca.

El uso de *I. fumosorosea* es una alternativa promisoro al problema de las plagas como la mosquita blanca y al uso excesivo de insecticidas químicos.

LITERATURA CITADA

- Al-Deghairi, M. A. 2008. Bioassay evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beuveria bassiana* Vuellemin against eggs and nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). Pakistan J. Biol. Sci. 11 (12): 1551-1560.
- Alean Carreño, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus sociales* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Trabajo de grado (Microbióloga Agrícola y Veterinaria) - Facultad de Ciencias Básicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Alean, I.; Morales, A.; Holguín, C. M. Bellotti, A. 2004. Patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de *Aleurotrachelus socialis* (Homóptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Revista Colombiana de Entomología (Colombia) v. 30 no. 1 p. 29-36.
- Alexopoulos, C. J. y C. W. Mins. 1979. Introductory micology. 3^a Ed. John Wiley and Sons New York.
- Altre, J.A and J.D. Vandenberg, 2001. Penetration of cuticle and proliferation in hemolymph by *Paecilomyces fumosoroseus* isolates that differ in virulence against lepidopteran larvae *Plutella xylostella*. J. Inver. Path., 78: 81-86.
- Anónimo, 1992. The sweetpotato whitefly research and action plant working group, University of California. Davis Folleto 2p
- Ayhan, G., and M. R. Kubilay. 2005. Pathogenicity of *Paecilomyces* spp. to the glasshouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, with some observations on the fungal infection process. Turk J. Agric. Forest. 29 (5): 331-339.

- Byrne, D. N.; Bellows, T.S.; Parrella, M.P. 1990. Whiteflies in agricultural systems, pp. 227-251.
- Cañedo, V. y Ames, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatogenos. Ed. Cañedo V., Ames T. Lima, Perú. P 18.
- Carballo, M.1998. Formulación de hongos entomopatógenos. Rev. Manejo Integrado de Plagas, v. 47, p. 1-4.
- Cardona, C. 1995. Manejo de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en frijol en la zona Andina: Aspectos técnicos, actitudes del agricultor y transferencia de tecnología. Memoria IV Taller Latinoamericano Sobre Moscas Blancas y Geminivirus, 16 – 18 octubre, Zamorano, HN. CEIBA 36(1): 53 64.
- Cortez-Madrugal, H. 2006. Efecto de coadyuvantes en *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare y Gams y su virulencia hacia *Toxoptera aurantii* Boyer. Revista Mexicana de Fitopatología. v. 24, p. 59-64.
- D'Alessandro CPS, Padin MI, Urrutia CC, López L. 2011. Interaction of fungicides with the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea*. Biocontrol Sci. Technol. 21: 189-197.
- De Faria, M., S. Wraight, 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control 43:237–256.
- Doberski, J. W. 1981. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. Journal of Invertebrate Pathology, v. 37, n. 2, p. 195-200.
- Fernández, C.; Juncosa, R. 2002. Biopesticidas: ¿la agricultura del futuro? Phytoma, v. 141, p. 14 – 19.

- Flores, M., A.; Pucheta, D., M.; Ramos, L., M. y Rodriguez, N., S. 2003. Estudio del hongo entomopatógeno *I. fumosorosea* como control microbiológico de la mosquita blanca *Bemisia tabaci*. Redalyc.org. Pp. 523-527.
- Garcia, G. I.; Amaya, R. I. y Gallegos, M. G. 2011. Análisis de hidrolasas de *Metarhizium anisopliae* en cultivo solido sobre espuma de poliuretano como soporte. Facultad de ciencias químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. P 2.
- Gerling, D. 1966. Studies with white fly parasites of southern California. II *Eretmocerus californicus* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae. Canadian Entomologist 98, 1316-1329.
- Gerling, D. 1990. Natural Enemies of Whiteflies: predators and parasitoids. Chapter 7, pp.147-185.in: Gerling D. (Ed.) Whiteflies: their Bionomics, Pest status and Management, 348pp. Intercept. Andover, UK.
- Hajek, A.E. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. Adv. Microb. Ecol. 15: 193-249.
- Hallsworth, J. E.; Magan, N. 1999. Water and temperature relations of grown of entomopatógenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. Journal of Invertebrate Pathology, v. 74, n. 3, p. 261-266.
- Ignoffo, M.C. 1992. Environmental Factor Affecting Persistence of Entomopathogens: Biological. Control of Insect research Laboratory USo Department of Agricultural Research Service Columbia, MO, 65205, USA; Vol. 75, No (4). 1-6P.
- Instituto Colombiano Agropecuario. 1990. Sección Investigación Básica Agrícola – Entomología. Santafé de Bogotá, Colombia. “Excelente Control”. Notas y Noticias Entomológicas (Colombia). Enero -Febrero p.1.

