

Biocontrol fúngico de Leptophobia aripa, defoliador de plantas Brassica oleracea

AUTOR

Nathalia Becerra Rojas

DIRECTOR

José Félix Ortiz Lemus

CODIRECTOR

Gabriel Edmundo Prieto López

Universidad de Pamplona – Programa de Biología

Facultad de Ciencias Básicas

Norte de Santander, Colombia. 2023

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es dedicado a Dios, quien me dió la fortaleza para culminar mi carrera. A mi hija, Amy Valentina Castro Becerra, le enseñó que el estudio es uno de los mejores ejemplos que le puedo dejar. Agradezco a mis padres J. Armando Becerra y Cecilia Rojas Jaimes por apoyarme siempre con este proyecto. También le doy gracias a Javier Antonio De la Ossa, quien es parte de mi familia y Gerly Rios Rojas por estar ahí moralmente. Los amo.

Este trabajo no se pudo haber finalizado sin la ayuda de mis directores. Los Docentes José Félix Ortiz y Gabriel E. Prieto López, quienes fueron una luz en el desarrollo de este mi trabajo de grado. Agradezco al Docente Luis Roberto Sanchez, por los momentos compartidos en esta etapa académica y su valiosa amistad.

Mis agradecimientos a los integrantes del Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología de la Universidad de Pamplona, por abrirme un espacio en el laboratorio, aconsejarme y compartir eventos científicos como el microforo y el IX encuentro departamental de semilleros.

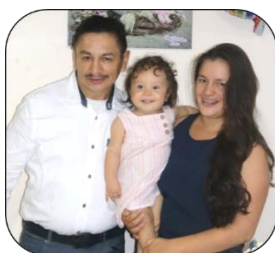


TABLA DE CONTENIDO

Resumen	9
<i>Biocontrol fúngico de <i>Leptophobia aripa</i>, defoliador de plantas <i>Brassica oleracea</i></i>	10
MARCO CONCEPTUAL	15
Control biológico	15
Tipos de control biológico	15
Hongos entomopatógenos	17
Principales hongos entomopatógenos comerciales.	19
Mecanismo de acción entomopatógena	34
<i>Leptophobia aripa</i> (Boisduval, 1836).....	35
Ciclo de vida y proceso de metamorfosis.....	36
ANTECEDENTES.....	38
Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre <i>Leptophobia aripa</i> Elodia. (Ramirez-Moreno et al, 2001).....	38
Susceptibilidad de estadios larvales de <i>leptophobia aripa</i> Boisduval (Lepidoptera: Pieridae). (Valverde-Rodríguez et al, 2021).....	38
OBJETIVOS	39
Objetivo general.....	39
Objetivos específicos	39
METODOLOGÍA.....	40
Diseño experimental.	40
Análisis estadístico.....	41
Bioterio.....	41
Cría y producción de <i>Leptophobia aripa</i>	42

Colecta de cepas nativas del Municipio de Silos, Norte de Santander.	43
Aislamiento y purificación de cepas fúngicas comerciales y nativas	44
Aislamiento de cepas fúngicas comerciales.	44
Aislamiento de cepas nativas del Municipio de Silos, Norte de Santander.	46
Preparación de medios y soluciones empleadas.	46
Caracterización fenotípica de cepas comerciales y aislados nativos fúngicos.	47
Determinación de la tasa letal de las cepas comerciales y aislados nativos.	47
Ajuste de las suspensiones fúngicas a 1×10^8 esporas/ml.	47
Preparación de las larvas para usar en el bioensayo.	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
Bioterio	49
Producción de huevos.	51
Ajuste de suspensiones fúngicas a una concentración de 1×10^8 esporas/ml.	52
Caracterización de fenotípica de los aislados fúngicos comerciales y nativos	52
Identificación morfológica de los aislados comerciales de SAFERMIX WP	52
Morfolología de cepas nativas de Silos.	59
Efecto de aislados fúngicos comerciales y nativos sobre larvas I-3 de <i>L. aripa</i>	60
Tasa de letalidad de <i>L. aripa</i> causada por hongos entomopatógenos	61
<i>Beauveria</i> spp	63
<i>Lecanicillium</i> spp.	64
<i>Metarhizium</i> spp	64
<i>Purpureocillium</i> spp	64
Aislado nativo B1 – Silos.	65
Aislado nativo B2 – Tarabotá.	65
CONCLUSIONES	67
RECOMENDACIONES	68

<i>REFERENCIAS</i>	69
---------------------------------	-----------

<i>GLOSARIO</i>	87
------------------------------	-----------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pesticidas: Uso promedio por área de cultivo (10 países principales). Promedio 1990-2019 (FAOSTAT, 2019).....	11
Figura 2. <i>Beauveria bassiana</i> : A) 10 cepas aisladas por Deb & Dutta, (2021). B) 15 días de crecimiento, inoculado por Abdigoudarzi et al., (2009). D) Cepa 82% letal en 7 días para larvas instar II de <i>Spodoptera litura</i> (Islam et al., 2023).....	22
Figura 3. Estructuras morfológicas principales del hongo <i>Beauveria bassiana</i> . A. Esporas esféricas levemente ovaladas. B. Hifas septadas. C. Conidióforo simple. D. Proliferación simpodial del conidióforo. E. Esquema del proceso de maduración de conidióforo a partir de un conidio (inferior) y vista de un conidióforo completo (superior izquierda). Tomada de: (Echeverría-Beirute, 2006).....	23
Figura 4. Cepa Indú de <i>L. lecanii</i> . Tomado de (Prayogo, 2010).....	25
Figura 5 Estructura de <i>L. lecanii</i> . Tomada de (Ramírez et al., 2014).....	26
Figura 6. Árbol filogenético obtenido por máxima verosimilitud para <i>M. anisopliae</i> y cepa CPMa1502, realizado por Montes-Bazurto et al., (2020).	27
Figura 7. <i>M. anisopliae</i> : A) fotografías de la cepa ARSEF 7487 tomadas por Mongkolsamrit et al., (2020). B) Cepa B10964 (Goodman et al., 2018b). C) Cepa B11022 (Goodman et al., 2018b). D) Cepa LBM-10 cubano aislada por Gato Cárdenas et al., (2016a).	28
Figura 8. Estructura vegetativa de <i>M. anisopliae</i> . Tomado de (Ramírez et al., 2014).....	29
Figura 9. Árbol de máxima verosimilitud (ML) de aislados XI-1, XI-4, XI-5 y J27 con <i>P. lilacinum</i> según su región realizado por Sun et al., (2021b).....	31
Figura 10. <i>P. lilacinum</i> . A-H) a; anverso de XI-1. b; reverso de XI-1. c; anverso de XI-4. d. reverso de XI-4. e. anverso XI-5. f. reverso XI-5. g. anverso de J27. h. reverso J27. Fotografías tomada de: (Sun et al., 2021). I-J) Microscopia de dos cepas tomadas de: (Sprute et al., 2021b)	32
Figura 11. Fotografías SEM de <i>Purpureocillium lilacinum</i> cepa QLP12. Tomada de (Xingjie et al, 2017).	34
Figura 12. Principales etapas del desarrollo de <i>Leptophobia aripa</i> . Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	37
Figura 13. Diseño experimental para evaluar la capacidad entomopatógena fúngica sobre <i>L. aripa</i> . Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.	40
Figura 14 Adecuación del hábitat para la cría de mariposas y cosechas de huevos. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	43

