

ÁREA DE ECOLOGÍA APLICADA

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE DOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS Y UN EXTRACTO VEGETAL, PARA EL CONTROL DE *Tetranychus urticae*, EN CONDICIONES DE LABORATORIO

EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF TWO ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND A VEGETAL EXTRACT FOR THE CONTROL OF *Tetranychus urticae* IN THE LABORATORY

Diego Amaya Villabona¹

Andrés Barrera¹

Alejandra Hilarión García B.Sc²

Alexander Bustos Rodríguez B.Sc³

Fernando Cantor Rincón Ph.D^{3,4}

Foto Alex Escobar

1 Estudiante Programa Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada.
2 Joven Investigadora, Programa Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada
3 Docente Programa Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada.
4 Autor para correspondencia: ecologia@umng.edu.co

RESUMEN

Tetranychus urticae es una de las principales plagas del cultivo de rosa. Para su control, se utiliza preferencialmente el control químico, que además de causar daños al medio ambiente, afectan de manera importante la presencia de enemigos naturales y generan resistencia de la plaga. El propósito de esta investigación fue evaluar los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana* y un extracto vegetal de *Allium sativum* para el control de poblaciones de *Tetranychus urticae*, en condiciones de laboratorio. Se evaluaron 11 tratamientos, tres concentraciones por cada hongo (5×10^6 esporas/mL, 2×10^7 esporas/mL, 8×10^7 esporas/mL), tres por extracto vegetal (0.5ml/l, 1ml/l, 2 ml/l) y dos controles que se mantuvieron en frascos en los cuales se introducían hembras de *T. urticae* previamente asperjadas con los entomopatógenos y el extracto vegetal, se registró la mortalidad a los dos y seis días posteriores a la aplicación. La mortalidad corregida con la fórmula de Abbott fue comparada entre tratamientos utilizando ANOVA. No se encontraron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de cada uno de los productos utilizados, *Beauveria bassiana* ($p = 0.07$), *Paecilomyces fumosoroseus* ($p = 0.40$) y extracto ($p = 0.42$), así mismo no se presentaron diferencias significativas en el efecto de los productos sobre la oviposición ($p = 0.4$).

Palabras Claves: Mortalidad, *Tetranychus urticae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria Bassiana*, extracto vegetal.

ABSTRACT

Tetranychus urticae is one of the principal pests in cut roses production. Chemical control

is the main control practice but it has well known consequences on the environment natural enemies and sequential development of resistance in the pest. The aim of the study is the evaluation of two entomophagous fungi *Paecilomyces fumosoroseus* and *Beauveria bassiana* and a vegetal extract of *Allium sativum* to reduce *T. urticae* populations under laboratory conditions. In 11 treatments three concentrations per each fungi was evaluated (5×10^6 spores/mL, 2×10^7 spores/mL, 8×10^7 spores/mL), and three for vegetal extract too (0.5ml/l, 1ml/l, 2 ml/l), two controls were conserved in containers in which females of *T. urticae* were placed, this females was previously sprayed with entomopathogenic fungi and vegetal extract on its body. The mortality was registered two and six days after the application. It was done an ANOVA and the data correction being based on Abbott's formula. The test did not present differences between the treatments in the different concentrations of each one of products, *Beauveria bassiana* ($p = 0.07$), *Paecilomyces fumosoroseus* ($p = 0.40$) vegetable extract ($p = 0.42$). By the same way they did not present differences on the oviposition ($p = 0.4$).

Key words: Mortality, *Tetranychus urticae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria Bassiana*, vegetal extract.

INTRODUCCIÓN

Colombia posee una amplia área de suelo destinada a prácticas agrícolas, entre los que se encuentran los cultivos ornamentales bajo invernadero que ocupan aproximadamente 7000 hectáreas, de las cuales el 30% son destinadas al cultivo de rosa. El 96% de la producción de flores colombianas son exportadas a los mercados de Estados Unidos, Reino Unido, Rusia y

Japón; ubicando a Colombia como uno de los grandes exportadores de flores en el mundo (Asocolflores, 2008).

