

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS**

**"AISLAMIENTO Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO QUE CAUSA
LA MUERTE DE LA MOSCA BLANCA"
(*Homóptera: Aleyroridae*)**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

FRANCISCO JAVIER BAL SALAZAR

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

**SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE LICENCIADO**

Guatemala, enero del 2,001

**PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central**

DL

01

+(1947)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO

VOCAL PRIMERO

VOCAL SEGUNDO

VOCAL TERCERO

VOCAL CUARTO

VOCAL QUINTO

SECRETARIO

Ing. Agr.

Ing. Agr.

Ing. Agr.

Ing. Agr.

Prof.

Br.

Ing. Agr.

Edgar Oswaldo Franco Rivera

Walter Estuardo García Tello

William Roberto Escobar López

Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa

Jacobo Bolvito Ramos

José Baldomero Sandoval Arriaza

Edil René Rodríguez Quezada

Guatemala, enero del 2,001

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Distinguidos miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el trabajo de tesis titulado

**"AISLAMIENTO Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO
QUE CAUSA LA MUERTE DE LA MOSCA BLANCA"
(*Homóptera: Aleyroridae*)**

Presentado como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

En espera de su aprobación, me es grato presentarles mi agradecimiento

Atentamente

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized circular flourish followed by a long horizontal stroke extending to the right.

FRANCISCO JAVIER BAL SALAZAR

ACTO QUE DEDICO

- A:**
- DIOS:** Suya es la honra y la gloria, por iluminarme y permitirme culminar mi carrera.
- MIS PADRES:** Pio Bal Coló.
María del Carmen Salazar de Bal.
Seres abnegados y sublimes a quienes debo mi ser, como un agradecimiento a sus múltiples sacrificios por guiarme hacia un mejor futuro.
- MI ESPOSA:** Gloria Antonieta Cúmez Simón
Por su amor, comprensión y apoyo.
- MIS HIJAS:** Merlen Dayana Del Rosario y
Heyli Gabriela
Serán siempre la luz de nuestro hogar.
- MIS HERMANAS:** Que Dios las ilumine en todo momento.
- MIS SUEGROS:** Como una muestra de afecto.
- MIS ABUELOS:** José María Salazar (Q.E.P.D.) y Margarita Capir de Salazar.
- MIS TIOS Y TIAS:** Respeto y aprecio.
- MIS PRIMOS Y PRIMAS:** Con especial cariño.
- MIS SOBRINOS:** Como ejemplo de lucha.
- MIS CUÑADOS:** En especial.
- MIS AMIGOS:** Con quienes compartimos momentos estudiantiles inolvidables.

TESIS QUE DEDICO

A:

Guatemala

Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Agronomía

San Juan Comalapa, Chimaltenango

Todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación

Mis asesores

Ing. Agr. Francisco Cárdenas Marroquín

Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada

Por su valiosa colaboración y apoyo en la presente investigación.

En especial

Ing. Agr. José Domingo Mendóza

Ing. Agr. Marco Antonio Nájera Caal

Por su apoyo desinteresado en la realización de la presente investigación.

AGRADECIMIENTOS

A:

Mis asesores Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada e Ing. Agr. Francisco E. Cárdenas Marroquín, por su incondicional apoyo y entrega para la realización del presente trabajo.

Ing. Agr. Alvaro Hernández e Ing. Agr. William Escobar por su contribución en el desarrollo de la presente investigación.

Ing. Agr. Ronald Estrada, por su sabiduría y apoyo incondicional para la orientación en la presente investigación.

Ing. Francisco A. Ericastilla por su apoyo en todo momento.

FONDO DE DESARROLLO INDIGENA GUATEMALTECO "**FODIGUA**"

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PAGINA
1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACION	3
4. MARCO TEORICO	
4.1. MARCO CONCEPTUAL	4
4.1.1 Mosca blanca	4
4.1.1.1 Taxonomía y biología de la mosca blanca	5
4.1.1.2 Ciclo biológico de la mosca blanca	6
4.1.1.3 Distribución geográfica de la mosca blanca	8
4.1.1.4 Daños que causa la mosca blanca	8
4.1.1.5 Geminivirus transmitido por la mosca blanca	9
4.1.1.6 Importancia económica de la mosca blanca	9
4.1.2 Enfermedades fungosas de insectos	10
4.1.3 Control biológico	10
4.1.3.1 Importancia del control biológico	11
4.1.3.2 Los hongos entomopatógenos en el control biológico	11
4.1.4 Virulencia de entomopatógenos	12
4.1.5 Manejo integrado de la mosca blanca	13
4.1.6 Colecta de insectos	14
4.1.7 Aislamientos de patógenos	14
4.1.7.1 Técnicas de aislamiento	15
4.1.7.1.1 Siembra directa de esporas	15
4.1.7.1.2 Siembra indirecta de esporas	15
4.1.7.1.3 Bioensayo	16
4.1.8 Prueba de inmersión de discos de hojas	17
4.1.9 Postulados de Koch	17
4.1.10 Patogenicidad y virulencia	18
4.1.10.1 Cambio de virulencia de un entomopatógeno	18
4.1.10.2 Variación en virulencia de hongos	18

4.1.11	Hongos entomopatógenos	19
4.1.11.1	Desarrollo de la enfermedad causada por hongos entomopatógenos	20
4.1.11.2	Mantenimiento e incremento de virulencia de los hongos entomopatógenos	21
4.1.12	Factores que regulan la efectividad de un hongo	21
4.1.13	Cultivos de hongos entomopatógenos	21
4.1.13.1	Medios de cultivos de hongos entomopatógenos	22
4.1.14	Primeros hongos entomopatógenos	24
4.1.15	Efecto de hongos entomopatógenos al hombre y animales superiores	25
4.2	MARCO REFERENCIAL	
4.2.1	Estudios realizado con <i>Paecilomyces farinosus</i>	26
4.2.2	Control de insectos plaga por hongos	27
4.2.3	Uso de hongos entomopatógenos como control microbial en Guatemala	27
4.2.4	Presencia de hongos entomopatógenos en insectos plaga	28
4.2.5	Descripción general del área de recolección de insectos muertos	28
4.2.5.1	Localización	28
4.2.5.2	Clima	28
4.2.5.3	Zona de vida	29
4.2.5.4	Suelos	29
4.2.6	Condiciones de laboratorio	29
5	OBJETIVOS	30
6	HIPOTESIS	31
7	METODOLOGIA	
7.1	Manejo del experimento	32
7.1.1	Fase de campo	32
7.1.2	Fase de laboratorio	32
7.2	Desinfección del cuerpo de la mosca blanca	32

7.3	Aislamiento del entomopatígeno	33
7.4	Identificación del entomopatígeno	33
7.5	Pruebas de patogenicidad	33
7.5.1	Diseño experimental	33
7.5.2	Modelo estadístico	33
7.5.3	Descripción de los tratamientos	34
7.5.4	Reproducción de esporas entomopatógenos	34
7.5.5	Preparación de solución madre y concentraciones para la prueba de patogenicidad	35
7.5.6	Instalación del ensayo	35
7.5.7	Aplicación del inóculo	35
7.6	Variable de respuesta	36
7.6.1	Número de insectos muertos	36
7.7	Análisis de la información	36
7.7.1	Análisis de varianza	36
7.7.2	Prueba de medias	36
8	RESULTADOS Y DISCUSION	
8.1	Aislamiento e identificación del entomopatígeno	37
8.2	Número de insectos muertos	37
9	CONCLUSIONES	43
10	RECOMENDACIONES	44
11	BIBLIOGRAFIA	45
12	APENDICE	49

**"AISLAMIENTO Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO QUE CAUSA LA MUERTE
DE LA MOSCA BLANCA"**

(Homóptera: Aleyrodidae)

**"ISOLATION AND PATOGENICITY TRIALS OF THE FUNGUS THAT CAUSES THE WHITE
FLY DEATH"**

(Homóptera: Aleyrodidae)

RESUMEN

En septiembre del año de 1998, el Ing. Agr. Francisco E. Cárdenas Marroquín en una parcela de tomate (*Lycopersicon esculentum Miller*), cultivado en el municipio de Zaragoza, Chimaltenango, se observó en el envés de las hojas, una cantidad considerable de moscas blancas muertas, lo que motivó iniciar una investigación, determinando únicamente que el agente que causa la muerte de la mosca blanca era un hongo.

Desde entonces, se ha encontrado moscas muertas en dicha área, por lo que se sometió a investigación dicho agente entomopatógeno. Se empezó a recolectar material en el lugar, posteriormente se llevó al laboratorio de la Subárea de Protección de Plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Seguidamente se desinfectaron las moscas colectadas, una muestra de ésta se colocó en una lamina de vidrio (porta objeto), realizando para ello varios montajes con distintos colores de lactofenol y se observó al microscopio para su respectiva identificación. El hongo entomopatógeno identificado es *Verticillum lecanii Nees*.

Para comprobar la efectividad de éste hongo se realizó una prueba de patogenicidad, a nivel de laboratorio, a fin de determinar su efecto, mediante la evaluación de distintas concentraciones de esporas aplicadas a ninfas de moscas blancas. Se utilizó un diseño completamente al azar, con diez tratamientos y cuatro repeticiones. De acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos en la presente investigación, se determinó que el tratamiento "F" cuya concentración de esporas fue de

1 X 10⁸ esporas/ml. fue la que causó una mayor mortalidad entre los demás tratamientos, la cual corresponde al 84.37%.

Se concluyó que el hongo *Verticillum lecanii* Nees, dentro del control microbiano de plagas, se perfila como un componente promisorio en un programa de manejo integrado de plagas.

1. INTRODUCCION

La mosca blanca, es una de las plagas más perjudiciales en Guatemala, es la que transmite los geminivirus que causan pérdidas hasta del 100% de la cosecha y reducciones de las áreas cultivadas, con el agravante de que 0.3 adultos/plantas son suficientes para la infección del cultivo de tomate (6).

En Guatemala, el manejo del complejo mosca blanca-geminivirus depende exclusivamente del uso de insecticidas, entre ellos el Imidacloprid (Confidor), el cual ha tenido en los últimos años, un impacto mayor en la mosca blanca y en la incidencia de geminivirus. Sin embargo representa un costo elevado para los productores, además, tiende a crear resistencia y provoca un impacto negativo sobre los enemigos naturales de las plagas (6).

El control biológico juega un papel importante en las nuevas estrategias de manejo principalmente para el combate de la mosca blanca, pero tienen un potencial más limitado en el control del daño por transmisión del virus (12). Los hongos son los patógenos con mayor potencial para el control biológico y pueden aplicarse masivamente y obtener respuesta a corto plazo (30).

Las plagas son factores que provocan en gran porcentaje la reducción del rendimiento en los cultivos agrícolas de interés para el hombre. Una de las principales plagas en tomate, chile y cucurbitáceas es la mosca blanca (23). Existen estudios realizados en el campo, que demuestran el potencial de los hongos para el combate de la mosca blanca. La mayoría de estudios publicados han evaluado *Beauveria bassiana* Vuill, *Paecilomyces farinosus* Brown y *Verticillium lecanii* Nees, contra ninfas en los primeros estadíos (5).

Generalmente los insecticidas químicos de producción industrial utilizados para controlar las poblaciones de mosca blanca, son de alto costo, alto riesgo e impacto ambiental negativo (35). Por estas razones, en la presente investigación se busca otra alternativa de solución de control biológico para disminuir la incidencia de la mosca blanca.

2. DEFINICION DEL PROBLEMA

Actualmente el control que se realiza sobre la mosca blanca es a base de plaguicidas sintéticos, que no han dado los resultados esperados por los agricultores, debido o quizá, a problemas de resistencia o por su uso excesivo y sin orientación técnica ya que este insecto tiene un ámbito de hospedantes amplio y prolifero, teniendo una gran capacidad de dispersión y epidemiológicamente significativo (2).

La producción agrícola principalmente los cultivos de tomate, tabaco, frijol, etc. han sido la fuente de ingresos de gran parte de los productores del país, principalmente la zona oriental. A raíz del daño económico que causa la mosca blanca en los cultivos, se inició un proceso de combate químico, que a la postre no tuvo resultados exitosos, pero sí un alto costo económico y ecológico (6).

Ante tal situación surge el control biológico como un arma efectiva, de bajo costo y amigable con el ambiente para combatir este insecto. Ignoffo (20), en su estudio sobre el uso de insecticidas biológicos a nivel de invernadero, demuestra que ha tenido éxito, donde la humedad relativa es óptima para el desarrollo de los hongos empleados para su control.

En tal sentido, existe la necesidad de estudiar agentes naturales que contribuyan a disminuir el daño que éste insecto causa a la agricultura, por lo tanto es necesario realizar un estudio sistemático que compruebe la efectividad del entomopatógeno que ha estado matando a la mosca blanca desde el año de 1998, en el municipio de Zaragoza, Chimaltenango.

3. JUSTIFICACION

Los agricultores han sido afectados en alto grado por las enfermedades causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca. En Guatemala el problema de geminivirus ha reducido en un 50% las áreas de producción debido a las pérdidas en el rendimiento y como consecuencia de ello se tienen pérdidas anuales de aproximadamente 6.5 millones de dólares. También causa pérdidas económicas aun no cuantificables en otros cultivos como el frijol (*Phaseolus* sp.), Cucurbitáceas, y chile (*Capsicum* sp.) (6, 7).

Muchas tácticas culturales y legales como la eliminación de cultivos y períodos de barbecho han logrado disminuir la incidencia de plantas infectadas con geminivirus, sin embargo, estas prácticas no parecen ser eficaces, a menos que sean utilizadas en combinación con insecticidas o cultivares resistentes (3).

En diversas zonas de Guatemala, es imposible obtener buenas cosechas sin la aplicación continua de insecticidas para el control de la mosca blanca, esto provoca el aumento en los costos de producción ya que por el mal manejo o la resistencia a los mismos, hace que estos sean aplicados masivamente cada dos a tres días, llegando al extremo en algunos casos aplicarlos diariamente. Por lo tanto existe más riesgo de residuos en alimentos y agua, intoxicaciones laborales, disminución de enemigos naturales, cuyo valor es imposible de medir (6).

Los hongos causantes de enfermedades de insectos plaga en la agricultura, se considera como importantes organismos de regulación de poblaciones que ofrecen la posibilidad de ser utilizados dentro de un control integrado de plagas, utilizándose como insecticidas biológicos, los cuales necesitan estar disponibles en volúmenes altos, hecho que ha generado un gran interés en el estudio de estos organismos con el fin de obtener biopreparados en forma comercial (18).

Por lo tanto la presente investigación pretende disponer de otra alternativa de control biológico, para disminuir el daño que causa la mosca blanca en cultivos agrícolas.

4. MARCO TEORICO

4.1 MARCO CONCEPTUAL

4.1.1 MOSCA BLANCA.

La mosca blanca, (*Bemisia sp.*), pertenece al orden *Homóptera*, familia *Aleyrodidae*. Este es un insecto cosmopolita, se encuentra en casi todas las partes del mundo, exceptuando algunas regiones; en América se encuentra desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina. La gran variación que existe en las poblaciones de mosca blanca, tanto en el tiempo como en las distintas regiones; se debe, según la mayoría de investigaciones al clima; siendo este uno de responsables de su distribución y dispersión. Sin embargo en Guatemala la época de aparición de las poblaciones, podría darse más por falta de eliminación de rastrojos y control de plantas hospederas que a cambios en el clima (6). La mosca blanca es un pequeño insecto vector de enfermedades virales en tomate; posee cuerpo amarillo pálido, con alas blancas cubriendo casi todo el cuerpo, predominado el color blanco. El insecto posee un estilete, por medio del cual succiona la savia de las plantas, debilitándolas pero su principal daño se debe a que transmiten virus de plantas enfermas (deformación de las hojas) a plantas sanas. La hembra generalmente es mayor en tamaño que el macho (2, 7).