Figura 15. Coordenadas de colecta de las cepas nativas del municipio de Silos. B1- Zona urbana de silos; 7°12'22.36"N, 72°45'25.27"O – 2721 msnm. B2 - Vereda Tarabotá; 7°10'10.39"N, 72°45'3.90"O – 2635 msnm.	43
Figura 16. Exoesqueleto colectado por Gabriel E. Prieto López.....	44
Figura 17. SAFERMIX WP, registro de venta ICA 9560. Y tabla de organismos sensibles al bioinsumo agrícola.	44
Figura 18. Aislado de cepas fúngicas comerciales a partir de BIOINSUMO AGRICOLA SAFERMIX WP (Becerra-Rojas, 2024)	45
Figura 19. Cámara de conteo de esporas.....	48
Figura 20. Larvas colectadas del campus principal de la Universidad de Pamplona	49
Figura 21. Resultado de la producción de nuevos del mariposario. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	50
Figura 22. Alimentación diaria de <i>L. aripa</i> en instares I, II, III y IV. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	51
Figura 23. Cosecha de huevos en el terrario. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	51
Figura 24. suspensiones fúngicas a 1×10^8 esporas/ml. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	52
Figura 25. Crecimiento fúngico de las diluciones comerciales usadas para obtener cepas puras. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	53
Figura 26. Cepa Comercial 3 - <i>B. bassiana</i> . A-D; Medio PDA. E-H; Medio Sabouraud. I-L; Montajes con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	53
Figura 27. <i>B. bassiana</i> :A) 10 cepas aisladas por Deb & Dutta, (2021). B)15 días de crecimiento, inoculado por Abdigoudarzi et al., (2009). D)Cepa 82% letal en 7 días para larvas instar II de <i>Spodoptera litura</i> (Islam et al., 2023).....	54
Figura 28. CEPA 2 – <i>L. lecanii</i> . A-D. Crecimiento en medio PDA. A y B tienes 4 días de edad. E-H. Crecimiento en medio sólido Sabouraud. I: Montaje sin tinción. J-L; Montaje a 100x con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.....	55
Figura 29. Cepa estudiada como <i>L. lecanii</i> . Tomado de (Prayogo, 2010).....	55
Figura 30. CEPA 1 – <i>Metarhizium anisopliae</i> . A-D; crecimiento fúngico en Agar Papa Dextrosa (PDA) A y B; 4 días de edad. 2,5 cm de diámetro. C-D, siembra punción por triplicado, el color verde evidencia esporulación. E-H: 12 días de crecimiento fúngico en Agar Sabouraud Dextrosa. I-L; microscopia sin tinción y con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	56

Figura 31. <i>M. anisopliae</i> : A) fotografías de la cepa ARSEF 7487 tomadas por Mongkolsamrit et al., (2020). B) Cepa B10964 (Goodman et al., 2018b). C) Cepa B11022 (Goodman et al., 2018b). D) Cepa LBM-10 cubano aislada por Gato Cárdenas et al., (2016a).	57
Figura 32. Cepa comercial de <i>P. lilacinum</i> : A) Crecimiento de la colonia en tono púrpura. B) El reverso del crecimiento fúngico. C; montaje en agar PDA y tinción azul de anilina. D) sinemato o conidióforo suelto con cadena de esporas. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	57
Figura 33. <i>P. lilacinum</i> . A-H) a; anverso de XI-1. b; reverso de XI-1. c; anverso de XI-4. d. reverso de XI-4. e. anverso XI-5. f. reverso XI-5. g. anverso de J27. h. reverso J27. Fotografías tomadas de: (Sun et al., 2021). I-J) Microscopia de dos cepas tomadas de: (Sprute et al., 2021b)	58
Figura 34. Cepa nativa B1- Silos. A-D; Medio PDA. E-H; Medio Sabouraud. G-H; microscopia. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	59
Figura 35. Cepa nativa B2 - Tarabotá. Crecimiento en Agar-Avena con técnica de masificado. C) esporas esféricas un poco ovaladas y las hifas septadas distribuidas alrededor del raquis. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	60
Figura 36. Larvas bajo efecto letal de hongos entomopatógenos. A, <i>Beauveria</i> spp. B; <i>Lecanicillium</i> spp. C-D; <i>Metarhizium</i> spp. E; <i>Purpureocillium</i> spp. F; Aislado nativo B1-Silos. G; Aislado nativo B2-Tarabotá. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Hongos usados en el control integrado de plagas. Tomada de (de Albuquerque Maranhão, 2008).	18
Tabla 2. Ajuste de las concentraciones de los aislados fúngicos comerciales y nativos. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	52
Tabla 3. Registro de las letalidades media por cada tratamiento a través del tiempo.	63