En las últimas décadas el control de plagas en cultivos de ornamentales ha sido una estrategia ampliamente utilizada para reducir la incidencia y las pérdidas económicas generadas por insectos (Cantor *et al*, 2007). El uso de químicos es la principal técnica de control pero esta práctica ha sido tan generalizada que su acción afecta especies inofensivas, enemigos naturales de plagas, causa daños en ecosistemas, debido a la toxicidad de sus componentes y por último genera resistencia por las plagas rápidamente (Kogan en Ramírez, 2003; Opit *et al*, 2004; Oliveira *et al*, 2007).

La comunidad científica junto con el sector productivo al percatarse de esta situación centraron sus objetivos en crear una alternativa que fuera más eficaz y eficiente para reducir la carga de químicos en el ambiente. El control biológico surgió como la herramienta que cumple con los requerimientos mencionados anteriormente, al utilizar enemigos naturales para reducir efectos negativos sobre cultivos de carácter principalmente económico (Cantor *et al*, 2007).

En nuestro país su práctica es poco común, el desconocimiento de metodologías es uno de los principales factores que afectan la aplicación de esta opción, aunque en los últimos años se han impulsado estudios e investigaciones para reducir estos problemas, aún no son suficientes para adoptarla como una técnica estandarizada en el país (Cantor *et al*, 2007).

Sin embargo, en nuestro país la implementación de este tipo de herramientas de control integradas como parte de la estrategia de manejo integrado de plagas en cultivos de plantas ornamentales aun no se han implementado.

Los productos químicos son ampliamente utilizados para controlar las plagas en los cultivos. Sin embargo, a mediano y largo plazo este método provoca resistencia en las plagas, recientemente la comunidad mundial ha comenzado a poner más atención en su salud y en los riesgos a que se expone con esos productos, así como a el impacto que causan sobre el ambiente.

El reconocimiento de otros métodos, como el biológico, son alternativas para minimizar el uso de químicos y mejorar la calidad del ambiente y de la salud. Mucho patógenos como bacterias, virus y hongos se producen comercialmente y son utilizados como agentes de control.

Por estas razones se evaluó en condiciones de laboratorio una estrategia microbiana de control de insectos utilizando a los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* para el control de poblaciones de *Tetranychus urticae*, como punto de partida para generar una estrategia de manejo integrado junto con ácaros depredadores.

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

Este trabajo se llevo a cabo en la sede experimental de la Universidad Militar Nueva Granada UMNG en Cajicá - Cundinamarca, en el laboratorio de control biológico. Las muestras estuvieron dispuestas en una cámara húmeda con temperaturas entre 20-22°C y humedad relativa entre 95-98%.

Diseño experimental

Cada unidad experimental consintió en recipientes plásticos de 25mL en los que se dispuso una circunferencia de papel absorbente

Tratamiento	Entomopatógeno	Concentración	Esporas /mL.
0 _A	Sin aplicación	0	-
0 _R	Agua destilada	0	-
1	P.f	1ml/L	5x10 ⁶ esporas
2	P.f	2ml/L (comercial)	2x10 ⁷ esporas
3	P.f	4ml/L	8x10 ⁷ esporas
4	B.b	1ml/L	5x10 ⁶ esporas
5	B.b	2ml/L (comercial)	2x10 ⁷ esporas
6	B.b	4ml/L	8x10 ⁷ esporas
7	E.v	0.5ml/lit	-
8	E.v	1ml/lit (comercial)	-
9	E.v	2ml/lit	-

Tabla 1. Concentraciones de entomopatógenos y el extracto vegetal utilizados (seis repeticiones por tratamiento). P.f: *Paecilomyces fumosoroseus*, B.b: *Beauveria bassiana* E.v Extracto vegetal *Allium sativum*.

humedecido y sobre este una circunferencia de foliolo de fríjol que cubriera la base del recipiente. La tapa del recipiente presentaba una ventana de respiración cubierta con una malla que evitaba que los individuos escaparan.

Con el fin de obtener la cantidad de individuos necesaria para cada ensayo se tomaron hojas de fríjol infestadas con *Tetranychus urticae* a las

que se le aplicó las suspensiones de entomopatógeno ó extracto vegetal. Posteriormente, de la población que recibió la aplicación se tomaron 10 hembras de *T. urticae* y se colocaron en cada unidad experimental.

Se evaluaron tres concentraciones de *Beauveria bassiana* (Bioexpert® 5x10⁹ esporas/mL), *Paecilomyces fumosoroseus* (Succesor® 5x10⁹ esporas/mL) y de un extracto vegetal de *Allium sativum* (Capsialil® disulfuro de alilo 43.4% y capsiaquina 54.2%, ingredientes inertes 2.4%). Para un total de nueve (9) tratamientos con seis repeticiones (Tabla 1).