Los geminivirus transmitidos por moscas blancas se han convertido en el principal grupo de patógenos de las hortalizas en América Central. Además del tomate, estos virus afectan otros cultivos como cucurbitáceas y frijol. Los genomas de estos geminivirus están compuestos de ADN circular de cadenas simples, encapsulado por múltiples subunidades, con una cápsula única de proteína. La mayoría son bipartitas con dos componentes genómicos del mismo tamaño, designado como A y B y encapsulados en forma separada en partículas geminadas. Por lo menos uno de ellos es monopartita con un componente de ADN único y un poco mayor (32).

Con base en el vector y la planta hospedante la familia geminiviridae se divide en tres géneros. En América, el tomate es infectado principalmente por geminivirus bipartita del género Begomovirus (conocido anteriormente como subgrupo III). Sin embargo, en 1994 un geminivirus monopartita, el virus del enrollamiento foliar amarillo del tomate (TYCV) fue identificado en tomate en el caribe. El TYCV y los geminivirus bipartita son transmitidos por la

mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (Gennadius) de la cual un biotipo, el "B" es también conocido como *Bemisia argentifolii* Bellow. Aunque existe controversia con respecto a la taxonomía del vector de este complejo, diferentes biotipos o especies de la mosca blanca han mostrado muy poca especificidad para la transmisión de diferentes geminivirus. Se considera que la relación virus-vector es del tipo persistente circulativo (3). En Guatemala se han identificado tres tipos de geminivirus los cuales son los siguientes: Virus Tejano del Pimentón (TPV) y otros con nombres provisionales como el Geminivirus 1 del tomate (Tomato GV1) y Geminivirus 2 (Tomato GV2), los síntomas que muestra la planta de tomate con la infección de geminivirus GV1 son: rizado severo de las hojas, moteado de la hoja o clorosis para geminivirus GV2 aun no están reportados.

Los geminivirus se identifican y determinan principalmente a través de una secuencia de genomas. La falta de consenso sobre un método para la determinación de las cepas de los aislamientos y de las especies ha creado cierta confusión sobre la taxonomía de nuevas secuencias virales. Es claro que las secuencias parciales de regiones de genomas específicas son suficientes para determinar las afinidades y diferencias. Existen varias regiones del genoma que son de interés especial para taxónomos: la región común o región intergénica, la capa de proteína y la proteína asociada a la reproducción. Se ha propuesto que dos aislamientos homogéneos en un 90% o más de la secuencia de aminoácidos en la capa protéica se consideran de la misma especie. Para muchos de los geminivirus que afectan el tomate se han realizado muy pocas o ninguna caracterización. La escasez de datos biológicos se une a la dificultad para establecer determinaciones taxonómicas. Conforme se obtengan más secuencias y se establezcan más características biológicas, la taxonomía de muchos geminivirus será más precisa (3, 33).

4.1.1.1 TAXONOMIA Y BIOLOGIA DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci*) (Gennadius) (2).

Clase:	Insecta.
Orden:	Homóptera.
Familia:	Aleyrodidae.
Genero:	<i>Bemisia</i> .
Especie:	<i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius).

4.1.1.2. CICLO BIOLÓGICO DE LA MOSCA BLANCA

El tipo de metamorfosis de la mosca blanca se considera gradual o paurometábola, aquí están comprendidas las fases de huevo, tres ninfas o que pueden llamarse también larvas, pupa y adulto (2).

Los adultos son de color blanco amarillento, ligeramente cubiertos por un polvo ceroso, miden 1.5 mm de largo. Los ojos son de color rojizo, las antenas son segmentadas, tienen cuatro alas membranosas, divididas por dos venas. Las patas posteriores son más largas que las otras (2).

Los huevos de la mosca blanca son ovalados y pedicelados, aunque este pedicelo no se observa por estar incrustado en el tejido del envés foliar. Los huevos son de color claro y cambian hacia un color pardo al madurar, pero conservan su textura lisa brillante; tienen un tamaño de 0.2 mm de largo. Una vez eclosionado, la cáscara se desmorona y se oscurece (2).

La mosca blanca presenta tres fases ninfales, a las que con frecuencia se les llama larvas. La primera fase es muy diminuta, amarilla, ovalada, aplanada, en el margen tiene 16 pares de cetas, presenta 3 pares de patas bien articuladas y adaptadas para arrastrarse. Se alimentan mediante un aparato bucal picador-chupador, con el que succiona los jugos vegetales (2).

La segunda y tercera etapa ninfal parecen escamas diminutas, segmentadas, aplanadas y ovaladas de color amarillo claro a verde claro, casi transparente. La "pupa" o cuarta fase ninfal es de color amarillo intenso y ligeramente convexa. Los ojos son de color rojizo. En general las pupas son de tamaño variable, ovaladas de color amarillo intenso. Las pupas eclosionadas presentan dorsalmente una abertura en forma de "T" a través de la cual emergió el adulto. En esta etapa de pupa es cuando ocurren los cambios morfológicos más drásticos (2).

El ciclo biológico total, es decir de huevo hasta adulto es de 14 días bajo condiciones favorables y hasta de 107 días bajo condiciones desfavorables (2).

La mosca blanca oviposita en el lado inferior de las hojas (envés). Luego del huevo pasa a la siguiente etapa en la cual aparece la ninfa. Desde que sale del huevo busca un lugar en el envés para introducir su estilete y comienza a alimentarse. La ninfa cambia de piel tres veces, sin embargo, no aleja su estilete de la hoja; es decir, no deja de alimentarse. De la cuarta y última etapa de ninfa pasa a ser mosca adulta. El desarrollo de huevo a adulto tarda de 18 a 19 días (en clima frío puede tardar más). Los adultos viven de 11 a 14 días. La mosca blanca además de alimentarse en la planta de tomate también se reproduce muy abundantemente en otras plantas de la familia solanaceae (2, 19).

La mosca blanca, es muy susceptible a las temperaturas bajas, por ser de adaptación tropical y subtropical. Cuando la temperatura promedio es de 20 grados centígrados, el tiempo para la eclosión de los huevos dura 11.5 días, mientras que con temperaturas promedio de 30 grados centígrados se acorta a 5.4 días (7).

El fenómeno migratorio de las poblaciones de mosca blanca, parece estar influido por diversos factores. Los adultos solo vuelan trechos cortos de 10 a 30 metros; pero los fuertes vientos pueden arrastrarlos muchos kilómetros y ocurrir migraciones masivas desde sitios lejanos (2).

Ha sido difícil la identificación de las diferentes cepas virales que han provocado problemas, sin embargo, se ha logrado determinar que el daño que causa la mosca blanca en el cultivo del tomate, es por la transmisión de virus del tipo gemini que es el agente causal de los síntomas de virosis observados en dicho cultivo (3).

La mosca blanca también causa daños directos por absorción de jugos de la planta, sobre todo en hortalizas, tanto en estado adulto como inmaduro. En estudios de transmisión de virus con mosca blanca, se destaca que su excelente capacidad de transmisión de virus se debe no solo al amplio rango de hospederos, si no también a que necesitan períodos de tiempo muy cortos, para la adquisición e inoculación del virus. A menudo un individuo puede llevar 20 virus o más simultáneamente. La hembra es mejor transmisora de virosis que el macho; ya que ellas se alimentan activamente para nutrirse así mismas y para satisfacer la demanda impuesta por

el crecimiento y desarrollo de los huevos. Cuando se encuentran alimentando, los adultos son difíciles de perturbar y vuelan solo si se les toca (2, 3).

4.1.1.3. DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci*) (Genadius)

La distribución geográfica del nuevo vector, el biotipo "B" de *Bemisia tabaci* (genadius) como transmisor de geminivirus, se está expandiendo, esta expansión se debe a varios factores siendo el principal factor el tener como hospedantes a las especies de la familia solanaceae, tanto para su alimentación como para su reproducción. En la medida en que esta mosca blanca se ha propagado por todo el hemisferio occidental, nuevos geminivirus han aparecido en esos lugares. Otro factor que ha contribuido a la diseminación de estos virus es el traslado de semilleros de tomate infectados con geminivirus en la cual no muestra síntomas, estas acciones ocasionan que los agricultores consideren que sus semilleros no tienen virus. Se ha especulado que los huracanes y los vientos pueden facilitar el movimiento de moscas blancas virulentas a largas distancias sobre el agua (3, 18).

4.1.1.4. DAÑOS QUE CAUSA LA MOSCA BLANCA

Entre los daños directos e indirectos que causan la mosca blanca en los cultivos están (24):

- a) Competencia con la planta por productos de síntesis.
- b) Debilitamiento por extracción de savia, el daño por succión lo hacen al insertar el estilete en el tejido vegetal y succionar la savia. Este daño puede considerarse serio cuando se alcanzan altas densidades poblacionales de mosca blanca .
- c) Inducción a la planta de un efecto tóxico que incluye un aclareo generalizado en las venas.
- d) Transmisión de virus; es uno de los daños más serios que causa, la mosca blanca, principalmente, lo hacen a través de geminivirus, los cuales por reproducirse en el floema resultan muy dañinos.
- e) Las excreciones melosas de estos insectos causan dos tipos de problemas; la interferencia con los procesos fotosintéticos normales y la proliferación de hongos, causando problemas como fumaginas del tipo fúmagos.

- f) El desarrollo de resistencia, induce al aumento de la frecuencia de las aplicaciones del control químico lo que hace que se eleven los costos de producción del cultivo.

4.1.1.5. GEMINIVIRUS TRANSMITIDO POR MOSCA BLANCA

Las enfermedades asociadas a los geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia sp.*), causan pérdidas importantes en algunos cultivos de diferentes zonas geográficas tropicales y subtropicales. En un intento por controlar se aplica insecticidas frecuentemente, con el costo ecológico y de salud humana que esto significa. Por lo tanto es necesario diseñar tácticas de combate de las enfermedades asociadas a geminivirus, basadas en información generado por investigación científica (19).

Los geminivirus se caracterizan por su diversidad molecular y diferentes geminivirus infectan el mismo cultivo en distintas regiones geográficas. Un ejemplo es la existencia de por lo menos dos tipos de geminivirus que causan el mosaico dorado del frijol "bean golden mosaic virus", "BGMV", uno en Brasil (tipo I) y el otro en América Central y el Caribe (tipo II). Otro ejemplo se presenta en tomate con el "tomato yellow leaf curl virus" (TLCV). Estos dos ejemplos confirman la necesidad de incrementar los esfuerzos en el conocimiento de la diversidad de los geminivirus, estudiar su epidemiología y diseñar tácticas de combate que signifiquen una opción sana para el ambiente (19).

4.1.1.6. IMPORTANCIA ECONOMICA DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia sp.*)

En general, los productores de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Miller) han sido afectados duramente por las enfermedades causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca (3). En Guatemala el problema de geminivirus ha reducido en un 50% las áreas de producción debido a las pérdidas en el rendimiento y como consecuencia de ello se tiene pérdidas anuales de aproximadamente 6.5 millones de dólares. También causa pérdidas económicas aun no cuantificables en otros cultivos como el frijol (*Phaseolus sp.*), chile (*Capsicum sp.*) y Cucurbitáceas (6).

En muchos lugares se ha presentado la siguiente situación, se observan grandes poblaciones de mosca blanca en plantaciones de tomate y posteriormente una maduración

irregular de los frutos debido a la fitotoxicidad de la saliva de los estados inmaduros de este insecto. Además, el uso de insecticidas se incrementa dramáticamente y los productores tratan de controlar las altas poblaciones de mosca blanca sin mucho éxito. Los síntomas del virus en las plantas de tomate (acoloramiento de sus hojas), en un inicio la incidencia es baja pero rápidamente se incrementa hasta alcanzar niveles epidémicos. El rendimiento se reduce hasta ser nulo, y las plantaciones de tomate suelen ser abandonadas, debido a que el precio sube como resultado de la escasez (7).

4.1.2. ENFERMEDADES FUNGOSAS DE INSECTOS

Es importante hacer notar que, así como las bacterias, muchos de los hongos asociados con los insectos no son verdaderos patógenos o son patogénicos sólo con ciertas condiciones. Frecuentemente se encuentran hongos saprófitos en insectos que han muerto por otra causa. Algunos hongos asociados con insectos son en esencia, parásitos no letales. Es de hacer notar el hecho de que la mayoría de los hongos que infectan a sus insectos hospederos no lo hacen por ingestión, sino que penetran a la cavidad del cuerpo a través del integumento. Esto requiere condiciones de temperatura y humedad adecuada. Una vez dentro, el hongo prolifera, invade los tejidos y llena el cuerpo del insecto con una gran cantidad de hifas o cuerpos hifales. En la mayoría de los casos, el hongo emite sus conidióforos al exterior, donde se desarrollan los cuerpos fructíferos, capacitando al organismo para hacer contacto con nuevos huéspedes. El insecto infectado, generalmente se seca adquiriendo un aspecto momificado, frecuentemente llega a cubrirse con conidios y algunas veces contiene esporas en reposo, las que capacitan al hongo para sobrevivir en períodos de condiciones adversas del medio ambiente o en la ausencia del hospedero (12).

4.1.3. CONTROL BIOLÓGICO

El término de control biológico se define como la destrucción o supresión de los insectos indeseables, otros animales o plantas por la introducción o incremento artificial de sus enemigos naturales (22).

El control biológico es un sentido ecológico se puede decir que es la regulación por medio de enemigos naturales de la densidad de población de otros organismos a un promedio menor del que existiría en ausencia de tales enemigos (10).

4.1.3.1 IMPORTANCIA DEL CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico dentro del manejo integrado de plagas, constituye uno de los medios más utilizados para el manejo natural que permiten lograr un equilibrio en los agroecosistemas, a la vez reducir el uso del control químico que hasta la fecha fue interpretado como la panacea del control de plagas insectíles, heredando graves problemas de toxicidad, contaminación del ambiente y de recursos naturales no renovables (28).

El control biológico es ecológicamente deseable porque no tiene efectos colaterales, no causa daño al medio ambiente por su selectividad y seguridad, enriqueciendo la fauna del ecosistema (22).

4.1.3.2 LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico, como un componente del manejo integrado de plagas, está desarrollando en muchos países, que quieren desarrollar una agricultura moderada y más armónica con la naturaleza. Dentro de los agentes de control biológico que se utilizan, juegan un papel importante los hongos entomopatógenos, es así como en diversos países se realizan liberaciones masivas de hongos para el control de plagas (5).

Los hongos son organismos formados por filamentos llamadas hifas y se reproducen a través de esporas, tienen la capacidad de actuar como agentes de control biológico y solamente ellos con excepción de algunos nemátodos, tienen la capacidad de penetrar en la cutícula de los insectos. Los insectos infectados con hongo, son relativamente fáciles de detectar ya que en ellos existe un cubrimiento de micelio o cuerpo fructíferos de hongo. En el campo de los hongos entomopatógenos se conocen aproximadamente 40 géneros, pero a la fecha son limitados los evaluados en programas de control microbial (11).

Normalmente los hongos se desarrollan sobre los insectos a través de las fases siguientes: formación de apresorios y estructuras (grampa) de penetración, colonización y reproducción del patógeno, siendo la unidad efectiva en todos los casos la espora (reproducción sexual) o el conidio (reproducción asexual), la invasión al hospedero se produce con la adherencia de éste a la cutícula del insecto. Posteriormente éste produce un tubo germinativo y un apresorio como producto de la dilatación de la hifa. En la penetración están presentes dos procesos principales: el físico, debido a la presión de la hifa, la cual rompe las áreas membranosas esclerosadas y el químico, resultante de la acción enzimática (proteasas, lipasas y quitinasas), lo cual facilita la penetración mecánica. En el área de la procutícula alrededor de la penetración, aparecen síntomas de histólisis (descomposición del tejido por la acción enzimática). A partir de la penetración se inicia el proceso de colonización, en el cual la hifa sufre un engrosamiento y se ramifica en la cavidad general del cuerpo. A partir de ese momento se forman pequeñas colonias del hongo y otros cuerpos hifales (blastosporos), sin embargo no ocurre gran crecimiento hifal antes de la muerte del insecto (11).