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Tasa de cada aislado nativo y cepa comercial fúngica, junto al control negativo. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024	62
--	----

Resumen

En los cultivos agrícolas de Colombia se usan agroquímicos, Contaminantes orgánicos persistentes (**COP**), aplicados al campo como insecticidas y vendidos como “efectivos” para el control de plagas. Estos COP, son de baja solubilidad, quedan en el suelo, en el alimento y en quien los consume, causando en el ser humano enfermedades oncológicas tales como el cáncer de mama y el cáncer de testículos. Norte de Santander es un importante productor de repollo, brócoli y ocasionalmente coliflor, estas verduras son frecuentemente atacadas y defoliadas por larvas de la mariposa blanca de la col (*Leptophobia aripa*). Este insecto plaga, se controla con agroquímicos y pesticidas que afectan la salud humana; no obstante, una alternativa es el control biológico con aislados fúngicos nativos entomopatogénicos, que no alteren la microbiota local y que sean amigables con el medio ambiente. Con el fin de aportar información a estas prácticas sostenibles, se evaluarón de forma *in vitro*, aislados comerciales y nativos fúngicos potencialmente entomopatogénico para *L. aripa*. En el diseño experimental se contemplaron siete tratamientos; El control negativo, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinus* y los aislados nativos fungicos B1-Silos y B2-Tarabotá. Cada tratamiento con tres réplicas. Dichos aislados nativos presentaron tasas de letalidad entre el 73,33 y 83,33% para *Leptophobia aripa*, valores cercanas a las tasas de letalidad de las cepas fungicas comerciales *B. bassiana* y *M. anisopliae*.

Palabras clave: Hongos entomopatogenos, *B. bassiana*, *L. lecanii*, *M. anisopliae*, *P. lilacinum*, aislados nativos, cepas comerciales, *Leptophobia aripa*, control biológico.

Biocontrol fúngico de *Leptophobia aripa*, defoliador de plantas *Brassica oleracea*

Los insecticidas químicos han sido una manera de erradicar los insectos que se establecen como plagas en los cultivos agrícolas, a fin de mantener la productividad de las plantas y evitar enfermedades como la malaria, el tifus y la fiebre amarilla (Sánchez et al, 2006). Estos productos son contaminantes orgánicos persistentes (**COP**), generalmente son nombrados con su principio activo, cuentan con un método de aplicación que describe frecuencia y dosificaciones, que causan un fuerte impacto en los agro ecosistemas, daño en la fisiología de las personas y daño en el ambiente. Además, se caracteriza por la baja solubilidad y su fácil acumulación en los seres vivos en diferente grado de toxicidad (Chirinos T. D. et al, 2020). Dichos efectos en el ser humano ocasionan enfermedades oncológicas, tales como cáncer de testículo, cáncer de mamas, oligospermia, problemas en el desarrollo y aprendizaje, alteraciones hormonales y mas. Todos estos problemas tienen dificultad para ser tratados porque las sustancias que los causan, son difícilmente degradables (García Cuan et al, 2012).

En Colombia las entidades gubernamentales son conscientes del problemática con los agroquímicos con baja degradabilidad prohibidos en 1993. Se adoptó como solución a corto plazo, cerrar sitios relacionados con las sustancias COP. Esta inició con la identificación de los sitios contaminados por estas sustancias, puesto que en años anteriores al 2001, la práctica para eliminar agroquímicos obsoletos era por medio del enterramiento. Aunque no se caracterizaron todos los sitios contaminados, se planteó establecer la magnitud del problema (Dirección de Desarrollo Sectorial Sostenible, 2007). El Convenio de Estocolmo, con el objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente de los contaminantes orgánicos a nivel mundial, añadió a una lista inicial de 12 sustancias químicas, los respectivos criterios para identificar futuros productos COP. Cada nación debe implementar una legislación con

medidas y obligaciones a fin de eliminar las sustancias de dicha lista (Convenio de estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes, 2008; Weinberg, 2009).

Para la agricultura colombiana es necesario no solo controlar estos pesticidas, si no que se debe buscar alternativas para proteger los cultivos de las plagas. Esto se debe a que en la actualidad se continúan usando COPs como el Endosulfán para evitar daños por insectos en los productos del campo (Suárez Quiñones, 2022). El país, es tercero a nivel mundial en usar pesticidas por área de siembra, ver figura 1(FAOSTAT, 2019). La alternativa más amigable con el ambiente y eficaz para que disminuyan los fitopatógenos es; limitando la aplicación de agroquímicos e implementando la práctica con organismos o compuestos obtenidos de ellos, conocida como control biológico. Las características que deben tener los microorganismos biocontroladores van desde ser viable, hasta tener que crecer en la zona donde la planta es frecuentemente atacada por la plaga (Vinchira V *et al.*, 2019)

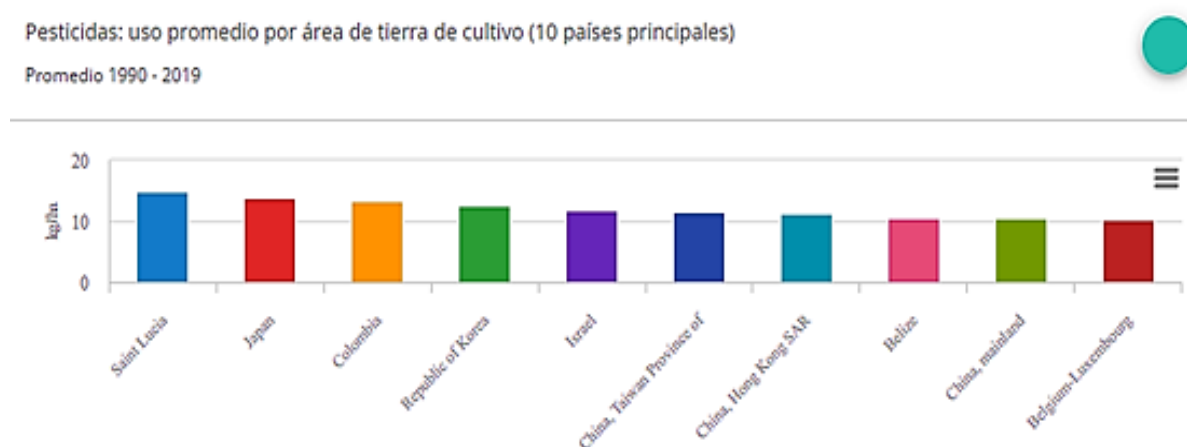


Figura 1. Pesticidas: Uso promedio por área de cultivo (10 países principales). Promedio 1990-2019 (FAOSTAT, 2019)