Utilizando un estereoscopio binocular se evaluó, a los dos y seis días de realizado el montaje, el número de individuos muertos y el número de huevos ovipositados por las hembras de *T. urticae*. También se registró la esporulación de los hongos en los ácaros al final de los ensayos con el fin de confirmar que el entomopatógeno estaba presente en el ácaro.

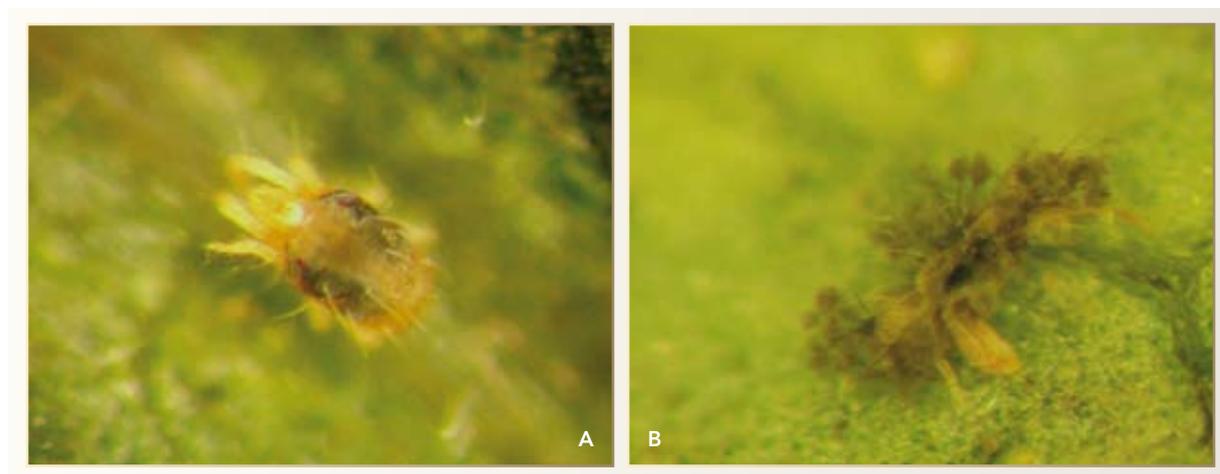


Figura 1. Incidencia de *P. fumosoroseus* (1) en *T. urticae*: A, Hembra viva sin presencia de hongo; B esporulación del hongo sobre el acaro muerto.

Análisis de datos

Se estimó el porcentaje de mortalidad en cada tratamiento utilizando la fórmula de Abbott para obtener la mortalidad corregida, que tiene en cuenta la mortalidad registrada en el control, con el fin de reportar solo la mortalidad generada por el tratamiento separada de la mortalidad natural o la que pueda generar el vehículo de aspersión en este caso agua. Se compararon los tratamientos utilizando un análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de hongos entomopatógenos

Los individuos de *T. urticae* en los que los entomopatógenos aplicados esporularon permitieron confirmar que el agente de biocontrol estaba presente (Figura 1), y por tanto se asumió que fue el causante de la mortalidad de los individuos.

James *et al* (2003) reporta que en mosca blanca la mayor incidencia tanto para *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* se presenta en los

primeros estadios del individuo (segundo y tercer instar), contrario al parecer con lo que sucede en las cepas usadas donde la esporulación en hembras adultas de *T. urticae* fue evidente al final de ensayo (Figura 1), sin embargo se deberían hacer pruebas en todos los estadios de acaro para comprobar esto.

Parker *et al* (1997) reporta para el caso de *B. bassiana* que entre los días 1 y 3 los individuos infectados comienzan a reducir su actividad, siempre y cuando las condiciones de temperatura y humedad sean altas, ya que son ideales para que la infección ocurra. De acuerdo con esto las cepas reflejaron este comportamiento sustentado en la esporulación del hongo. Pero de acuerdo a lo reportado por James *et al* (2003) es posible que en *T. urticae* pueda presentarse un comportamiento similar al de mosca blanca, pero como ya se mencionó anteriormente estaría sujeto a comprobación.