- Instituto Colombiano Agropecuario. 1993. Sección Investigación Básica Agrícola - Entomología. Santafé de Bogotá, Colombia. "Diferencia significativa" Notas Entomológicas (Colombia) Marzo- Abril p. 14.
- Landa Z, Osborne L, Lopez F, Eyal J. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. *Biol. Control* 4: 341-50.
- López-Ávila, A. 1988. A comparative study of four species of *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) as potential control agents for *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homóptera: Aleyrodidae). Unpublished Ph.D. Thesis. University of London, 1-302.
- LuangsaArd JJ, Hywel Jones NL, Manoch L, Samson RA. 2005. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species. *Mycol. Res.* 109: 581-589.
- Medugno, C.; Ferraz, A.; Freitas, C. 1997. Evaluation of a wettable powder formulation for the nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis* (Lep.:Noctudae). *Pestic. Sci.*, v. 51, p. 153 -156.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. Manejo Integrado de Plagas*, v. 63, p. 95-103.
- Morales, F. J. 2000c. English summary. En: *El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina*. F. J. Morales (ed.). Palmira, Valle del Cauca, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p. 159-167.
- Morales, F. J. 2001. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci* transmitted geminiviruses. *Crop Protection* 20: 825-834.

- Morales, F.J.; Anderson, P.K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology* 146: 415- 441.
- Ortega, A.L.D. y H., González H. 1989. Mosquitas Blancas (Homoptera: Aleyrodidae) Vectores de virus en hortalizas. Colegio de Posgraduados, Chapingo, México. 48-49p.
- Osborne, L. S., and Z. Landa. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomol.* 75 (4): 456-471.
- Pozo N., M., y A. Rodríguez D. 2003. Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. *Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas. España* 29 (2): 211- 218.
- Pucheta DM, Flores MA, Rodríguez NS, De la Torre MM. 2006) Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31: 856-860.
- 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. Colomb. Entomol.* 27 (1-2): 39-43.
- Rodríguez, I.; Cardona, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle del Cauca. *Rev. Colomb. Entomol.* 27 91-2) 21-26.
- Sansom, R.A. 1974. Paecilomyces and some allied Hiphomycetes. *Estud. Mycol.* 6: 1-119.
- Sansom, R. A. 1988. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. *Academic Pres. Cap. 6. Pp.* 194-222.
- Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos (SARH). 1992. Programa Nacional de Mosquita Blanca. Dirección General de Sanidad Vegetal. 44p.

- Smith, P. 1993. Increased infectivity of oil and emulsifiable oil formulations of *paecilomyces fumosoroseus* conidia to *Bemisia tabaci*. Dep. Biology, imperial college of science, silwood park. P. 82.
- Tanzini, M. R.; Batista, S.; Setten, A.; Toschi, N. 2001. Compatibilidad de agentes tensoactivos con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica. n. 59, p. 15 – 18.
- Teera-Arunsiri, A.; Supphantharika, M.; Ketunuti, U. 2003. Preparation of spray – dried wettable powder formulations of *Bacillies thuringiensis*-based Biopesticides. J. Econ. Entomol., v. 96, n. 2, p. 292-299.
- Vázquez-Moreno LL. 2002. Avances del control biológico de *Bemisiatabaci* en la región neotropical. Man. Integr. Plagas 66: 82-95.
- Vélez, P. A.; Posada, F. J.; Marin, P.; Gonzalez, M. T.; Osorio, E.; Bustillo, A. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchiná: Centro Nacional de Investigaciones de café. p. 37. (Boletín Técnico, 17).
- Vidal C, Fargues J, Lacey. 1997. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of temperature on vegetative growth. *J. Invert. Pathol.* 70: 1826.
- Vidal C, Fargues J. 2007. Climatic constraints for fungal biopesticides. In Ekesi S, Maniania NK (Eds.) Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management. Research Signpost. Kerala, India. pp. 39-55.
- Viggiani, G. 1989. Notes on some Nearctic and Neotropical *Encarsia* Foerster (Hymenoptera: Aphelinidae) Bolletino del Laboratorio di Entomologia agraria "Filippo Silvestri" Portici 46, 207-213.

- Viggiani, G. and Battaglia, D. 1983. Le specie italiane del genere *Eretmocerus* Hald. (Hymenoptera: Aphelinidae) Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" Portici 40,97-101.
- Westwood, J. O. 1856. The new Aleyrodes of the greenhouse. *Gardeners Chronicle* 1856: 852-852 [852].
- Wraight SP, Carruthers RI, Jaronski ST, Bradley CA, Garza CJ, Galaini-Wraight S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biol. Control* 17: 203-217.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinose* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Sci. Technol.* 18: 865-901.