El repollo, la coliflor y el brócoli son variedades de la especie de *Brassica oleracea*, crucíferas más cultivadas en Colombia. En el año 2016 el área de siembra fue de 2.793ha y 2.777ha de área cosechada; El 49% y 56.57% corresponden los porcentajes de siembra y cosecha del repollo; 20.94% y 16.85% hectáreas de coliflor. Finalmente, el 30.07% ha de siembra y 26.57% ha cosechadas de brócoli en el País. De estas cifras, 10,84% de ha de

siembra y 8, 39% de cosecha se realizó en Norte de Santander. En el 2017 el Departamento sembró 3,49% y cosechó 3,94% con respecto a 2.887 ha de siembra y 2.674 ha de cosecha nacional. El municipio de Mutiscua es el único que registra actividad agrícola de las tres variaciones de la especie *Brassica oleracea* (Agronet & MinAmbiente, 2017; Agronet & MinAmbiente, 2017; Agronet MinAgricultura, 2017).

El Departamento estuvo en el puesto cinco de los productores hortícola como lo señala el Ministerio de agricultura y desarrollo rural, (2019). Aportó 2,57% a los ingresos nacionales del año 2014, es decir, \$31.843.000 millones de pesos. De esta cifra el 12% son ingresos por cultivos de café y 44% otros cultivos. De acuerdo a las evaluaciones agropecuarias del año 2018; el repollo fue el puesto 49 de la escala de cultivos transitorios y permanentes por 73 ha de siembra y el puesto 124 en la escala con respecto a sus 73 unidades de explotaciones. El Brócoli ocupó el puesto 47 por 82 ha de siembra y posición 45 por 110 unidades de explotación, mientras que la Coliflor estuvo en la posición 46 con relación a 85 ha de siembra y de 46 con 110 unidades de explotación (Gobernacion de Norte de Santander, 2020).

Las crucíferas son principalmente atacadas por lepidópteros. En cultivos de repollo y la col del Oriente antioqueño, se reportó mayor incidencia de *L. aripa* (Bustillo et al, 1975). De la familia Pieridae, esta especie se asocia a los invernaderos donde se siembra repollo, tomate y lechuga (Parra Garcia, 2018; Orozco Almanza, 2018). Son gregarias con potencial destructivo tanto para plantas jóvenes como para adultas, pueden defoliar una planta a su totalidad en poco tiempo (Avila Careces, 1991).

Un productor de cultivo de Brócoli (*B. oleracea* var. *Itálica*), en el municipio de Mosquera, Cundinamarca costea en promedio 23'000.000 pesos colombianos por hectárea para obtener un rendimiento de 26.000 kilos de 71.000 plantas, durante los 100 o 110 días que dura el ciclo del cultivo. Durante este tiempo se realizan 18 jornales para aplicar de

manera constante los fungicidas e insecticidas, se utilizan 4,3 kilogramos-litro de insecticida químico. El costo total entre jornales (\$720.00) e insecticidas (\$887.988) es de \$1'607.000 COP para evitar polilla dorso diamante, guanos tierreros, los cogolleros, los trazadores, los masticadores, las babosas e insectos chupadores como afidios y pulgones. En este caso se usan agroquímicos con ingredientes activos como Imidacloprid, Triclorfon, Carbaril, Metomil o Clorpirifos para las plagas, mientras que activos como Mancozeb, Benomy, Carbendazim, Clorotalonil o Propineb y el glifosato es usado como herbicida (SIPSA & DANE, 2019). Todos los agroquímicos mencionados causan daño al sistema nervioso con exposición de corta duración, además son tóxicos para los sistemas acuáticos, algunos generan estrés oxidativo y genotoxicidad en los peces (Fernández et al 2005; International Labour Organization, 1996-2018).

El gobierno colombiano busca con la misión de bioeconomía, poder desarrollar alternativas para el sector rural, generar un cambio hacia una economía basada en el uso sostenible de sus servicios ecosistémicos, también disminuir los impactos en la biodiversidad mediante la eficiencia del uso de los recursos naturales (Gobierno de Colombia, 2020). El reto es articular las entidades de Estado, Empresa y Universidad para promover el aprovechamiento de la biodiversidad, y así abordar en los lineamientos internacionales con tendencia al crecimiento acerca del uso y creación de bioinsumos (Yepes Aristizábal, 2021). La principal razón de usar esta alternativa de control de plagas se da por varias ventajas en la producción de cultivo; así como, alto poder patogénico, resistencia adquirida por parte de los hospederos, capacidad alta de multiplicarse y dispersarse en el ambiente, y lo más importante que no deja residuo tóxico o contaminante (Gualsaqui Panamá, 2022).

Las prácticas con agroquímicos tóxicos ocasionan desequilibrio en los ecosistemas, por ejemplo, Chirinos D. T. et al, (2020) y García et al, (2012) proponen validar alternativas ecológicas y socioeconómicamente más racionales. Por ende, ha surgido la necesidad de

realizar aportes para el desarrollo del control biológico en Colombia. Estos aportes iniciaron con la introducción de insectos como *Anaphes flavipes*, *Paratheresia claripalpis*, *Metagonistylum minense* y *Trichogramma* spp de razas peruanas, para el control de plagas en los cultivos de cacao en el Valle del Cauca. Los insectos nombrados lograron de tres a cinco años la disminución de la intensidad de infestación (Fred D., 1982). Otros organismos como las bacterias y nemátodos hicieron parte del catálogo de biocontroladores introducidos en los años 80, para evitar el daño a la flor del maracuyá causado por una polilla (De Ulloa Chacón et al, 1981). En el departamento de Cundinamarca se encontró que *Paecilomyces* sp, registrado como el primer hongo entomopatógeno, logró reducir aproximadamente al 10% las poblaciones del barredor *Diatraea saccharalis* en la zona cañera de Río Negro. Otros organismos como *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp. y *Aspergillus* ssp. se consideraron patógenos secundarios (López M et al, 1983). En el caso de *Metarhizium robertsii*, es considerado una alternativa para controlar el hemíptero *Eurhizococcus colombianus* en cultivos de la mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) en el departamento del Valle del Cauca-Colombia (Narváez Benítez et al, 2022).