Teniendo en cuenta la relación costo-beneficio *P. fumosoroseus* es el más promisorio por lo que se aconsejaría utilizar este entomopatógeno a una concentración de 1ml/Lt. Se esperaría que

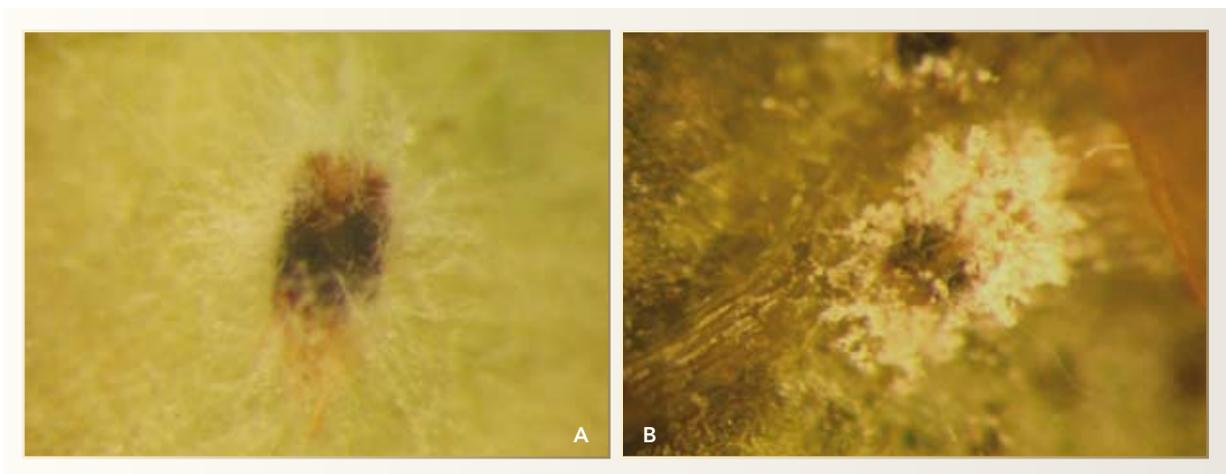
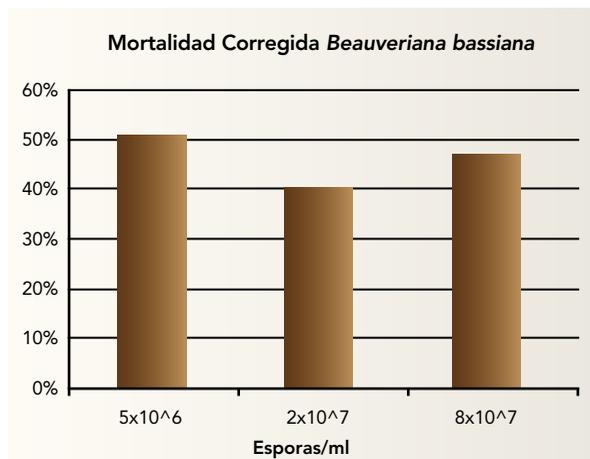
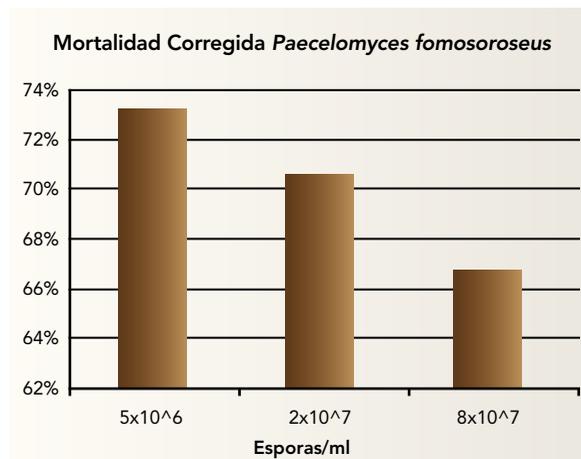


Figura 2. Incidencia de *Beauveria bassiana* (1) en *T. urticae*: A-B, esporulación del hongo sobre hembras de acaro.



Gráfica 1. Porcentaje de mortalidad de las hembras de *T. urticae* con *B. bassiana*.



Gráfica 2. Porcentaje de mortalidad de las hembras de *T. urticae* con *P. fumosoroseus*.

la acción de estos entomopatógenos no afecte poblaciones de depredadores benéficos, como lo indica Parker et al (1997), por lo que aconsejamos realizar pruebas que verifiquen lo anterior.