Los hongos entomopatógenos crecen bien en medios artificiales, orgánicos e inorgánicos (papa-dextrosa-agar o PDA y arroz). Crecen y esporulan en un rango de temperatura de 25 a 30 grados centígrados. La luz es importante (fase oscura y lumínica). Se necesita humedad relativa baja, para producir la infección. La especificidad de los aislamientos limita las posibilidades de ataque a especies diferentes al hospedero original. Es imposible la resistencia ya que la población del microorganismo se reproduce más rápidamente que la de los insectos. No es dañino a animales de clima cálido (34).

4.1.4 VIRULENCIA DE ENTOMOPATOGENOS

Cuando se inicia un programa de control microbial, es necesario realizar bioensayos de patogenicidad con las diferentes cepas o aislamientos de los hongos entomopatógenos que se van a estudiar frente al insecto plaga que se pretende controlar y bajo las condiciones ambientales donde se va a realizar el programa de control biológico (14).

La virulencia de los hongos entomopatógenos es definida como el grado de patogenicidad de un hongo hacia un insecto en condiciones controladas. Se puede interpretar que cualquier

factor relacionado con la biología, comportamiento de los hongos con el insecto y del medio ambiente físico, que afecte de una u otra forma la germinación, el desarrollo, la esporulación, la capacidad de síntesis enzimática o de toxinas afectará el proceso de infección y por lo tanto la virulencia y patogenicidad (14).

La virulencia de los patógenos puede ser aumentada por medio de estudios de ingeniería genética, provocando mutaciones y cruizas patogénicas, considerando factores tales como: patógenos en la resistencia a la luz ultravioleta y temperaturas altas (14).

4.1.5 MANEJO INTEGRADO DE LA MOSCA BLANCA

El manejo integrado de cualquier plaga se define como el "uso inteligente de todos los recursos disponibles con el propósito de bajar las densidades de plagas más allá del umbral económico, donde el daño hecho no justifica ya el costo de un esfuerzo de más acción" (10).

El manejo de los geminivirus en tomate es difícil y costoso. El manejo regional deberá basarse indudablemente en la reducción de la mosca blanca y en lo posible, en la reducción del inoculo del virus (33).

Muchas tácticas culturales y legales como la eliminación de cultivos y períodos de barbecho han logrado disminuir la incidencia de plantas infectadas con geminivirus. Sin embargo, estas prácticas no parecen ser eficaces, a menos que sean utilizadas en combinación con insecticidas o cultivares resistentes. El tener épocas sin la presencia de hospedantes de mosca blanca, permite reducir las poblaciones de este insecto y en algunos casos disminuye el número de vectores virulentos. Los semilleros de tomate deben producirse a muchos kilómetros de distancia de las áreas de producción. El uso de coberturas en surcos de plantas en crecimiento pueden ayudar a retardar la aparición de la infección. No se deben sembrar nuevas plantaciones de tomate cerca o en dirección al viento, desde plantaciones ya establecidas. Las coberturas que reflejan el ultra violeta han logrado disminuir la incidencia de plantas de tomate infectados con el virus en las primeras etapas del ciclo de cultivo (4).

El uso de insecticidas es la práctica más utilizada y constituyen el enfoque más costoso para el manejo de geminivirus. Muchos insecticidas, aceites y jabones son utilizados para reducir las poblaciones de mosca blanca y la incidencia de plantas infectadas, tanto en condiciones de invernadero como de campo en algunos lugares y épocas, el uso de insecticidas puede reducir la incidencia de plantas infectadas, hasta alcanzar niveles económicamente satisfactorio. Un insecticida introducido recientemente, Imidacloprid, ha tenido en los últimos años, un impacto mayor en las poblaciones de mosca blanca y en la incidencia de geminivirus. La eficacia de los insecticidas puede incrementarse cuando se rotan productos de grupos diferentes y se hace en conjunto con una evaluación regular (33, 35).

4.1.6. COLECTA DE INSECTOS

La colecta de insectos de interés para nuestros estudios puede ser realizada con individuos muertos, moribundos o vivos procurando que presenten estructuras del patógeno como esporas o micelio proporcionándole las condiciones necesarias para su desarrollo (14).

Una vez que se ha colectado el material enfermo, para identificar al agente causal o con el fin de formar colecciones, es necesario llevar a cabo diferentes tratamiento que contribuyan a preservarlo durante el tiempo necesario para la identificación o por tiempo indefinido para la formación de colecciones (14).

Con el propósito de lograr una identificación acertada del agente causal, primeramente se debe observar los síntomas que presenta el organismo, lo cual nos da la pauta para determinar las técnicas subsiguientes para lograr su aislamiento e identificación. Se recomienda la observación bajo el microscopio estereoscópico, para determinar si existe el desarrollo de esporas o cuerpos fructíferos, en cuyo caso se puede proceder a efectuar cortes o montajes directos del material o inducir la esporulación en el material y/o intentar simultáneamente el aislamiento del patógeno, utilizando un medio específico para lograr su desarrollo (14).

4.1.7 AISLAMIENTO DE PATOGENOS

Para determinar la especie de patógenos que está causando el daño es necesario aislar los microorganismos asociados al insecto enfermo en colonias puras. Se debe utilizar

especímenes frescos y tomar el inóculo del margen del insecto, no se debe emplear material descompuesto, ya que en estas condiciones es muy común, encontrar dos o más especies de microorganismos, cuando esto ocurre, se debe tratar de separar los contaminantes presentes, algunos hongos comúnmente encontrados son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, junto con algunas bacterias menos comunes. Para evitar eso, el material se debe almacenar a bajas temperaturas y mantenerlo lo más seco posibles, también las muestras deben utilizarse a la brevedad, para evitar su descomposición (14).

4.1.7.1. TECNICAS DE AISLAMIENTO

4.1.7.1.1 Siembra directa de esporas

Para la realización de ésta técnica es necesario que el insecto atacado sea colocado en una cámara húmeda para inducir la esporulación del microorganismo, condición que se presenta después de 24 a 72 horas, una vez que se logra la esporulación el patógeno se transfiere al medio de cultivo. El procedimiento consiste en observar a través del microscopio esteroscópico y con la ayuda de un asa de transferencia flameada, se toman las esporas del insecto micosado y se siembran en una caja de petrí o tubo de ensayo distribuyéndose en el medio de cultivo haciendo de un rayado sobre este (14).

4.1.7.1.2 Siembra indirecta de esporas

Se realiza a base de una suspensión de esporas para lo cual es necesario colocar el tejido infectado seccionado en trocitos, en una solución de hipoclorito de sodio con agua en una proporción 1:10 por un período de 30 a 90 segundos, posteriormente se remoja el tejido tres veces con agua destilada estéril, se agita para eliminar el exceso de agua y secar (14).

En una gradilla se colocan tubos de ensayo conteniendo el primero de ellos 10 ml. de agua destilada estéril y los restantes 9 ml. Se colocan los trocitos de tejido infectado previamente desinfectados en el primer tubo, el cual se agita con el fin de difundir las esporas en el agua. Posteriormente se toma 1 ml. de la suspensión, utilizando una pipeta estéril y transfiriéndolo al segundo tubo de ensayo obteniendo una dilución de 1×10^4 si la muestra que se esta procesando contiene una cantidad muy alta de esporas, se realizan las siguientes diluciones

agregando 1 ml. del segundo tubo al siguiente hasta obtener la concentración deseada de esporas (14).

De esta suspensión se toma una gota con una pipeta y se transfiere en cajas de petrí con medio de cultivo extendiendo sobre la placa con una varilla de vidrio, se puede transferir también con la ayuda de una asa la cual se sumerge en la dilución y se pasa posteriormente por el medio de cultivo haciendo una estría en el tubo de ensayo o caja petrí (14).

Con ésta metodología se pueden obtener aislamiento monospóricos utilizándose un micromanipulador con ayuda del microscopio para extraer una sola espora y depositarla en una caja de petrí (14).

4.1.7.1.3 BIOENSAYO

Es cualquier método que permite determinar alguna propiedad de un material o sustancia en base a la respuesta biológica que producen. Constituye una herramienta de vital importancia para la evaluación de los niveles de resistencia o susceptibilidad de las plagas a los plaguicidas. Someter a pruebas de bioensayo a los plaguicidas agrícolas con la finalidad de determinar dosis o concentración letal sobre determinada plaga, adquiere carácter de obligatoriedad para su uso correcto. Los bioensayos para determinar los niveles de resistencia de las plagas o los plaguicidas puede llevarse a cabo con individuos colectados en el campo y sin reproducirlos en laboratorio, los datos son bastante confiables, si la muestra es representativa (32).

La técnica de bioensayo en laboratorio, es la forma de como se realizan las mediciones de la virulencia de los hongos entomopatógenos (32).

Se puede enumerar algunas acciones básicas de seguimiento :

- a) Una vez seleccionada el aislamiento más sobresaliente se recomienda medir la virulencia en base a dos parámetros tales como: la dosis letal (DL 50) la cual representa el 50% de la mortalidad de la población que ha sido tratada por el patógeno y tiempo letal medio (TL 50), en que se determina el 50% de la mortalidad de insectos afectados por el hongo en una dosis aplicada.

- b) La dosis letal se calcula determinando la mortalidad que se obtienen con una serie de dosis (6 a 7). Existe una relación directa entre la dosis utilizada y la mortalidad del mismo modo existe una correlación directa entre el tiempo de infección y la mortalidad a diferentes dosis. Estos estudios se ha de complementar con la determinación del potencial del inóculo (porcentaje de germinación y longevidad de la colonia) (32).

4.1.8. PRUEBA DE INMERSION DE DISCOS DE HOJAS

Esta prueba consiste en utilizar pequeños discos de la hojas de cultivo, por ejemplo; frijol (*Phaseolus* sp.) y tomate (*Lycopersicon esculentum*), sumergidos en un volumen y concentración conocida de insecticida (que contiene un agente humectante al 0.01%), se deja secar por 3 minutos al aire libre y en la sombra sobre toallas de papel absorbente. Posteriormente, estos cuadros se colocan en cajas de petrí especialmente diseñadas para la prueba y fijadas con una gota de agar con el haz en contacto con éste (32).

Posteriormente se depositan 20 ninfas sobre los discos, que están en las cajas de petrí, esto corresponderá para cada dosis y repetición, cada unidad se sella con una tapadera transparente que permite la ventilación. Las cajas de petrí se colocan en bandejas de plástico de acuerdo a su orden y repetición, las lecturas de mortalidad expresadas en porcentaje se revisaran a las 24 horas después de la aplicación (32).

4.1.9. POSTULADOS DE KOCH

Cuando un patógeno se encuentra en una planta enferma, puede ser fácilmente identificado utilizando manuales especializados; en caso de que se tenga la certeza de que el patógeno es la causa de la enfermedad, podrá considerarse entonces que ha concluido el diagnóstico. Sin embargo, en caso de que sea probable que el patógeno represente la causa de la enfermedad, pero que no existan registros anteriores que apoyen esa suposición, tendrán que considerarse los siguientes puntos para comprobar la hipótesis de que el patógeno es la causa de esa enfermedad (1):

- 1- el patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.

- 2- el patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características (parásito no obligado) o bien debe permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedera susceptible (parásito obligado) y registrar su presencia y los efectos que produzca.
- 3- el patógeno que se desarrolle en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas.
- 4- el patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto.

En caso de que los puntos mencionados (Postulados de Koch), se cumplan, se tendrá la certeza de que el patógeno aislado es la causa de la enfermedad.

4.1.10 PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA

Virulencia se define como la capacidad relativa de un microorganismo para vencer las defensas corporales del huésped y patogenicidad es la capacidad para ocasionar enfermedad (reacción mórbida del huésped), cuya cualidad fija inherente al microorganismo en relación con cada huésped potencial que se considere, mientras que infecciosidad es la aptitud para producir infección-tendencia a propagarse rápidamente de un huésped a otro (25).

4.1.10.1 CAMBIOS DE VIRULENCIA DE UN ENTOMÓPATOGENO

Se han señalado cuatro maneras generales en las cuales se puede aumentar la virulencia de un patógeno de insectos (12):

- 1) pasándolo a través de insectos susceptibles o posiblemente otros animales.
- 2) causando que se disocie en variedades más o menos virulentas.
- 3) introduciendo, junto con los microorganismos, sustancias (almidón, mucina, etc.) que pueden ayudar a incrementar sus poderes de invasión.
- 4) asociándolos en una relación mutualista con otros microorganismos que faciliten la invasión de los tejidos.

Sin embargo, los microorganismos pueden sufrir pérdidas de virulencia por:

- 1) disociación forzada hacia formas bajas y altamente virulentas.

- 2) condiciones de cultivo que son anormales.
- 3) paso a través de huéspedes inadecuados y
- 4) cultivo a temperaturas anormalmente bajas o altas.

4.1.10.2 VARIACION EN VIRULENCIA DE HONGOS

Uno de los estudios significantes demostrativos de la gran variabilidad en las variedades de especies de hongos es la de MacLeot, citado por De Bach (11), en el que concluye que las 14 especies que se reportan de *Beauveria* deberían ser reducidas a una sinonimia de dos especies *bassiana* (Bals.) Vuill. y *bassiana tenella* (Del) Siem. Por muchos años éstas "así llamadas" 14 especies han sido conocidas que varían en su patogenicidad a las diferentes especies de insectos. Otros hongos tales como el *Cephalosporium lecanii*, Zimm, y la muscardina verde, (*Metarhizium anisopliae* Sor), se conoce que poseen variedades con diferente patogenicidad a los insectos. En el caso de los hongos de muscardina verde, se han observado formas que producen esporas grandes y esporas chicas, las primeras aparentemente son específicas en su patogenicidad para *Oryctes rhinoseros* (L.).

4.1.11 HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Se han hecho muchos intentos para utilizar hongos en el control de insectos, actualmente se han encontrado 460 especies de hongos entomopatógenos. Durante muchos años, las observaciones de las poblaciones de insectos han demostrado que los hongos son patógenos naturales importantes y efectivos para los insectos; sin embargo los hongos dependen en alto grado del estado de tiempo local y del microambiente que rodea al insecto objetivo. Los intentos de control directo mediante el cubrimiento de los cultivos o zonas con hongos en etapa de reposo han tenido éxito poco frecuente y a menudo ha fallado la repetición de éstos éxitos en años subsiguientes (28).

Los primeras especies entomopatógenas fueron asociados a ascomycetos pertenecientes al género *cordyceps*. La mayoría de los estudios han sido confinados a ciertos hongos encontrados en escamas y moscas blancas, llamados hongos muscardinos blancos y verdes y unos pocos entomophthorales (28) .

Es de hacer notar el hecho de que la mayoría de los hongos que infectan a insectos hospederos no lo hacen por ingestión, sino que penetran a la cavidad del cuerpo a través del integumento. Esto requiere condiciones de temperatura y humedad adecuadas (12).

Infecciones causadas por entomophthorales; esto incluye el grupo más importante de los hongos entomopatógenos de la clase Phycomycetes, aunque tales hongos también se encuentran en las órdenes Mucorales, Blastocladales y Chytridiales. La mayoría de los autores reconocen que la familia Entomophthoraceae compuesta de varios géneros como *Empusa*, *Entomophthora* y *Masospora*, está formada principalmente por especies entomopatógenas (12).