Con esta investigación acerca del manejo de *Leptophobia aripa* como plaga, se determina en el presente estudio si existe potencial entomopatógeno en seis aislados fúngicos; cuatro cepas comerciales y dos aislados (B1-Silos y B2-Tarabotá) nativos del municipio de Silos, Norte de Santander-Colombia, frente a este espécimen lepidóptero. Todas ellas reposan en el laboratorio del Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO) de la Universidad de Pamplona. Con ello se espera evaluar la capacidad patogénica sobre *Leptophobia aripa* y ampliar las posibilidades y ventajas de aplicar control biológico sobre cultivos de importancia económica.

MARCO CONEPTUAL

El presente estudio tiene como finalidad dar a conocer aislados nativos fúngicos que actúan como una alternativa amigable con el ambiente. Para ello se describen los tipos de controles biológicos que existen, la manera en que los hongos actúan con su capacidad entomopatógena y las especies comerciales que presentan dicha capacidad letal sobre insectos plaga. Además, se describe el ciclo de vida de *L. aripa*, el insecto plaga de la especie *B. oleracea*.

Control biológico

Se define control biológico, como la regulación de la población de un organismo por medio de otro. Y se caracteriza por estar involucradas de varias disciplinas que van desde la taxonomía hasta la fisiología. Dichas áreas están fundamentadas en la ecología de poblaciones, todo con el fin de usar intencionalmente enemigos naturales para reducir poblaciones muy numerosas que ocasionan daño, poblaciones tan grandes que se han convertido en plagas. Es una alternativa que busca reemplazar los COP que se acumulan en el alimento y en diversos organismos hasta el punto en el que afectan toda la cadena trófica. Con las ventajas del control biológico, no arriesga la salud pública, no contamina el ambiente y es más económica que los agroquímicos, el control biológico no garantiza que un enemigo natural en un sitio lo sea para otro (Paul, Hanson, 1993).

Tipos de control biológico

Las estrategias en que se aborda el conocimiento en el que un organismo pueda afectar a otro es lo que diferencia los tipos de control biológico. Según las características extrínsecas como el laboratorio, manipulación de los organismos, materiales, control de calidad y factor económico, junto a las características intrínsecas como fisiología de los organismos, adaptabilidad, dieta y *fitness*, se aplica el control biológico a las necesidades (Moraes Boldini et al, 2019).

Control biológico clásico o neoclásico.

El control biológico clásico se aplica cuando se introduce un enemigo natural exótico a un cultivo perenne o semipermanente para erradicar otro organismo natural o exótico. En el caso del control neoclásico consiste en introducir organismos nativos. El fin es lograr establecer el nuevo organismo en el área deseada, ya sea cultivo o bosque de un ambiente necesariamente estable. Esto porque deben pasar de 6 a 10 generaciones antes de evaluar el éxito del control. Las plagas suelen ser pulgones, orugas, escarabajos, moscas, avispas entre otros, y para su erradicación el organismo control pasa por dos fases. La fase de establecimiento en la que se determina la capacidad de sobrevivir, reproducir y establecer una población fundadora que evite estar por debajo del umbral de la densidad de Allen, o el mínimo de densidad poblacional para no extinguirse. La segunda fase es la de impacto donde el ecosistema tratado comienza a tener cambios (Villacide & Corley, 2012)

Control biológico fortuito

Sin intervención del hombre, es un tipo de control biológico natural. Se da de forma accidental pero favorable, donde una especie exótica sea controlada por una nativa, o un organismo extraño llegue a reducir la población de otra ya establecida (Rodríguez & Arredondo, 2007). En el caso de la Isla de San Andrés donde se reportó a *Crypticeria multicastrices* (cochinilla), plaga que afecta árboles frutales, leguminosas urbanas y palmas. Sin intervención se redujo la población por la presencia de su enemigo natural *Anovia punica*, un coleóptero que seguramente llegó de forma similar, con plantas ornamentales infestadas de *C. multicastrices* (Kondo et al, 2018).

Control biológico aumentativo

Esta manera de aplicar el control biológico consta en liberar de forma masiva o periódica vivos o latentes entomopatógenos (Rodríguez et al, 2007). Sus objetivos son eliminar la plaga por introducción de abundantes enemigos naturales o establecer al

organismo controlador mediante liberaciones periódicas. El primer objetivo es usado en cultivos de invernadero o transitorios y se le conoce como inundativo. En cambio, el segundo objetivo se le conoce como inoculativo, con el fin de regular la plaga de manera más persistente en el tiempo (Villacide & Corley, 2012).

Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son un tipo de organismo filogenéticamente muy diverso, heterotróficos, eucariontes, unicelulares o hifas (es decir, filamentosos), su reproducción es sexual mediante esporas o asexual, pueden presentar los dos tipos de reproducción (de Albuquerque Maranhão, 2008). Estos microorganismos poseen pared celular como las plantas, pero no poseen capacidad fotosintética, su crecimiento es mediante materia orgánica con asociación saprofita o parasita. La principal característica de un microorganismo patógeno es su capacidad de enfermar, en este caso con capacidad de infectar, inhabilitar o matar insectos o artrópodos. Cuando se habla de microorganismos entomopatógenos se relaciona a la capacidad de matar un insecto plaga (Rodríguez et al, 2007). El estado inmaduro larva o linfa del artrópodo es el más atacado, debido a que el individuo no está completamente quitinizado en el exoesqueleto, se hace más fácil que el patógeno se adhiera al tegumento e infecte la linfa de insecto (Nicholls Estrada C. I., 2008).