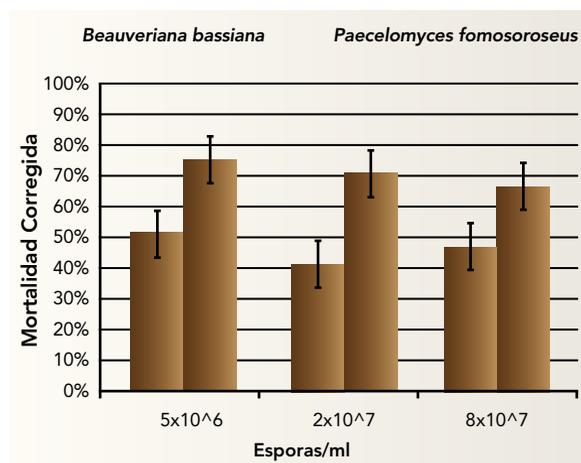
Al evaluar las tres concentraciones de *P. fumosoroseus* no se presentaron diferencias significativas $p = 0.07$ (Gráfica 2), lo que indica que el efecto del hongo es el mismo en cualquiera de las concentraciones, en el caso de *B. bassiana*, se presentó un $p = 0.4$ (Gráfica 1)

P. fumosoroseus se presenta como el entomopatógeno con mejor desempeño al mostrar una eficacia de 73% en la concentración más baja, muy cercana a la concentración comercial, pero en relación costo-beneficio su uso sería más benéfico. Por su parte *B. bassiana* presentó un comportamiento parecido pero la eficiencia máxima de 51% en la concentración más baja, permite ver que su desempeño fue inferior al de *P. fumosoroseus*.

Mesa (1993) y Rodríguez (1993) reportan que los hongos entomopatógenos, en especial los acaro-patógenos causan una mortalidad superior al 80% debido a la especificidad que estos controladores biológicos pueden presentar,

además Alves et al (2002) indica que a medida que se aumenta la concentración de las esporas la mortalidad incrementa.

Relacionando esto con nuestros resultados podemos decir que son satisfactorios ya que están muy cercanos al valor estimado por Mesa (1993) y tienen coherencia con lo reportado por Alves et al (2002), ratificando a *P. fumosoroseus* como uno de los hongos entomopatógenos más indicados para controlar *T. urticae*.



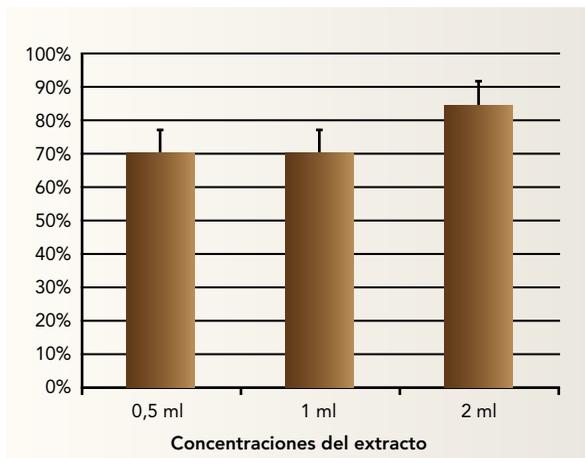
Gráfica 3. Evaluación del extracto vegetal

Se aconsejaría utilizar las cepas sometidas de *P. fumosoroseus* en su concentración mas baja.

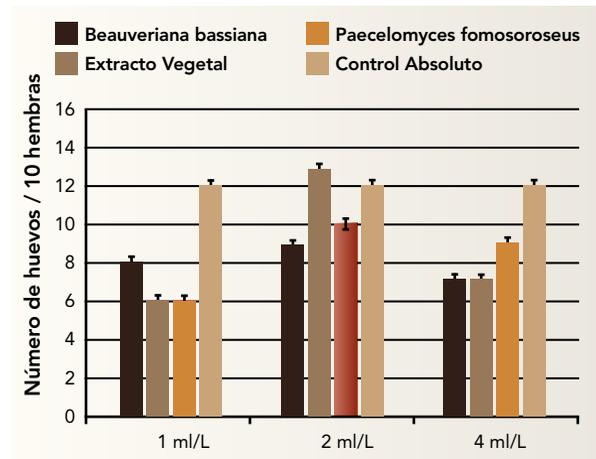
Evaluación del extracto vegetal

Al realizar el ANOVA para las diferentes concentraciones no se presentan diferencias significativas $p = 0.4196$. Esto nos permite suponer que para el productor la implementación de este tipo de control no sería el más apropiado, ya que dosis menores a la comercial generarían el mismo efecto que una dosis superior. Por esto si se quisieran tomar estos resultados como guía se aconsejaría utilizar la concentración mas baja dada la similitud con la comercial, representaría un ahorro pero la efectividad no sería contundente.