4.1.11.1 DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD CAUSADA POR HONGOS ENTOMOPATOGENOS

En general, la enfermedad es inducida por los hongos entomopatógenos como sigue: La unidad infecciosa en la mayoría de los hongos es una espora, usualmente una conidia que invade a través de la tráquea respiratoria o alimenticia, según se ha reportado, pero éstos son sitios relativamente raros de invasión. La conidia usualmente germina en la cutícula y entonces penetra. Están envueltas en enzimas y fuerzas mecánicas. En la mayoría de los casos, se producen fragmentos de micelio semejantes a levaduras, llamadas cuerpos hifales, los cuales flotan libremente y aparentemente se multiplican en el hemocele. Algunos tipos producen suficientes toxinas en ésta etapa para causar la muerte, aunque los órganos mayores no hayan sido invadidos. Cuando ocurre una invasión de órganos, el cuerpo de mayor grosor es casi invariablemente el sitio preferido. En las cepas que son débiles para producir toxinas después de la muerte o aún antes el micelio normalmente se ramifica a través de órganos internos. Esto continúa hasta que el insecto está virtualmente lleno con el hongo y bastante firme al tocarse. Entonces se producen los conidióforos, los cuales salen a través de la cutícula y producen esporas encima y fuera del insecto. Algunas veces todo el cuerpo del insecto está cubierto y otras el hongo aparece solamente en áreas donde la pared del cuerpo es delgada, tales como las membranas intersegmentales. En la ausencia de adecuada humedad atmosférica puede no haber evidencia externa del hongo, aunque puede encontrarse en la cavidad del cuerpo del insecto, después de su muerte. La consistencia del contenido de su cuerpo puede coagularse; con el tiempo se endurece, se vuelve quebradizo y se momifica. A diferencia de la apariencia de

la mayoría de las infecciosas bacterianas y virosis, el insecto afectado con un hongo usualmente retiene el color y forma general del cuerpo, excepto cuando es cubierto total o parcialmente por éste. De hecho el diagnóstico definitivo de una enfermedad fungosa puede hacerse generalmente examinando al microscopio el insecto enfermo, especialmente cuando es acompañado por un cultivo adecuado del hongo (11, 31).

4.1.11.2. MANTENIMIENTO E INCREMENTO DE VIRULENCIA DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS

La virulencia de ciertos hongos entomopatógenos puede ser reducida o perdida por cultivo repetido en medios artificiales. Este fenómeno está bien documentado con *Beauveria bassiana* Vuill, en la cual la reducción en virulencia ocurrió después de 16 transferencias y la producción de toxinas fue reducida después de cultivos repetidos. En la mayoría de los casos se reduce pero no desaparece totalmente y puede ser restaurada al nivel original inoculándolos sobre el hospedero fuente (18).

Se ha propuesto la incorporación de grasas animales dentro del sustrato nutritivo para mantener la virulencia. También la adición de varios químicos tales como la irradiación de esporas que aparentemente inciden mutantes estables con virulencia incrementada (18).

4.1.12 FACTORES QUE REGULAN LA EFECTIVIDAD DE UN HONGO

Baird, citado por De bach (11), lista los factores que regulan la efectividad de un hongo en los intentos del control biológico. Estos incluyen las condiciones del clima, la densidad del huésped, el micro-hábitat del patógeno y el huésped, la resistencia del huésped, y la virulencia del hongo, el punto de saturación del medio ambiente por el patógeno, la facilidad de la propagación artificial y distribución del hongo, época de aplicación, la habilidad del hongo para sobrevivir y diseminarse en una población de insectos, el efecto del patógeno sobre otros agente biológicos de control y el valor económico de tales medidas de control.

4.1.13. CULTIVOS DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Una consideración importante en el cultivo en masa de un hongo con el propósito de usarlo en control biológico, es la selección de cepas que mantengan un alto grado de virulencia

"in vitro" y que posean buena capacidad de crecimiento y esporulación. Hay varios hongos entomopatógenos los cuales no crecen "in vitro" o requieren medios muy complejos, usando insectos enfermos colectados en el campo o insectos saludables infectados en el laboratorio. El rendimiento o producción de esporas está determinado por el medio o sustrato usado para cultivar el hongo (29).

4.1.13.1 MEDIOS DE CULTIVO PARA HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los medios de cultivo utilizados para el desarrollo de microorganismos varían en su composición la cual puede ser definida como sintético o compleja como sucede cuando se le adicionan extracto de carne, levaduras, arroz, trigo, soya, malta, etc. Además por su consistencia puede ser sólida o líquida (14).

Para lograr el desarrollo y reproducción de los diferentes ordenes, géneros o especies de hongos en los medios de cultivo, deberán reunir características especiales y deben tomarse en cuenta los siguientes factores: en el medio de cultivo deberán estar presentes los elementos nutricionales tales como, fuentes de carbón, nitrógeno, macroelementos (P, K, Ca, S, Mg) microelementos (Fe, Zn, Mn, Cu, Mo), vitaminas, etc. Deberá proporcionar una humedad relativa favorable al hongo que se esta desarrollando en el medio de cultivo. El oxígeno debe estar presente en cantidades adecuadas ya que es indispensable para el desarrollo y reproducción de las especies de hongos, por lo cual, el elemento es necesario dentro de las cajas de petrí, tubos de ensayo o matraces, con medio de cultivo, la temperatura debe favorecer el desarrollo y reproducción de los géneros o especies de hongos y es necesario colocarlos a temperaturas óptimas, un pH de 5.5 en el medio de cultivo, favorecen el crecimiento de la mayoría de las especies de hongos, aun cuando algunas especies tienen requerimientos diferentes en cuanto a este factor, es conveniente proporcionar en el medio de cultivo el pH favorable a la especie en crecimiento, la luz es otro factor que influye en forma específica, por tanto, deben proporcionarse las condiciones favorables de la misma. El medio de cultivo debe estar en condiciones estériles y mantenerse a salvo de contaminantes (14).

Los Deuteromycetes son fácilmente reproducidos en medios de cultivo pero existen algunos hongos que son más exigentes, siendo difícil su cultivo. Alves, 1986 citado Garza (14), recomienda los siguientes medios de cultivo utilizados para hongos entomopatógenos:

1.- Agar sabouraud con extracto de levadura (SDA+Y)-Modificado

Neopeptona	10.0 gr.
Dextrosa	40.0 gr.
Extracto de levadura	10.0 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua destilada (esterilizar a 120 ^o C por 20 min.	1000 ml.

2.- Caldo sabouraud dextrosa con extracto de Levadura (SBD +Y)-Modificado

Neopeptona	10.0 gr.
Dextrosa	40.0 gr.
Extracto de levadura	5.0 gr.
Agua destilada (Distribuir en tubos de ensayo y esterilizar a 120 ^o C	1000 ml.

3.- Agar maltosa sabourad con extracto de levadura (medio para producción de esporas)

Neopeptona	10.0 gr.
Extracto de malta	40.0 gr.
Extracto de levadura	2.0 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua destilada esterilizar a 120 ^o C	1000 ml.

4.- Medio para *Hirsutela thompsonii*

Harina de soya	8%
Melasa	2%
KH ₂ PO ₄	1.5 mg/ml.
Mg SO ₄	0.5 mg/ml.
Ca CL ₂	0.01 mg/ml.

5.- Medio para *Nomuraea rileyi*

Neopeptona	10.0 gr.
Extracto de levadura	10.0 gr.
Na NO ₃	40.0 gr.

KH ₂ PO ₄	5.0 gr.
K Cl	1.5 gr.
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0.5 gr.
Fe SO ₄	0.01 gr.
Zn SO ₄	0.01 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua destilada	1000 ml.

6.- Medio para aislar *Metarrhizium sp.* de suelo

Agar	20.0 gr.
Neopectona	6.0 gr.
Glucosa	10.0 gr.
KH PO ₄	0.5 gr.
Mg SO ₄ 7H ₂ O	1.0 gr.
Agua destilada	1000 ml.
Ciclohexamina	200 gr.
Cloranfenicol	200 gr.
Streptomycin	100 mg.
Eritrocina	80 mg.

4.1.14. PRIMEROS HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los primeros hongos entomopatógenos fueron especies del género *Cordyceps* (clase Ascomycetes). Se conocen aproximadamente 250 especies, y han sido estudiados principalmente desde un punto de vista taxonómico, dicho género tiene una distribución cosmopolita y se presenta en especies de varias órdenes de insectos, principalmente Hemíptera, Díptera, Lepidóptera, Himenóptera y Coleóptera (11).

Se cree que algunas especies de *cordyceps* tienen un estado conidial, el cual se incluye en géneros de hongos imperfectos como *Spicaria* (*Isaria*), *Botrytis* e *Hirsutella* (11).

El ciclo de vida de la mayoría de los *Cordyceps* es similar al de los hongos entomopatógenos en general. El tubo germinativo de la espóra atraviesa el integumento del

hospedero penetrando a la cavidad del cuerpo en la que se desarrolla y forma un esclerocio, el cual eventualmente dará origen a un estroma fresco y a esporas (11).

Sobre la chinche apestosa (*Blissus leucopterus*) (Say), la variedad globulifera de *Beauveria bassiana* Vuill, se manifiesta en forma normal por un crecimiento algodonoso blanco y harinoso que a veces llega a envolver completamente al insecto. Aproximadamente en tres días el insecto muere a causa de la infección (11).

Otras micosis; Otro género de hongos imperfectos que contiene especies entomopatógenas importantes es *Spicaria* el cual se encuentra infectando a varias especies de Lepidópteras y Coleópteras. Se conocen cerca de 15 especies (11).

4.1.15. EFECTOS DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS AL HOMBRE Y ANIMALES SUPERIORES

Aunque la mayoría de hongos entomopatógenos se consideren inocuos para el hombre, se han reportado algunas reacciones alérgicas después de la cosecha de esporas de *Beauveria bassiana*. Actualmente se conocen algunas especies de *Aspergillus* y *Entomophthora coronata* que son capaces de infectar a los vertebrados y obviamente no debe ser usados para el control microbial. Una apropiada vestimenta y formulación cuidadosa puede reducir el peligro para los operadores de hongos (31).

4.2. MARCO REFERENCIAL

4.2.1 ESTUDIOS REALIZADOS CON *Paecilomyces farinosus*, Brown.

Este hongo entomopatógeno crece bien en medios artificiales, orgánicos e inorgánicos (papa-dextrosa-agar o PDA y arroz). Crece y esporula en un rango de temperatura de 25 a 30 grados centígrados. La luz es importante (fase oscura y lumínica). Se necesita humedad relativa baja, para producir la infección. La especificidad de los aislamientos limita las posibilidades de ataque a especies diferentes al hospedero original. Es imposible la resistencia ya que la población del microorganismo se reproduce más rápidamente que la de los insectos (34).

Aquino y Ruiz (4) demostraron que el entomopatógeno *Paecilomyces farinosus* Brown a una concentración de 1×10^7 esporas/ml, en aplicaciones semanales, en combinación con barreras de maíz, lograron controlar la plaga (mosca blanca) con mucho éxito.

Ignoffo 1988, citado por Aquino y Ruíz (4), en su estudio sobre el uso de insecticidas biológicos a nivel de invernadero, demuestra que ha tenido éxito, donde la humedad relativa es óptima para el desarrollo de los hongos empleados para su control. Los principales factores meteorológicos la sensibilidad, estabilidad y persistencia de los hongos entomopatógenos son la humedad, temperatura y luminosidad. Una preparación de *Verticillium lecanii* Nees, formulado como polvo humectante, controla efectivamente la mosca blanca bajo condiciones de invernadero con 75% de humedad relativa.

Ruíz, citado por García (13), señaló que el hongo entomopatógeno *Paecilomyces farinosus* Brown, demostró tener potencial para el control de la mosca blanca en condiciones de humedad relativa promedio de 63%; por lo tanto, se considera que este hongo tiene potencial para controlar esta plaga en condiciones de campo, donde la humedad relativa es con frecuencia baja.

Otras alternativas de control de la mosca blanca que han resultado promisorios son el uso de barreras vivas, aceites y extractos vegetales acuosos de malezas como el rabanillo

(*Raphanus rapinistrum*) y el diente de león (*Taraxacum officinale*), así también el uso de trampas amarillas para disminuir la población de insectos vectores (4).

4.2.2. CONTROL DE INSECTOS PLAGAS POR HONGOS

De acuerdo a las experiencia de control microbial, se han realizado muchos intentos para usar hongos entomopatógenos para controlar económicamente insectos; por ejemplo, Baird, citado por Roberts (31), lista 41 intentos exitosos para controlar 28 especies o grupos de insectos con hongos. No obstante en la actualidad ha sido escaso el listado como exitosos en cuanto al uso para programas de control. En la mayoría de los éxitos se ha usado *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* o una de las pocas especies de *entomophthora*.

Los hongos entomopatógenos pueden ser usados en tres formas diferentes para el control de insectos. El método de elección será determinado por las características de los hongos y el insecto en cuestión. Los métodos son (11):

- 1) Colonización: el hongo es introducido dentro de una población de insectos en donde éste se convierte en estable permanentemente. Así plagas de insectos son muertas año tras año con pocas introducciones del hongo.
- 2) Insecticida microbial: al igual que los insecticidas químicos, las aplicaciones son hechas repetidamente como es requerido para el control de las poblaciones de insectos plaga.
- 3) Control integrado; las técnicas de control son seleccionadas y tienen mínimos efectos adversos en mortalidad natural, factores tales como parásitos, depredadores y patógenos. Los hongos entomopatógenos pueden jugar un papel importante, como un agente controlador o como una factor natural de mortalidad el cual garantiza protección.

4.2.3. USO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS COMO CONTROL MICROBIAL EN GUATEMALA

En el cultivo de la caña de azúcar se ha utilizado el hongo *Nomurea rileyi* para controlar el falso medidor (*Trichoplusia nii*, *Pseudoplusia includens*), gusano soldado y prodenia (*Spodoptera exigua* y *S. sunia*) (9).

Durante 1980/81 y 1982/83, se diseminaron *Metarrhizium* y *Entomophthora* sp. Para controlar la chinche salivosa (*Aenolamia* sp.), en el cultivo de la caña de azúcar. La mortalidad alcanzó el 90% de adultos (9).

4.2.4. PRESENCIA DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN INSECTOS PLAGA

En el Laboratorio integral de Protección Agrícola del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), de Quetzaltenango, se determinó la presencia de hongos benéficos asociados a plagas de insectos. *Spicaria* sp. que parasita ninfas y adultos de la chinche hedionda (*Scaptacoris talpa* Champion); la patogenicidad es mayor en adultos. *Entomophthora* sp. se encontró asociado a larvas de *Nymphalido*, la infección afecta el estado normal del hospedero causando la muerte de larvas. *Clodosporium* sp. se encontró parasitando el áfido (*Shizaphis graminis*), en el cultivo del trigo, avena y cebada. Un ecotipo de *Beauveria* sp. Se encontró controlando el estado inmaduro de *Phyllophaga* sp. Se determinó que *Nomuroea rileyi* existe como control biológico de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo del maíz (15).

4.2.5. DESCRIPCION GENERAL DEL AREA DE RECOLECCION DE INSECTOS MUERTOS

4.2.5.1. LOCALIZACION

El muestreo para la obtención de material utilizado en la presente investigación se realizó en el municipio de Zaragoza del departamento de Chimaltenango (fig. 3), se encuentra en las coordenadas siguiente: Latitud norte 14° 38' 59", longitud Oeste de 90° 53' 21" y una altura de 2,000 msnm. El patrón de lluvia oscila entre 1,057 y 1,588 mm. y el promedio anual es de 1,344 mm. La temperatura varía de 15 a 23 grados centígrados, zona de vida bosque húmedo montano bajo subtropical (16).