Los estudios recientes acerca del control biológico, se enfocan en obtener organismos nativos que puedan bajar la población de insectos plaga como la broca; un coleóptero que ataca los cultivos de café, afecta el fruto y genera pérdidas económicas importantes. Además, estos organismos nativos deben tener ciertas características necesarias como la infección para establecerse como un organismo controlador de plagas. Ejemplo, se sometió la plaga de la broca a hongos nativos del noroccidente de Pichincha, Ecuador. La recolección de los hongos sucedió por trampas de suelo sin residuos de cutícula del insecto, en lugar de usar fuentes de

quitina para la colecta se implementó arroz cocido con adición de antibiótico (Moreno Espinoza, 2022).

Por el contrario, hongos en frutos afectados por la plaga con restos de cutícula, se obtienen cepas con capacidad insecticida similar al del organismo control (*Beauveria bassiana* Comercial). Es decir, los organismos aislados en el estudio poseen menor tiempo de acción, 48 horas frente a las 72 horas que tarda en exterminar *B. bassiana* (Maldonado Guamán, 2022). En cuanto al rango de concentración que se debe usar para realizar pruebas de patogenicidad y virulencia es de 1×10^6 a 1×10^8 conidios/ml (FAO/IAEA, 2019).

Tabla 1. Hongos usados en el control integrado de plagas. Tomada de (de Albuquerque Maranhão, 2008).

Subdivisión	Clase	Entomopatógeno	Hospedante
Mastigomycotina	Chytridiomycetes	<i>Coelomyces</i>	Larvas mosquitos
	Oomycetes	<i>Leptolegnia</i> <i>Lagenidium giganteum</i>	Larvas mosquitos
Zygomycotina	Zygomycetes	<i>Mucor</i>	Varios por heridas
		Entomophthorales	Diversos
Ascomycotina	Plectomycetes	<i>Ascosphaera</i>	Abejas
	Pyrenomycetes	<i>Cordyceps</i>	Varios
Deuteromycotina	Hyphomycetes	<i>Aschersonia</i>	Cochinillas y moscas blancas
		<i>Beauveria</i>	Varios
		<i>Culicinomyces</i>	Mosquitos
		<i>Hirsutella</i>	Ácaros
		<i>Metarhizium</i>	Varios
		<i>Nomuraea</i>	Noctuidos
		<i>Paecilomyces</i>	Varios
		<i>Tolytocladium</i>	Larvas mosquitos
		<i>Verticillium</i>	Cochinillas, moscas blancas, pulgones

Los hongos verdaderos están distribuidos por cuatro subdivisiones del reino *Mycota*; *Deuteromycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*, ver tabla 1 (de Albuquerque Maranhão, 2008). Estos organismos con dicha forma de vida están distribuidos en las subclases taxonómicas Zygomycetes e Hyphomycetes, reconocidas como biocontroladores (Ames de Icochea et al, 2004). Los Zygomycetes son estudiados para el control de nemátodos

que afectan cultivos tropicales (Quevedo et al , 2022). Dentro Hyphomycetes se destaca *Metarhizium anisopliae* como entomopatógeno (Pérez Ruiz, 2022), posee amplio rango de hospederos de diferentes órdenes de insectos, este género es hábil en el crecimiento saprófito, sobrevivir en el suelo, diseminación de conidios y en la reproducción asexual (De Faria & Wraight, 2007). Otros géneros como *Metarhizium*, *Purpureocillium*, *Lecanicilium* y *Beauveria* califican esta clase taxonómica como hongos biocontroladores registrados para Colombia (Rodríguez Sierra, 1997).

Principales hongos entomopatógenos comerciales.

A nivel mundial, los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* son relevantes en el control biológico, debido al efecto letal sobre un amplio espectro de plagas. Además, estas especies son compatibles con otros microorganismos usados en formulaciones comerciales agrícolas (Pacheco Hernández et al., 2019). A nivel nacional *L. lecanii* es de importancia económica para reducir plagas en cultivos de hortalizas que ocasionan de 25 a 100% de pérdidas económicas (Villamizar et al., 2012). El género *Purpureocillium* también presenta capacidad entomopatógena, planteandose la posibilidad de usarse conjuntamente con otros microorganismos para el control, Salazar-Moncada *et al.*, (2014) propone pruebas *in vitro* para ver la interacción entre el rango de plagas y su efecto letal.

***Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) (Vuill. 1912)**

Reino: Fungi

Filo: Ascomicota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Cordycipitaceae

Género: *Bauveria*.

(Fundacion Charles Darwin, 2023; Asociación Index Fungorum, 2024).

Es el entomopatógenos más intensamente estudiado y el más reconocido, *en Web of Science* 37,7% de las publicaciones son de esta especie, catalogando su importancia como

agente de microbiano de biocontrol, industrial y farmacéutico (Rodriguez Sierra, 1997; Mascarín & Jaronski, 2016)

Especie cosmopolita que parasita una vasta gama de artrópodos, incluidos ácaros y garrapatas, casi no hay orden de insecto que sobreviva a su ataque. Caracterizada por ser especie necrotrófica facultativa; una vez las células de su huésped estén muertas, se alimenta de la materia en descomposición. En el control integrado de plagas es un organismo que encaja en las técnicas de control biológico clásico, control biológico aumentativo y control de conservación puesto que causan epizootias frecuentes en función de la densidad (Mascarín & Jaronski, 2016). Parásita a *Cosmopolites sordidus* (Coleóptero: Curculionidae), que afecta a los cultivos del banano en el Ecuador (Pozo Álava, 2022).

El mecanismo de acción de *B. bassiana* es especial. Una vez cumple la adhesión y penetración, el conidio que llega a la linfa y esparce blastosporas para la exploración de tejidos, esto va acompañado de metabolitos a manera de toxina antimicrobiana, que suprimen respuesta inmune, destruye tejidos internos y agotan los nutrientes para finalmente formar la estructura vegetativa. Estos metabolitos toxigénicos, son un grupo de enzimas antioxidantes que degrada cutícula, estimula el crecimiento vegetativo y conduce la inanición la fisiología del huésped (Mascarín & Jaronski, 2016).