Generalizando, las evaluaciones de entomopatogenos y de extracto vegetal, se puede aconsejar utilizar ambos de manera simultánea para el manejo de *T. urticae* en cultivos de rosa. Aplicando el entomopatogeno y el extracto de forma indirecta. El efecto del extracto alteraría el comportamiento de los ácaros dirigiéndolos a zonas de la hoja donde se encuentre el hongo, en ese momento al entrar en contacto con la cutícula del insecto comenzando su ciclo infectivo.



Gráfica 4. Efectividad del extracto vegetal.



Gráfica 5. Tasas de oviposición ensayo 1.

Esta implementación incrementaría los costos pero podría ser un mecanismo más eficiente.

Efectos en la oviposición

Al realizar el ANOVA se observo que no existen diferencias significativas $p = 0,3965$, indicando que con ninguna de los productos utilizados se ve afectada la oviposición aunque en laboratorio se observo que *P. fumosoroseus* a concentración comercial incremento la oviposición. Este hecho puede explicarse debido a que en algunos casos los individuos que se ven afectados por algún factor pueden cambiar su comportamiento, en este caso incrementado la oviposición como respuesta al efecto negativo pero no letal del entomopatógeno.

De este trabajo pueden plantearse las siguientes conclusiones:

Las estrategias evaluadas presentaron un efecto importante tanto en la mortalidad como en la oviposición de los ácaros. Sin embargo la no esporulación del hongo no permite atribuir la mortalidad de los individuos directamente al entomopatógeno.

Aunque las estrategias son efectivas para el control del ácaro plaga debe evaluarse la compatibilidad entre estas estrategias y su efectividad en condiciones de invernadero y campo.

Las estrategias evaluadas son potencialmente una buena alternativa de control de *Tetranychus urticae* y por tanto deben considerarse

para ser incorporadas en el esquema de manejo integrado de plagas (MIP) en cultivos de rosa.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Militar Nueva Granada por el apoyo financiero del proyecto identificado con el código PIC CIAS – 287.

BIBLIOGRAFÍA

1- Alves SB, Savoi Rossi L, Biaggianni Lopes R, Tamai MA, Pereira R. 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Invertebrate Pathology*. 81:70-77.

2- Bustillo A. Control biológico de la broca del café: generación y transferencia de tecnología en: López-Avila A. Control biológico Componente fundamental del manejo integrado de plagas en una agricultura sostenible pp. 255 – 272.

3- Cantor F, Rodríguez D, Bustos A, Escobar A, Cure JR. 2007 Ejemplos de control biológico de plagas en cultivos de ornamentales en la sabana de Bogotá. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 3:41 – 48.

4- James RR, Buckner JS, Freeman TP. 2003. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 84:67-74.

5- Mesa NC. 1993. Enemigos Naturales del ácaro verde de la yuca. p. 169 - 178.

6- Oliveira H, Janssen A, Pallini A, Venzon M, Fadini M, Duarte V. 2007. A phytoseiid predator from the tropics

as potential biological control agent for the spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Biological Control*. 42:105 – 109.

7- Opit GP, Nechols JR, Margolies DC. 2004. Biological control of twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), using *Phytoseiulus persimilis* Anthias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on ivy geranium: assesement of predator release ratios. *Biological Control*. 29:445 – 452.

8- Parker BL, Skinner M, Gouli V, Brownbridge M. 1997. Impact of soil applications of *Beauveria bassiana* and *Mariannaea* sp. on nontarget forest arthropods. *Biological Control*. 8:203-206.

9- Ramírez D. 2003. estudio de la compatibilidad de agentes de control biológico de tres plagas de rosa. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía.

10- Rodríguez D. 1993. Hongos Entomopatógenos. p. 226 - 239.

CONSULTAS VIRTUALES

Asocolflores, 2008. información on line: www.colombianflowers.com