4.2.5.2. CLIMA

Temperatura media anual de 17 grados centígrados y una precipitación media anual de 961.70 mm (17).

Según el mapa climatológico de la república de Guatemala (16), el clima es templado con invierno benigno, húmedo con bosque como vegetación natural, con invierno seco.

4.2.5.3. ZONA DE VIDA

Según Holdridge (21), Zaragoza se encuentra enmarcada en la zona de vida bosque húmedo montano bajo subtropical, la vegetación natural típica esta representada por especies de *Quercus sp.* Asociado generalmente con *Pinus pseudostrobus Lind* y *Pinus moctesumae Lamber.*

4.2.5.4. SUELOS

Estos suelos, de acuerdo a la clasificación de suelos de la república de Guatemala, por Simons (36), pertenecen a la serie Cauqué. Los que se caracterizan por ser profundos, desarrollados sobre cenizas volcánicas, de color claro, ocupan declives dominantes de 10 a 15%, con drenajes a través del suelo regular y con una capacidad de abastecimiento regular en cuanto a humedad y de ninguna capa que limita la penetración de las raíces, la fertilidad es alta, uno de los problemas que debe combatirse es la erosión con un alto mantenimiento de materia orgánica.

4.2.6. CONDICIONES DEL LABORATORIO

El desarrollo del bioensayo para la presente investigación se realizó en el Laboratorio de La Subárea de Protección de Plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, así como en el Laboratorio Agrícola el Sol, proporcionando para ello los materiales necesario requeridos como; microscopio esteroscópico, incubadora, cajas de petrí, vidrios de reloj, pinzas, hematocímetro, etc. Entre otras condiciones adecuadas para el desarrollo de la investigación, como la disposición de la sala de crecimiento.

5. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- 5.1. Determinar el agente causal de la muerte de la mosca blanca (*Homóptera: Aleyrodidae*) en condiciones del Laboratorio de la subárea de protección de plantas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de san Carlos de Guatemala.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 5.2. Aislar el hongo que causa la muerte de la mosca blanca (*Homóptera: Aleyrodidae*) en condiciones de laboratorio.
- 5.3. Identificar a nivel de laboratorio, el género del hongo aislado.
- 5.4. Desarrollar pruebas de patogenicidad bajo condiciones de laboratorio para comprobar la efectividad del hongo aislado.

6. HIPOTESIS

- 6.1. El hongo entomopatógeno que causa la muerte de la mosca blanca en condiciones naturales se puede aislar a nivel de laboratorio.
- 6.2. El hongo entomopatógeno aislado, sí causa la muerte de la mosca blanca.

7. METODOLOGIA.

7.1. MANEJO DEL EXPERIMENTO

La investigación fue realizada en dos fases; de campo y de laboratorio

7.1.1. FASE DE CAMPO

Esta fase consistió en coleccionar moscas blancas muertas (infectadas), en el municipio de Zaragoza Chimaltenango, principalmente en el envés de las hojas del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Miller) y frijol (*Phaseolus vulgaris*), así como de otras malezas que se encontraban en el área; tomatillo (*Physalis sp.*) y bleo (*Amaranthus sp.*), cuyas plantas se dejaron crecer, con la finalidad de que estas también fueran plantas trampa para el desarrollo del entomopatógeno. En el área de recolección (Zaragoza), se evitó la aplicación de plaguicidas con el propósito de lograr la propagación del hongo que ha estado infectando y causando la muerte de la mosca blanca desde el año 1,998.

Las moscas blancas colectadas (con presencia de entomopatógeno) se introdujeron en frascos estériles, trasladándolos al laboratorio de la subárea de protección de plantas de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos, para su respectivo aislamiento.

7.1.2. FASE DE LABORATORIO

Las cepas de moscas blancas colectadas en Zaragoza, Chimaltenango, se observaron con la ayuda de un estereoscopio, para verificar la presencia del hongo entomopatógeno.

7.2 DESINFECCION DEL CUERPO DE LA MOSCA BLANCA

A las cepas de moscas blancas, con presencia del hongo entomopatógeno, se le eliminaron las alas, sumergiendo únicamente el cuerpo en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante dos minutos agitando suavemente para que los mismos entraran en contacto con la solución, para lograr una buena desinfección. Posteriormente los insectos fueron pasados dos veces a un vidrio de reloj, conteniendo agua destilada estéril, para eliminar posibles residuos adheridos de hipoclorito de sodio.

Una vez desinfectado de impurezas el cuerpo de las moscas blancas, se trasladaron a cajas de petrí con papel filtro, de esta manera se eliminó el exceso de agua, adquirida en el proceso de desinfección.

7.3. AISLAMIENTO DEL ENTOMOPATOGENO

El aislamiento del hongo entomopatógeno, se logró mediante la siembra directa de los cuerpos desinfectados de moscas blancas en cajas de petrí, conteniendo el medio nutritivo agar sabouraud con extracto de levadura. Dichos medios se trasladaron a una incubadora a una temperatura de 25 grados centígrados, durante un período de 24 a 48 horas, en la cual se observó crecimiento micelial y desarrollo de esporas.

7.4. IDENTIFICACION DEL ENTOMOPATOGENO

Una vez desarrollado el hongo, se procedió a obtener muestras de esporas, colocando las mismas sobre un porta objeto, para ello se realizaron varios montajes, aplicando distintos colores de lactofenol y con la ayuda de un estereoscopio y microscopio, se procedió a observar las características de dicho hongo, que causa la muerte de la mosca blanca así como su identificación respectiva.

7.5. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

7.5.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo este bioensayo se utilizó un diseño completamente al azar, el cual consistió en 10 tratamientos y 4 repeticiones.

Cada unidad experimental consistió en una caja de petrí, siendo una cantidad total de 40 unidades experimentales.

7.5.2. MODELO ESTADISTICO

Se utilizó el modelo estadístico siguiente:

$$\gamma_{\lambda j} = \mu + \tau_{\lambda} + \epsilon_{\lambda j}$$

$\gamma_{\lambda j}$: variable de respuesta; número de insectos muertos

μ : media general

- $\tau\lambda$: efecto del λ -ésimo tratamiento (1....10)
 $\varepsilon\lambda j$: efecto del error experimental asociado a la λ -ésima caja de petrí.

7.5.3. DESCRIPCION DE LOS TRATAMIENTOS

Para la presente investigación se plantearon diez tratamientos y cuatro repeticiones, cuyas concentraciones planteadas se obtuvieron de la concentración madre (esporas diluidas en una solución de Tween 20 estéril al 0.002%), la cual se aplicó de la siguiente manera:

Tratamiento (Testigo)	A	=	Cero cantidad de esporas	Un ml. de agua estéril
Tratamiento	B	=	$1 * 10^1$	esporas/ml.
Tratamiento	C	=	$1 * 10^2$	esporas/ml.
Tratamiento	D	=	$1 * 10^4$	esporas/ml.
Tratamiento	E	=	$1 * 10^6$	esporas/ml.
Tratamiento	F	=	$1 * 10^8$	esporas/ml.
Tratamiento	G	=	$1 * 10^{10}$	esporas/ml.
Tratamiento	H	=	$1 * 10^{12}$	esporas/ml.
Tratamiento	I	=	$1 * 10^{14}$	esporas/ml.
Tratamiento	J	=	$1 * 10^{16}$	esporas/ml.

La distribución de los tratamientos se hizo en forma aleatorizada (figura 4).

7.5.4 REPRODUCCION DE ESPORAS DEL ENTOMOPATOGENO

Las esporas aisladas y desarrolladas en el medio de cultivo, fueron diluidas en una solución de Tween 20 estéril al 0.002% (Surfactante para romper la tensión superficial). Posteriormente fueron inoculadas en cajas de petrí con el medio de cultivo (Agar saboruauud mas extracto de levadura), seguidamente se trasladaron dichas cajas de petrí a una incubadora a 25 grados centígrados durante 24 horas. Después se observaron al estereoscopio para determinar el porcentaje de germinación (presencia de micelio y esporas), para el cual se dividió el área de la caja de petrí en cuatro partes. Todas las cajas superaron el

90% de germinación, por lo que hubo suficiente material (micelio y esporas), a utilizar en el bioensayo.

7.5.5. PREPARACION DE SOLUCION MADRE Y CONCENTRACIONES PARA LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Para obtener la mayor cantidad de esporas en la solución madre se utilizaron treinta y dos cajas de petrí del cual todos superaban el 90% de germinación. Dicha solución madre se realizó en un Beaker de 1000 ml. conteniendo agua destilada, estéril. Teniendo la concentración madre con suficiente cantidad de esporas, con la ayuda de la caja de New beauer y un hematocímetro se procedió a realizar el conteo de esporas. En esta fase se determinó la cantidad de esporas a aplicar en cada tratamiento. Seguidamente se procedió a realizar las respectivas diluciones contempladas para las pruebas preliminares de patogenicidad.

7.5.6. INSTALACION DEL ENSAYO

Para realizar el bioensayo fue necesario la recolección de hojas de tomate que contenían ninfas de mosca blanca, luego se cortaron cuadros de hojas de un tamaño de nueve centímetros cuadrados (09 cm²) y con la ayuda de un estereoscopio se dejaron únicamente 40 ninfas de mosca blanca, libre de cualquier tipo de impureza.

7.5.7. APLICACION DEL INOCULO

El entomopatógeno se aplicó sumergiendo (método de inmersión) (32), individualmente los cuadros de hojas de tomate (*Lycopersicon esculentum Miller*) (09 cm²), en las suspensiones de esporas correspondiente a las cuatro repeticiones durante un minuto. La solución se agitó manualmente para evitar la sedimentación de las esporas. Los cuadros de hojas se dejaron secar a temperatura ambiente. Para el caso del testigo los cuadros de hojas se sumergieron solamente en agua destilada estéril, con cero cantidad de esporas. Seguidamente se colocaron dentro de una caja de petrí conteniendo papel filtro, al que se agregó 1 ml. de agua destilada estéril para mantener la humedad. Dichas cajas se mantuvieron cerradas durante 48 horas a una temperatura de 25 grados centígrados dentro de una incubadora para asegurar una humedad saturada. Transcurridos las primeras 48 horas se transfirieron a una sala de crecimiento, a una temperatura de 24 grados centígrados, regulándolo con una unidad de aire

acondicionado y abriéndolas parcialmente durante las primeras 48 horas, para evitar la condensación de agua, con ello se evitó la mortalidad de moscas blancas en el testigo. Todas las cajas de petrí utilizadas en el experimento se les agregó un mililitro de agua destilada estéril diariamente, hasta el último día (14 días), con la finalidad de que el material utilizado mantuviera una humedad adecuada. En esta última fase permaneció hasta finalizar el experimento de patogenicidad.

7.6. VARIABLE DE RESPUESTA

7.6.1. NUMERO DE INSECTOS MUERTOS

A los 14 días después de la inoculación, los insectos muertos fueron colocados en cajas de petrí con papel filtro húmedo, para favorecer la humedad, luego se procedió a observar con la ayuda de un estereoscopio el estado en que se encontraban las moscas, tomando en cuenta para los cálculos estadísticos, únicamente los que presentaban, esporulación alguna sobre su cuerpo, debido a la acción del entomopatógeno, inoculado. Seguidamente se hizo el conteo correspondiente para determinar el porcentaje de mortalidad.

7.7. ANALISIS DE LA INFORMACION

7.7.1. ANALISIS DE VARIANZA

Con los datos obtenidos de los resultados del bioensayo (presencia de moscas muertas, por la acción del hongo entomopatógeno), se analizaron los resultados, para ello se realizó un análisis de varianza, para evaluar la significancia entre tratamientos aplicados. Para dicho análisis se utilizó el paquete estadístico "Sistema de análisis estadístico" (SAS) (cuadro 4).

7.7.2. PRUEBA DE MEDIAS

Para la determinación de tratamientos que presentan mayor cantidad de insectos muertos o una mayor mortalidad, se utilizó el comparador múltiple de medias (prueba Tukey al 5%).

8. RESULTADOS Y DISCUSION

8.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL ENTOMOPATOGENO

Posterior al aislamiento y cultivo del hongo se realizaron varios montajes al microscopio, determinando la identificación del entomopatógeno encontrado en el municipio de Zaragoza Chimaltenango, corresponde al nombre de *Verticillium lecanii* Nees.

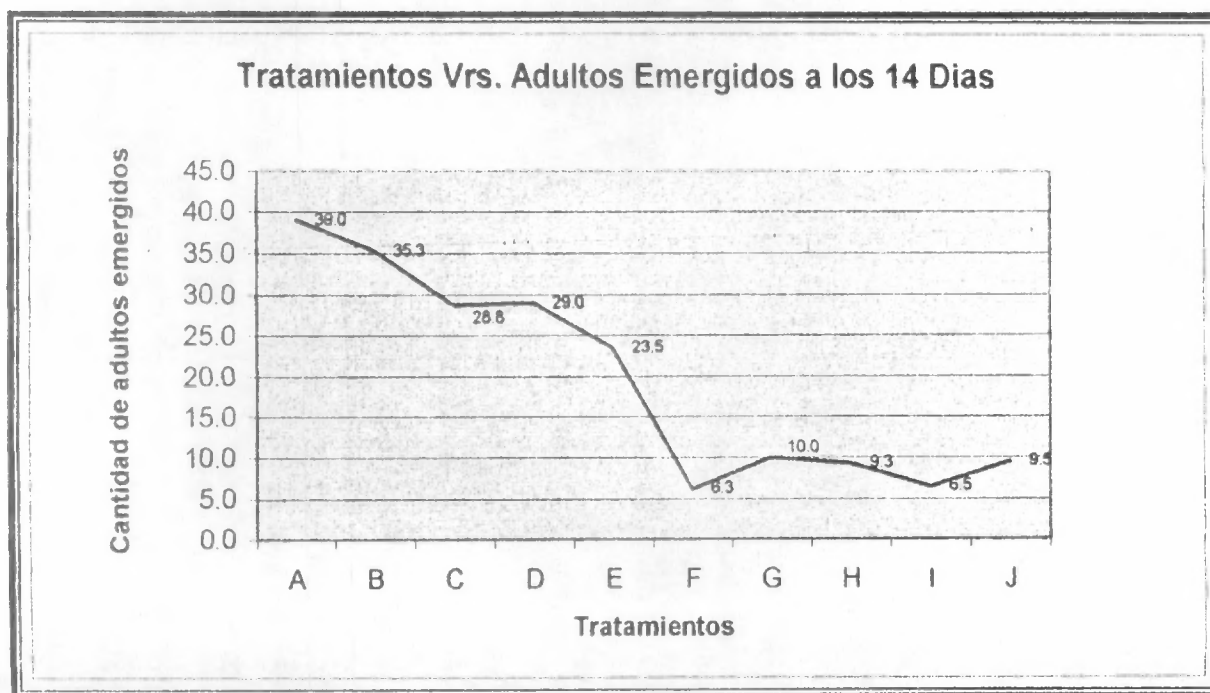
Dicho microorganismo pertenece a la división Eumycota y a la subdivisión Deuteromycotina, cuyas clases que pertenecen a ésta se caracterizan por no presentar estado sexual, por lo tanto se les conoce como hongos imperfectos o mitospóricos, *Verticillium lecanii* Nees se caracteriza por presentar conidióforos ramificados o verticilados, en la parte terminal se forman conidios pequeños, redondeadas y hialinas, este hongo se encuentra comúnmente en áfidos y mosca blanca (14).