Existen diferentes cepas de *B. bassiana* que inoculan cultivos de alta, media y baja virulencia, esto se da por la variedad fisiológica. El aislamiento geográfico afecta la esporulación y la virulencia, que es a su vez la causa de la diversidad de morfológica en la especie. En este sentido se ha encontrado que colonias de textura harinosa son más virulentas que las de textura algodonosa de los aislados con pruebas en cultivos durante cuatro años, y que la virulencia está correlacionada con la actividad proteasa, pero no con la tasa de crecimiento radial (Kriukov et al, 2009).

De las concentraciones 2.03×10^8 , 4.03×10^6 y 1.47×10^5 esporas/ml, resulta que existe una correlación positiva significativamente en la que, a mayor concentración de esporas, hay mayor mortalidad en larvas de *Spodoptera litura*, resultados paralelos arrojaron la infesta a *Indarbela quadrinotata*. Dichos resultados *in vitro* cambiaron cuando se probaron las concentraciones en campo, la eficacia se redujo; el método de aplicación y la temperatura afectan la eficacia de infección a un insecto (Kaura et al, 2011). *B. bassiana* ha mostrado una tasa de mortalidad máxima de 58% a una concentración de 1×10^8 esporas/ml para *Xyleborus affinis* en 1,95 días (Curculionidae: Scolytinae) (Castrejón-Antonio et al, 2023).

En la investigación de (Deb & Dutta, 2021), se colectaron y aislaron 22 cepas de *B. bassiana*, de insectos con muscardina blanca en la india. En las colonias de los aislados colectados del suelo se observaron morfologías planas, mientras que las colonias de aislados dentro del cultivo, mostraron elevaciones curvas y alta virulencia. El aislado más letal tuvo una tasa de 82,96% en cuatro días, mientras que el menos virulento fue 62,22% mortal en los mismos días de exposición. Ver figura 2, sección A.

Cepeda-Siller et al., (2018), evaluaron la cepa RH4 de *B. bassiana* diferentes concentraciones. La concentración de 1×10^6 conidias/ml tuvo letalidad en 72 horas sobre el nemátodo *Globodera rostochiensis*, sus hifas, fíalides y esporas se observan en la figura 2, sección C. Otro estudio realizado para *b. bassiana* por Abdigoudarzi et al., (2009), registraron fotográficamente la colonia de la cepa 5197 a 15 días de crecimiento tuvo un crecimiento plano en medio Sabouraud con levadura, como se muestra en la figura 2. Sección B.

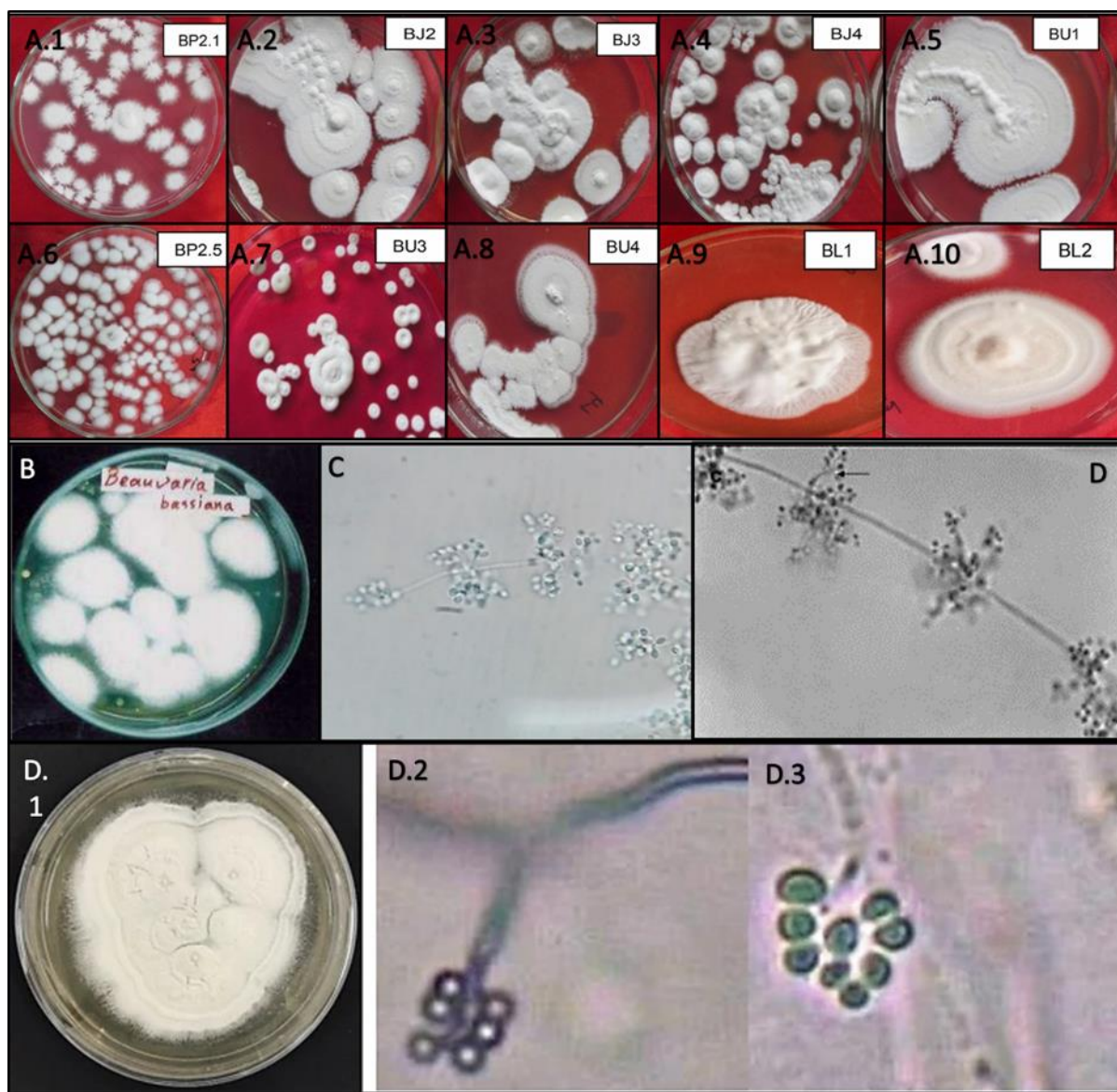


Figura 2. *Beauveria bassiana*: A) 10 cepas aisladas por Deb & Dutta, (2021). B) 15 días de crecimiento, inoculado por Abdigoudarzi et al., (2009). D) Cepa 82% letal en 7 días para larvas instar II de *Spodoptera litura* (Islam et al., 2023)