En esta fase se pudo comprobar que el entomopatógeno *Verticillium lecanii* Nees que parasita a la mosca blanca en condiciones naturales, encontrado en el municipio de Zaragoza, Chimaltenango, fue el mismo que actuó a nivel de laboratorio. De manera que el entomopatógeno colectado en cepas de moscas blancas, en dicho lugar, fue aislado e identificado exitosamente.

8.2. NUMERO DE INSECTOS MUERTOS

En base a la metodología planteada, en el presente experimento, se realizaron observaciones oculares diariamente, por lo que se pudo comprobar que el cuarto día posterior a la inoculación empezaron a aparecer moscas adultas, en las distintas unidades experimentales (cajas de petrí), mayormente en el testigo. A los 14 días después de haber montado el bioensayo, se procedió a realizar las observaciones finales al estereoscopio tomándose en cuenta solamente aquellos insectos que presentaban micelio y esporas sobre su cuerpo, ya que algunos insectos pudieron haberse muerto por falta de alimento, agua o algún otro factor, el cual se contempla en el análisis estadístico (error experimental).

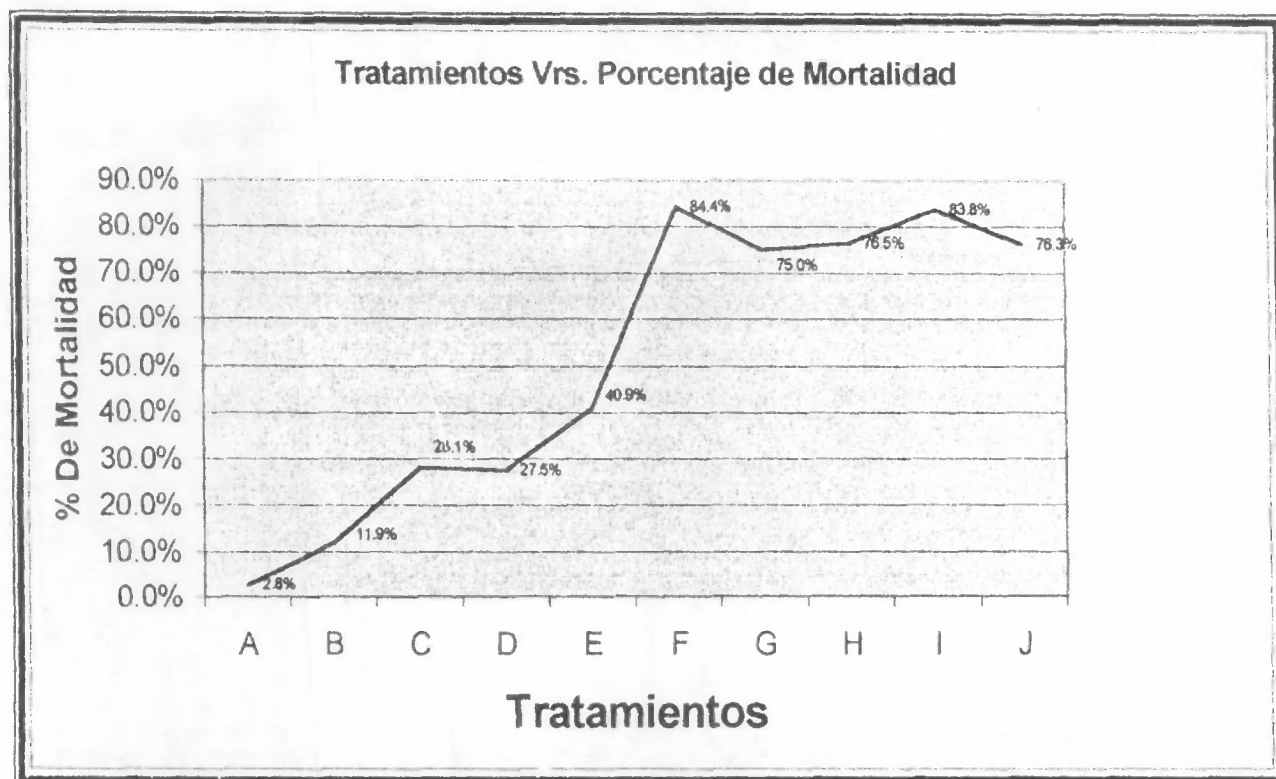
FIGURA 1. Análisis de los tratamientos Vrs. Cantidad de moscas adultas emergidos a nivel de laboratorio, 14 días después de aplicación del inóculo. Guatemala 2000.



Los tratamientos evaluados en la presente investigación muestran distintos porcentajes de mortalidad, por la acción del hongo *Verticillium lecanii* Nees; El tratamiento "A" (Testigo) fue donde se obtuvo un mayor número de adultos emergidos, debido a que no se aplicó ninguna cantidad de esporas, similar comportamiento se obtuvo en los tratamientos "B", "C", "D" y el tratamiento "E" a los cuales la cantidad de esporas aplicadas fueron relativamente menores. De acuerdo a la gráfica 1 el tratamiento "F" al que se le aplicó 1×10^8 esporas/ml. fue donde se obtuvo menor cantidad de moscas adultas emergidas, similar respuesta se obtuvo en el tratamiento "I"; siendo estas dos últimas las que presentan alta mortalidad en el presente experimento. En el tratamiento "G" aumentó la presencia de moscas adultas, pueda que éste aumento se debió a la resistencia de los insectos o por la poca adherencia de esporas a las mismas, similar comportamiento se obtuvo en los tratamientos "H" y "J" respectivamente.

De acuerdo a los distintos tratamientos evaluados en la presente investigación fue necesario realizar un análisis del porcentaje de mortalidad, obtenido a nivel de bioensayo, cuyo resultados se presentan a continuación.

FIGURA 2. Análisis de los tratamientos Vrs. Porcentaje de mortalidad de moscas blancas, por la acción de *Verticillium lecanii* Nees. Guatemala 2000.



Los distintos tratamientos evaluados en ninfas de moscas blancas, se les aplicó diferentes concentraciones de esporas, cuyo comportamiento respecto al porcentaje de mortalidad obtenido después de los catorce días fue distinta entre tratamientos. De acuerdo a los resultados que muestra la figura 2, el mayor porcentaje de mortalidad se encontró en el tratamiento "F", similar resultado se obtuvo en el tratamiento "I". En los tratamientos "A" a la "E" el porcentaje de mortalidad fue aumentando conforme la cantidad de esporas aplicadas fue mayor.

Para el análisis estadístico se tomaron en cuenta solamente los insectos que tenían presencia de esporas sobre su cuerpo, ya que algunas se pudieron haber muerto por estrés, falta de alimento u otro factor.

Por lo que se puede decir que el efecto del inóculo, tiene una relación directa entre porcentaje de mortalidad y dosis. Lo anterior significa que para poder encontrar la dosis mínima letal, es necesario evaluar tratamientos de dosis más bajas, válidas para especie de *Verticillium lecanii* Nees, encontrado en el municipio de Zaragoza, Chimaltenango.

Los resultados del presente experimento se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA), para analizar el porcentaje de mortalidad de dicho hongo entomopatógeno, cuyos resultados se presenta a continuación:

CUADRO 1. Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de mosca blanca, provocado por la virulencia del entomopatógeno *Verticillum lecanii*, bajo condiciones de laboratorio. Guatemala 2000.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F. c	Pr.>F.
Tratamiento	9	36337.28000	4037.47556	82.57*	0.0001
Error	30	1466.94000	48.89800	-----	-----
Total	39	37804.22000	-----	-----	-----

* = Existe diferencia estadística significativa con un α 0.05.
C.V. = 13.79%.

Los resultados estadísticos obtenidos según el análisis de varianza, calculado a un alfa de 0.05, para la presente investigación, nos indica que las distintas concentraciones evaluadas en ninfas de moscas blancas a nivel de laboratorio, provocan la mortalidad de dicho insecto. Siendo la "F" calculada mucho mayor que la "F" tabulada, cuyos resultados obtenidos nos dan un parámetro que existe diferencias significativas entre dichos tratamientos evaluados.

De acuerdo a los resultados antes mencionados se procedió a realizar una prueba de Tukey al 5%, como comparador de múltiple de medias, para determinar el grado de relación entre las distintas concentraciones evaluadas en la presente investigación, así como el análisis del porcentaje de mortalidad de la mosca blanca.

CUADRO 2. Prueba de Tukey para el porcentaje de mortalidad de la mosca blanca, provocado por la virulencia del entomopatógeno *Verticillum lecanii* Nees, bajo condiciones de laboratorio. Guatemala 2000.

TRATAMIENTO	% DE MORTALIDAD	GRUPO TUKEY *
F (1 X 10 ⁸ esporas/ml)	84.37	A
I (1 X 10 ¹⁴ esporas/ml)	83.75	A
H (1 X 10 ¹² esporas/ml)	76.5	A
J (1 X 10 ¹⁶ esporas/ml)	76.25	A
G (1 X 10 ¹⁰ esporas/ml)	75.0	A
E (1 X 10 ⁶ esporas/ml)	40.85	B
C (1 X 10 ² esporas/ml)	28.12	B C
D (1 X 10 ⁴ esporas/ml)	27.50	B C
B (1 X 10 ¹ esporas/ml)	11.87	C D
(0 esporas/ml)Testigo	2.77	D

* Los tratamientos con la misma letra, son estadísticamente iguales.

Todos los tratamientos evaluados difieren estadísticamente del testigo. Cinco concentraciones de *Verticillum lecanii* Nees causaron mortalidades entre 75 y 84%, en aplicaciones de concentraciones de inóculo que van de 1 X 10⁸ a 1 x 10¹⁶ esporas/ml.

La diferencia significativa de estos tratamientos, con respecto al testigo se debió a la virulencia del hongo y no al efecto de las condiciones experimentales, dado a que otros tratamientos con menores concentraciones del inóculo, causaron un bajo porcentaje de mortalidad de moscas blancas, más no así en el testigo donde las mortalidades de moscas blancas fueron casi nulas, (2.5% de mortalidad), dicho porcentaje de mortalidad quizá se debió a la falta de alimento para que estas pudieran sobrevivir u otros factores bióticos y abióticos que pudieron afectar a las mismas. Las ninfas que no pasaron a la fase adulta fueron parasitadas por el hongo, las que fueron identificadas, por presentar esporas sobre su cuerpo en el momento del análisis correspondiente.

Este resultado es de gran importancia ya que el entomopatógeno se encontró en regiones del altiplano central de nuestro país, bajo condiciones naturales. Así mismo en el ámbito nacional son escasos los informes en cuanto al efecto de *Verticillum lecanii* Nees, por lo tanto éste tipo de investigaciones demuestran que los hongos entomopatógenos pueden ser un potencial para el desarrollo de micoinsecticidas.

La efectividad de las concentraciones altas de inóculo sobre poblaciones de ninfas de moscas blancas evaluadas en la presente investigación, probablemente se debió al aumento del estrés, la susceptibilidad del insecto y la probabilidad de contar con más esporas viables y virulentas.

9. CONCLUSIONES

- a) El hongo entomopatógeno que causó la muerte de la mosca blanca en condiciones naturales se aisló, a nivel de laboratorio, utilizando el medio de cultivo agar, sabouraud mas extracto de levadura.
- b) El hongo entomopatógeno *Verticillum lecanii* Nees, evaluado mediante una prueba de patogenicidad en ninfas de moscas blancas, dió como resultado distintos porcentajes de mortalidad, excepto el testigo, al cual se le aplicó cero cantidad de esporas, siendo el tratamiento "F" el que causó un mayor porcentaje de mortalidad (concentración 1×10^8), el cual corresponde al 84.37%.
- c) Se comprobó que el hongo entomopatógeno que se aisló e inoculó en moscas blancas fue *Verticillum lecanii* Nees.
- d) Según Tukey los distintos tratamientos evaluados en la presente investigación presentaron diferencias estadísticas entre sí, más sin embargo hay un grupo que manifiestan similitud en cuanto a la efectividad del entomopatógeno aplicado, siendo los tratamientos con concentraciones desde 1×10^8 hasta 1×10^{16} esporas/ml.
- e) Se encontró una tendencia directa entre la dosis y el porcentaje de mortalidad; a mayor dosis mayor mortalidad.

10. RECOMENDACIONES

- a) Para el aislamiento del hongo entomopatógeno *verticillum lecanii* Nees se recomienda que la muestra a utilizar debe inocular inmediatamente ya que pierde fácilmente su viabilidad, así también requiere condiciones adecuadas para su esporulación.
- b) Para futuras investigaciones se recomienda evaluar concentraciones menores a las realizadas en este estudio, ya que es necesario determinar la dosis mínima letal.
- c) Se recomienda realizar nuevas investigaciones en *Verticillum lecanii* Nees, con el propósito de determinar el costo real para su reproducción.
- d) La presente investigación se orientó a realizar pruebas preliminares de patogenicidad por lo que el inóculo se aplicó por el método de inmersión. Para futuras investigaciones es necesario evaluar diferentes métodos de aplicación de micoinsecticidas, para conocer cual es el más adecuado para *Verticillum lecanii* Nees.
- e) Para comprobar la efectividad del hongo entomopatógeno *Verticillum lecanii* Nees, es necesario realizar pruebas a nivel de campo.
- e) El hongo *Verticillum lecanii* Nees para el control de mosca blanca, es necesario darle seguimiento a su investigación ya que el mismo puede disminuir el costo para combatir ésta plaga así como contribuye a la no contaminación del medio ambiente. Por lo tanto este hongo entomopatógeno, dentro del control microbiano se perfila como un componente promisorio en un programa de manejo integrado de plagas.

11. BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G. N. 1991. Fitopatología. México, Limusa. p 33
2. ANDERSON, P.K. 1993. Un modelo para la investigación en mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en las moscas blancas (*Homóptera: Aleyrodidae*) en América Central y el Caribe. Costa Rica, CATIE. p. 27-33.
3. _____. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el Hemisferio Occidental. Manejo Integrado de Plagas (C. R.) no. 53:24-42.
4. AQUINO B., T.; RUIZ V., J. 1999. Manejo de *Bemisia tabaci*, mediante barreras vivas y *Paecilomyces* en Oaxaca, México. Manejo Integrado de Plagas (C. R.), 52:80-88.
5. BUSTILLO P.A.F. 1987. Uso entomopatógenos. Manejo integrado de plagas (C. R.) no. 2: 32-50
6. CASTILLO GALINDO, M.A. 1994. Evaluación de ocho materiales genéticos de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Miller), bajo dos sistemas de manejo y su tolerancia al virus del acolochamiento de la hoja, en Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía, p 43-45.
7. CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA, (C. R.). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. p. 138-151.
8. CORDON, C., E.S. 1990. Evaluación del aumento en la población de individuos resistentes de picudo *anthonomus eugenii*, Cano, a insecticidas de seis grupos toxicológicos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía p. 92
9. CORDOVA, V.; MORALES J. 1981. Eficiencia de insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius). En Curso Internacional de Control Integrado de Plagas. (1981, Guatemala. Memoria. Guatemala, ICTA. p. 10-20
10. _____. 1982. Control biológico en *Bemisia tabaci* (Gennadius). En Curso Internacional de Control Integrado de Plagas. (1981, Guatemala). Memoria. Guatemala, ICTA. p. 85
11. DeBACH, P. 1968. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Trad. Carlos Manuel Castellanos. México, Continental 949 p.
12. _____. 1987. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México, Continental p. 613-708

13. GARCIA, J. E. 1988. El mito del manejo seguro de plaguicidas en los países de desarrollo. Costa Rica, Manejo Integrado de Plagas. p. 45-58
14. GARZA, G. E. 1987. Biología, identificación y uso de los hongos entomopatógenos. México, Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. p. 30-60.
15. GUATEMALA. INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLA. 1988. Informe técnico laboratorio integral de protección agrícola. Guatemala s. p.
16. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1970. Mapa climatológico de la república de Guatemala. Guatemala. Esc. 1:50,000. Color.
17. GUATEMALA. INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. 1,990. Hojas de archivo de los registros climatológicos de las estaciones metereológicas, estación Alameda ICTA No. 3.1.2.

Sin publicar

18. HERRERA, F.; CARBALLO, M.; SHANON P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. Manejo Integrado de plagas, (C. R.) no. 54:37-43.
19. HILJE, L. 1996. Metodologías para el estudio y manejo de mosca blanca y geminivirus. Turrialba, Costa Rica, CATIE, Unidad Fitoprotección. Serie Materiales de Enseñanza, no. 37. 133 p.
19. IGNOFFO, C.M. 1988. CRC handbook of natural pesticides. Boca Ratón, Florida. E.E. U.U. s. n. p. 39.
20. HOLDRIDGE, L.R. 1957. Texto aplicativo del mapa de zonificación ecológica de Guatemala, según sus formas vegetales. Guatemala, Ministerio de Agricultura. p 51
22. KHACHATOURIANS, G. 1986. Production and use of biological pest control agents. Tiptech, Holanda, s. n. p. 120-124.
23. KING, A.B.S.; SAUDERS, J. L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, Administración de Desarrollo Extranjero. p. 113-114.
24. LARIOS, C.; J.F. 1987. Insectos como vectores de fitopatógenos y la determinación de umbrales económicos de daño. Manejo integrado de plagas (C. R.) no. 3: 1-21
25. LEITH, L.A.; QUEZADA, J.R. 1968. Boletín informativo del departamento de protección vegetal. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana el Zamorano. 219 p.

26. MONTERROSO, M.A.P. 1990. Evaluación de patogenicidad de un nemátodo entomófago y tres cepas de hongos entomopatógenos en control de las cochinillas de las raíces del café (*Pseudococcus sp.* y *Geococcus coffea Green*) a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro Universitario de Occidente. 64 p.
27. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (E.E. U.U.) 1978. Manejo y control de plagas de insectos. Trad. Modesto Rodríguez de la Torre. 3 ed. México, Limusa. 522 p.
28. _____. 1988. Efecto de plaguicidas en la fisiología de frutas y hortalizas. México, Limusa. p. 61-64.
29. POSADA F., F.J.; VELEZ A., P.A. 1997. Registro de hospedantes y aislamientos de *Beauveria bassiana*, en la colección de hongos entomopatógenos de CENICAFE, Colombia. Manejo Integrado de Plagas (C. R.), no. 46:50-60.
30. PUAC, CH.; P.C. 1992. Evaluación de la patogenicidad de tres nemátodos entomófagos y dos cepas de hongos entomopatógenos en el control inmaduro del género, *Anastrepha ludens* y *Anastrepha serpentina*, en condiciones controladas. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro Universitario de Occidente. 64 p.
31. ROBERTS, D.W.; YENDOL, W.G. 1971. Use of fundagi for microbial control of insects, microbial control of insect and mites. ed. H. D. Burger and N. W. Hussey. London, Academic Press. p. 125-149.
32. RODRIGUEZ, C. 1982. Método para la determinación de resistencia de los principales plagas agrícolas. México, Colegio de postgraduados, Centro de Entomología y Acarología. 21 p.
33. RAMIREZ, P.; MAXWELL D. Geminivirus, transmitidos por moscas blancas. Manejo Integrado de Plagas, (C. R.) no. 36: 22-36.
34. RUIZ V.,J.; IBARRA R., J.E.; PEREZ P. 1996. Bioensayos con hongos entomopatógenos en ninfas de mosca blanca. Hortalizas (Mex.), 4(2):92-97.
35. SALGUERO, V. 1993. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. ed. por L. Hilje; Arboleda. Turrialba, Costa Rica, CATIE, p. 59-75.

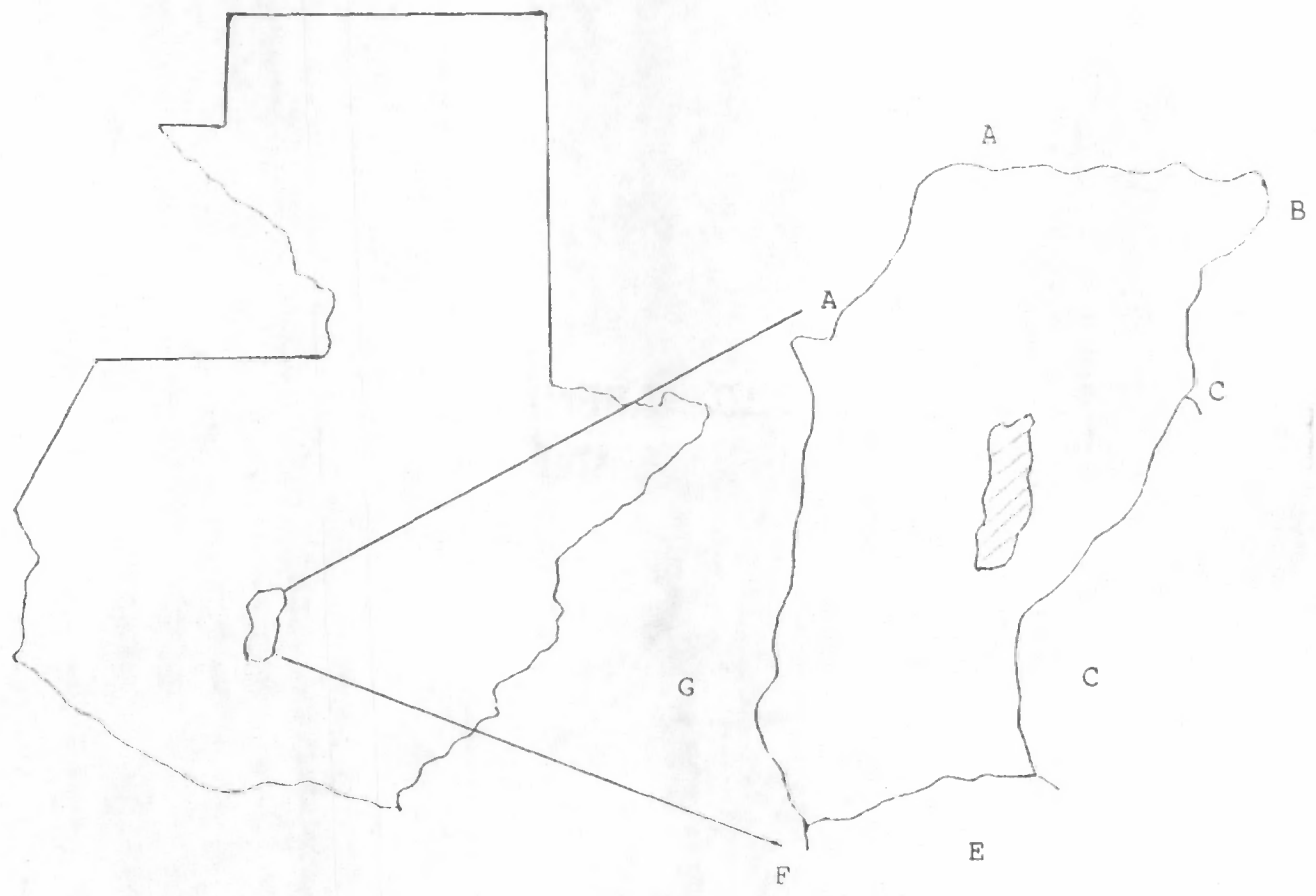
36. SIMMONS, Ch. S.; TARANO, J.M.; PINTO, J.H. 1959. Clasificación y reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala. Trad. Por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, ed. José Pineda Ibarra. 1000 p.

vo. B^o

Guam De La Rosa



12. APENDICE



REFERENCIA

- | | |
|-----------------|------------------|
| A) El Quiché | E) Escuintla |
| B) Baja Verapaz | F) Suchitepéquez |
| C) Guatemala | G) Sololá |
| D) Sacatepéquez | ▨ Zaragoza |

FIGURA 3. Ubicación del municipio de Zaragoza en el departamento de Chimaltenango, en la república de Guatemala.

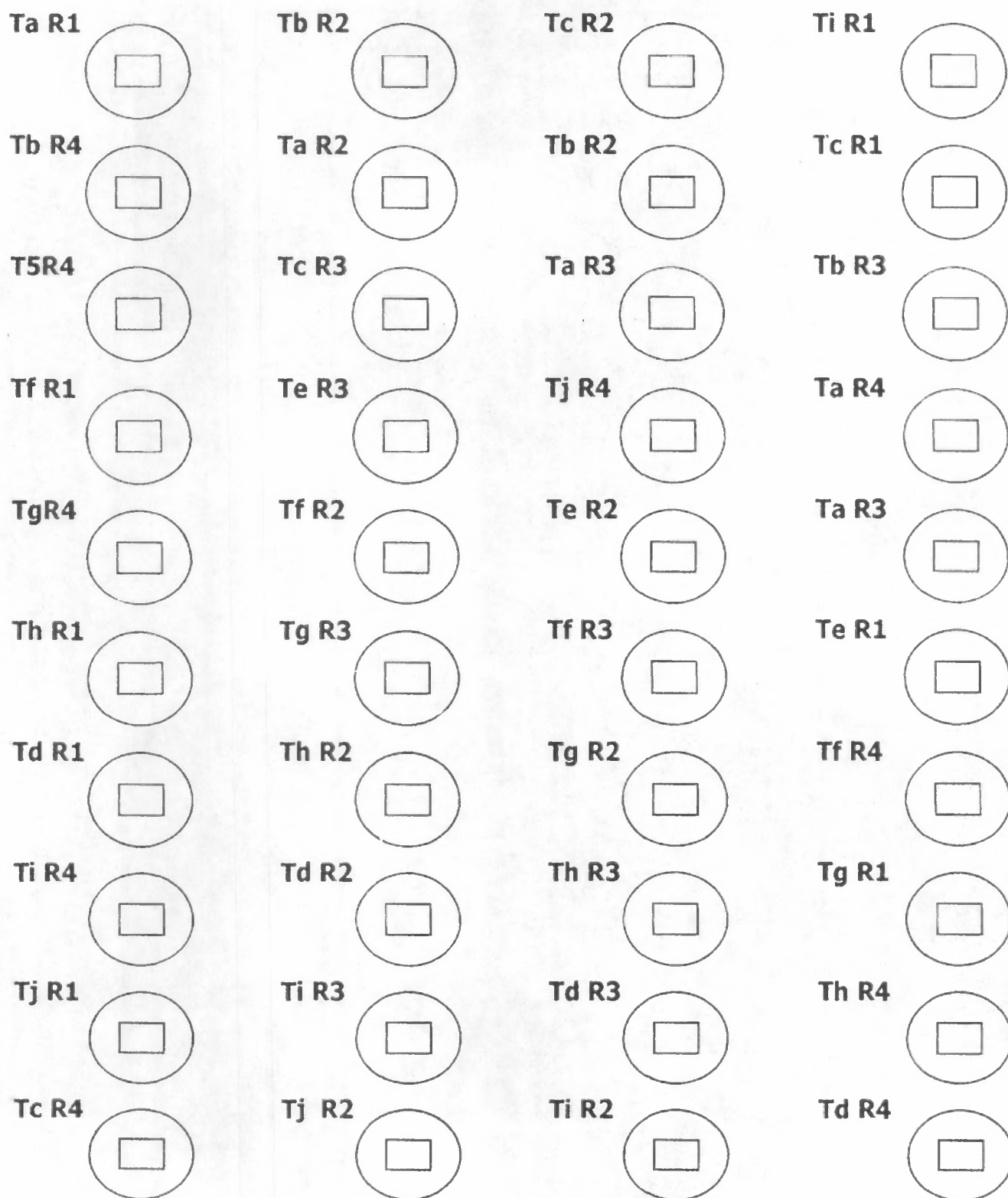


FIGURA 4. Arreglo y aleatorización de los tratamientos en el bioensayo.

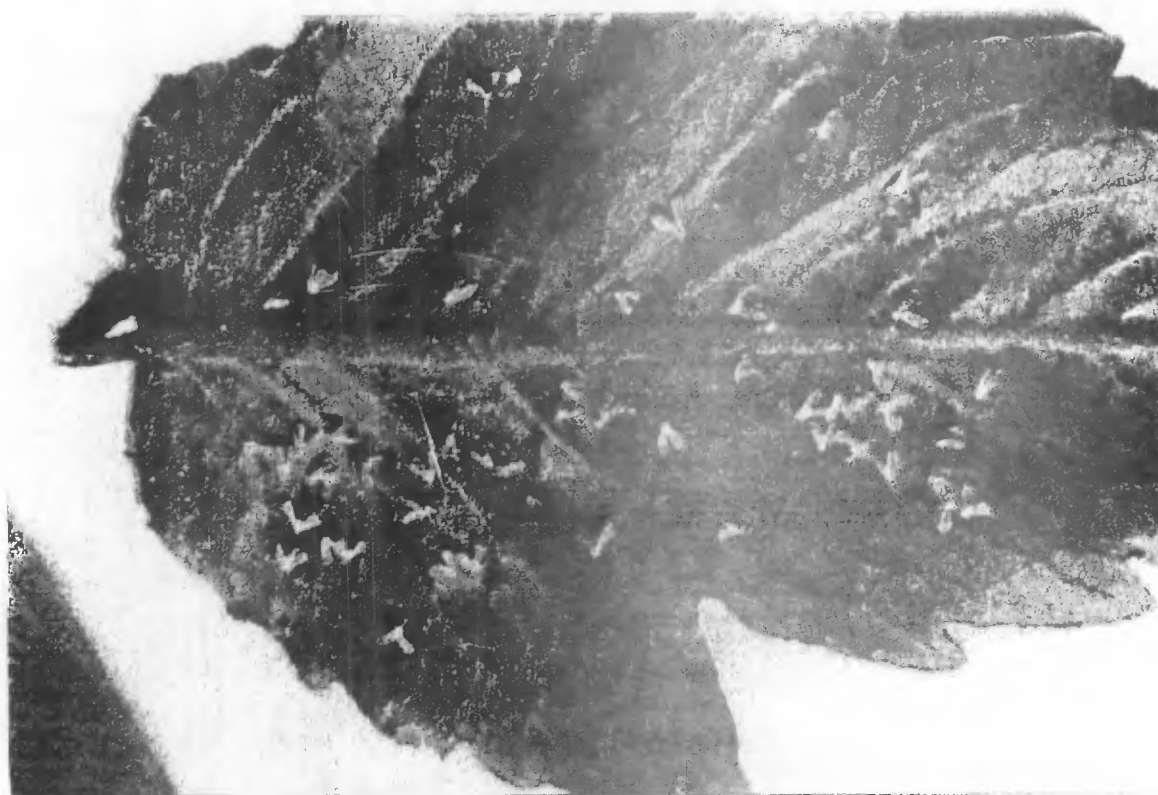
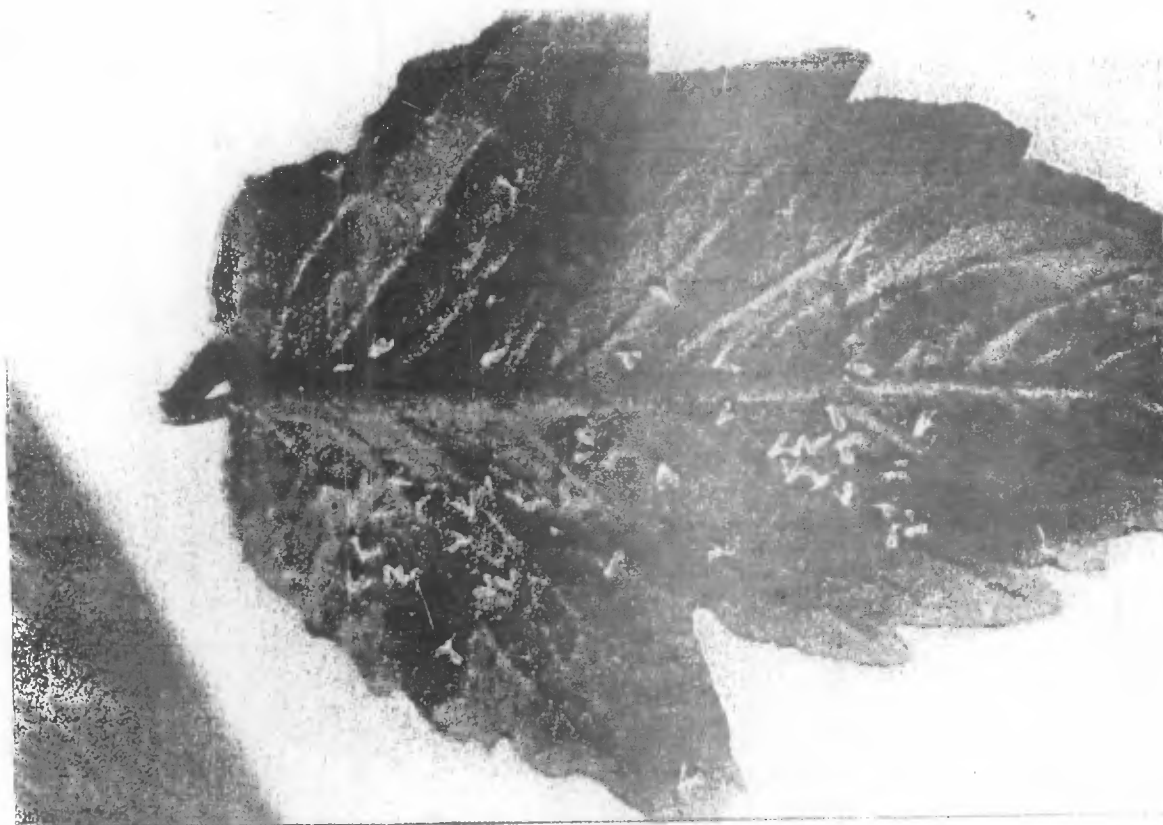
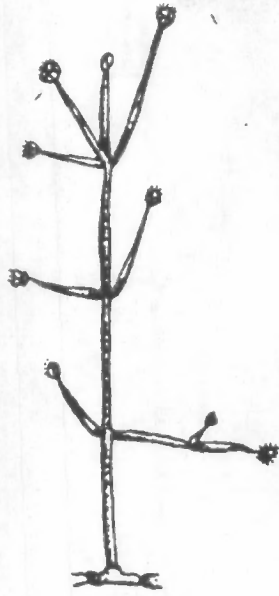


FIGURA 5. Moscas blancas muertas por la acción de *Verticillium lecanii* Nees, en el envés de hojas de tomate, (*Lycopersicon esculentum*, Miller) encontrados en el Municipio de Zaragoza, Chimaltenango. 2000. (Foto. Ing. Agr. Francisco Cárdenas)

Verticillium



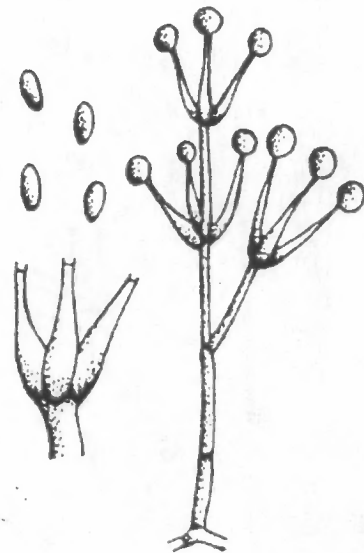
Conidioforo creciendo en
atmósfera húmeda



Conidioforo en agua.

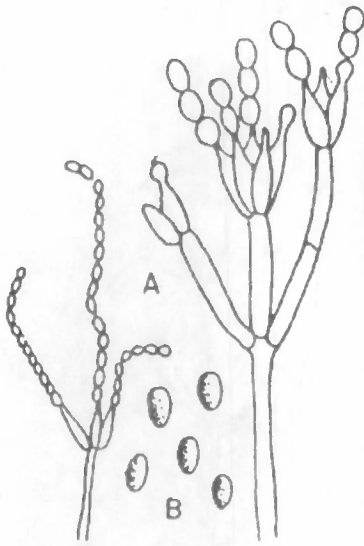


Conidia



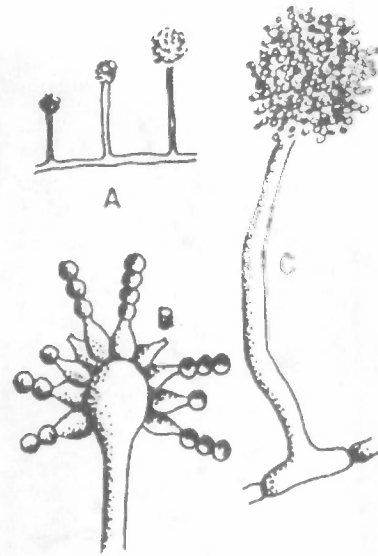
Verticillium en estado de Gliocladium roseum

FIGURA 6. Presentación del hongo *Verticillium lecanii* Nees.



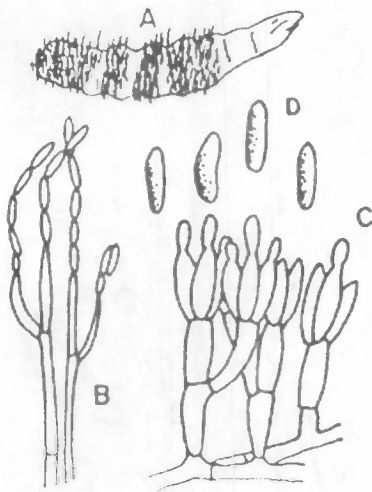
Paecilomyces

A	Conidioforos con cadenas de conidias
B	Conidias



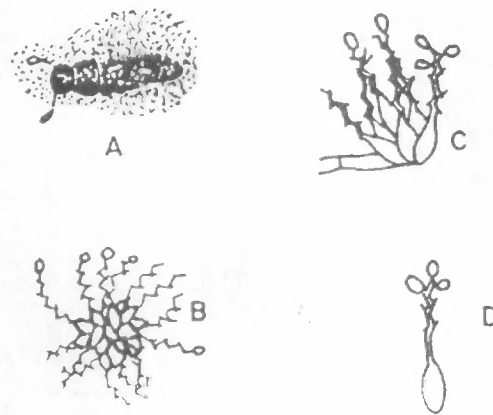
Aspergillus

A	Esquema general
B C	Conidioforos con cabeza conidial



Metarrhizium

A	Esporulación en larva de insecto
B C	Conidioforos
D	Conidias



Beauveria

A	Infectando a un insecto adulto
B C	Conidioforos
D	Conidioforo simple

FIGURA 7. Otros hongos entomopatógenos

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
1	1	1	40	1	39	2.5
2	1	2	40	1	39	2.5
3	1	3	40	1	39	2.5
4	1	4	40	1	39	2.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
5	2	1	40	5	35	12.5
6	2	2	40	5	35	12.5
7	2	3	40	4	36	10
8	2	4	40	5	35	12.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
9	3	1	40	6	34	15
10	3	2	40	9	31	22.5
11	3	3	40	8	32	20
12	3	4	40	22	18	55

No.	Trata	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
13	4	1	40	11	29	27.5
14	4	2	40	12	28	30
15	4	3	40	9	31	22.5
16	4	4	40	12	28	30

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
17	5	1	40	17	23	42.5
18	5	2	40	17	23	42.5
19	5	3	40	16	24	40
20	5	4	40	16	24	40

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
21	6	1	40	35	5	87.5
22	6	2	40	33	7	82.5
23	6	3	40	34	6	85
24	6	4	40	33	7	82.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
25	7	1	40	31	9	77.5
26	7	2	40	28	12	70
27	7	3	40	32	8	80
28	7	4	40	29	11	12.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergidos	% de mortalidad
29	8	1	40	27	13	67.5
30	8	2	40	31	9	77.5
31	8	3	40	34	6	85
32	8	4	40	31	9	77.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergid os	Porcen taje de mortal idad
33	9	1	40	35	5	87.5
34	9	2	40	34	6	85
35	9	3	40	36	4	90
36	9	4	40	29	11	72.5

No.	Trat	Repet	Ninfas Iniciales	Ninfas 14 días después	Adultos emergid os	Porcen taje de mortal idad
37	10	1	40	30	10	75
38	10	2	40	32	8	80
39	10	3	40	30	10	75
40	10	4	40	30	10	75

CUADRO 3. Número de insectos muertos en los diez tratamientos y cuatro repeticiones por la acción del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*, Nees, en los distintos tratamientos y repeticiones aplicados a nivel de laboratorio. Guatemala 2000.

CUADRO 4.
Resultado de pruebas de estadísticas programa "SAS"

```

Class      Levels      Values
TRAT      10      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

```

Number of observations in data set = 40

SAS

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PMORT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	36337.28000	4037.47556	82.57	0.0001
Error	30	1466.94000	48.89800		
Corrected Total	39	37804.22000			

R-Square	C.V.	Root MSE	PMORT Mean
0.961196	13.79233	6.992710	56.7000000

SAS

28

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PMORT

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	9	36337.28000	4037.47556	82.57	0.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	9	36337.28000	4037.47556	82.57	0.0001

General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: PRCRT

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 30 MSE= 46.896
 Critical Value of Studentized Range= 4.824
 Minimum Significant Difference= 16.867

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	84.375	4	6
A			
A	83.750	4	9
	SAS		10

General Linear Models Procedure

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A			
A	76.500	4	8
A			
A	76.250	4	10
A			
A	75.000	4	7
B			
B	40.850	4	5
C			
C	28.125	4	3
C			
C	27.500	4	4
C			
C	11.875	4	2
	SAS		11

General Linear Models Procedure

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
D			
D	2.775	4	1

UNIVARIATE PROCEDURE

UNIVARIATE PROCEDURE

Statistic	Value	Prob	Prob
N	40		
Mean	0		
Std Dev	6.133013		
Skewness	1.762154		
USS	1465.94		
CV			
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	-18	Prob> S	0.8123
Min ~ 0	40	Prob<B	0.0001
B:Normal	0.82582		

Percent

UNIVARIATE PROCEDURE

UNIVARIATE PROCEDURE

Statistic	Value	Prob	Prob
100% Max	26.875	99%	26.875
75% Q3	2.075	95%	7.125
50% Med	-1.78E-16	90%	-1.075
25% Q1	-1.875	10%	-6.875
0% Min	-13.125	5%	-10.125
Range	40		-13.125
Q3-Q1	3.95		
Mode	0.625		

Quantiles (Def=5)

UNIVARIATE PROCEDURE

UNIVARIATE PROCEDURE

Statistic	Value	Prob	Prob
Lowest	-13.125	9)	33)
	-11.25	36)	27)
	-9	29)	35)
	-8.125	11)	31)
	-5.625	10)	12)
Obs			
Highest	3.75		
Obs			

Extremes

UNIVARIATE PROCEDURE

UNIVARIATE PROCEDURE

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESI

Stem	Leaf	#	Boxplot
2	7	1	*
2			
1			
1			
0	568	3	0
0	0011111111112222344	17	+-+--+
-0	222211111000	12	+---+--+
-0	98655	5	0
-1	31	2	0

-----+-----+-----+
 Multiply Stem.leaf by 10**+1

SAS

36

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESI

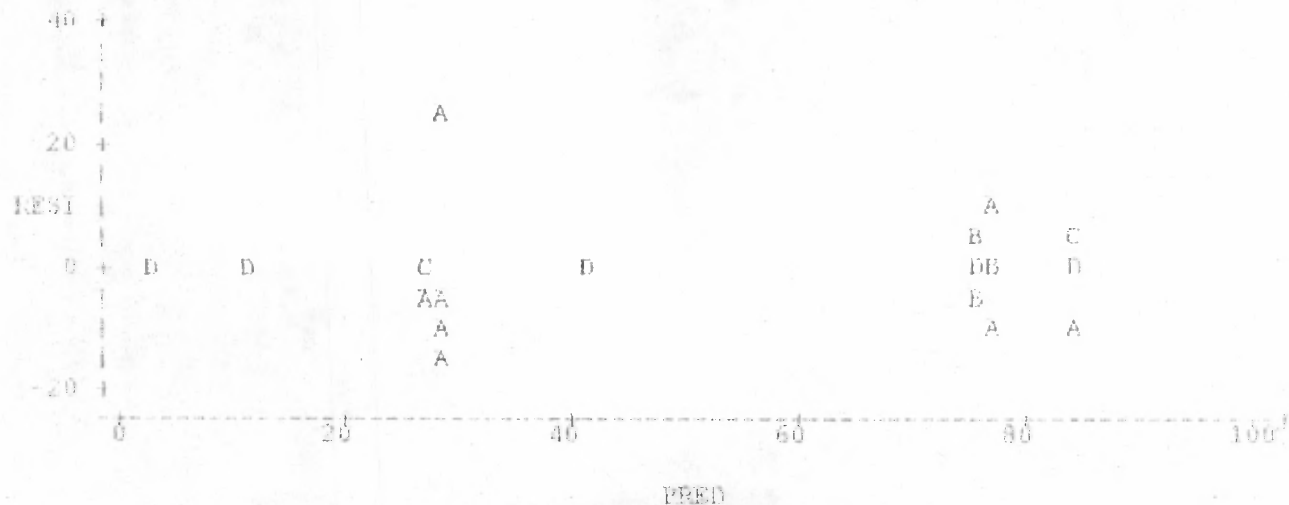
Normal Probability Plot



SAS

37

Plot of RESI^PRED. Legend: A = 1 obs, B = 2 obs, etc.



0



FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

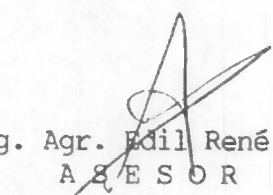
LA TESIS TITULADA: "AISLAMIENTOS Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO QUE CAUSA LA MUERTE DE LA MOSCA BLANCA" (Homoptera: Aleyroridae).

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: FRANCISCO JAVIER BAL SALAZAR

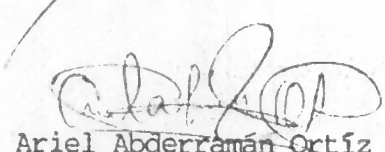
CARNET No: 9014630

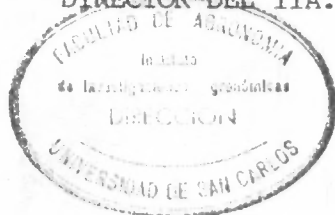
HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Alvaro Hernández Dávila
Ing. Agr. Jorge Omar Samayoa Juárez
Ing. Agr. Filadelfo Guevara Chávez

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

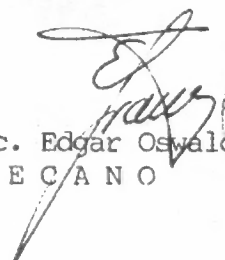

Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada
A S E S O R


Ing. Agr. Francisco Cárdenas Marroquín
A S E S O R


Dr. Ariel Abderramán Ortiz López
DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E


Ing. Agr. M.Sc. Edgar Osvaldo Franco Rivera
D E C A N O



cc:Control Académico
IIA.
Archivo
AO/prr.

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.

TEL/FAX (502) 476-9794

e-mail: ilusae.edu.gt § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>