Crecimiento en medio sólido

En PDA, el crecimiento se presenta un borde colonial regular, micelio algodonoso y polvoriento con gotas de exudado y reverso colonial incoloro (Mar et al, 2012). El crecimiento blanco se vuelven color crema, amarillo pálido, incoloras al reverso y amarillas o rojizas hacia el centro (Gómez Ramírez et al, 2014). La textura es suave, plana o con elevaciones y colonias redondas como la colonias descrita para los 22 aislados de la India (Deb & Dutta, 2021).

Microscopía

En la morfología de *B. bassiana*, las hifas son septadas con 2.5 a 25 μm de diámetro, la base del conidióforo es simple, raramente agrupada. Presenta apariencia de jarrón y sostienen los conidios, los cuales se van formando de manera simpodial o acrópeta con apariencia en zigzag al raquis. Las esporas son esféricas levemente ovaladas en medio aerobio, mientras que en un medio anaerobio son más ovaladas (Echeverría-Beirute, 2006) (Feijo et al., 2007). Ver figura 3.

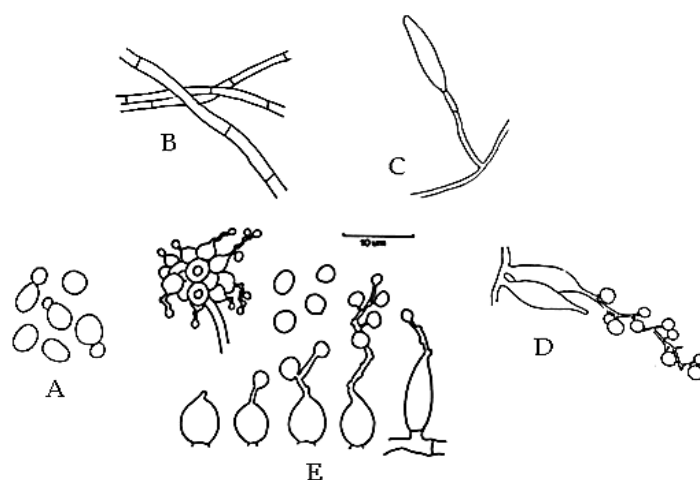


Figura 3. Estructuras morfológicas principales del hongo *Beauveria bassiana*. A. Esporas esféricas levemente ovaladas. B. Hifas septadas. C. Conidióforo simple. D. Proliferación simpodial del conidióforo. E. Esquema del proceso de maduración de conidióforo a partir de un conidio (inferior) y vista de un conidióforo completo (superior izquierda). Tomada de: (Echeverría-Beirute, 2006)

Lecanicillium lecanii (Zimm-1899) (Zare & W. Gams – 2001)

Reino: Fungi

Filo: Ascomicota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Cordycipitaceae

Género: *Lecanicillium*.

(Fundacion Charles Darwin, 2023; Asociación Index Fungorum, 2024).

Antes del 2001 se clasificaba dentro del género *Verticillium*. Después varios aislados representativos para la especie *V. lecanii* cambiaron su taxa. 24 aislados se reclasificaron a

Lecanicillium muscarium, cinco pasaron a *L. longisporum* y cuatro ahora son *L. nodulosum* (Zaré & Gams, 2001). Esta especie es importante como biorregulador de insectos, tales como áfidos, coccidos y aleyrodidos (Cortez-Madrigal, 2007).

La especificidad de la *L. lecanii* es incierta. Basado en el ARN ribonucleico y el ADN mitocondrial de diferentes aislados en diferentes ubicaciones, señalan alto grado de polimorfismos. Existen como mínimo 15 productos comercializados a nivel mundial de esta especie, causa micosis en insectos de los órdenes homópteros, coleópteros y lepidópteros. Ha registrado éxito en el control de la mosca blanca, pulgones, trips y cochinillas de invernadero. Es un micro parásito de la roya y de la clase insecta en general, además son hospederos de varias especies de los nemátodos y arachnida (Upadhyay et al, 2014). Pese a su alta patogenicidad, la especie tiene diversas características de crecimiento y actividad enzimática, causando a su huésped pérdida de la sensibilidad, incoordinación de movimientos, obstrucción mecánica de los conductos respiratorios, agotamiento de las reservas, interrupción de los órganos y muerte. El rango de concentración letal de conidios es entre 1×10^7 y 1×10^9 , generando 97 y 99% de mortalidad. A 25°C se presenta su mayor tasa de infección, a 90 y 95% de humedad relativa se da una óptima germinación de conidios, aunque en humedad relativamente baja también se da esta etapa del ciclo de vida (Soria Morales, 2023).

Pruebas de patogenicidad de *V. lecanii* o *L. lecanii* sobre *Trialeurodes vaporariorum* (mosca blanca) en estado adulto, resultaron que en 72% de 10^8 conidios/ml fue la concentración más eficaz que 10^4 y 10^6 . En el crecimiento del patógeno se observó que los medios de cultivos favorables fueron Sabouraud-dextrosa-agar y Sabouraud-maltosa-agar (Bustillo et al, 1986). La especie produce metabolitos secundarios como proteasas, lipasas y antibióticos, su actividad proteolítica es de 3,32 mg/g y en tamaño de sus enzimas proteolíticas están entre 43 y 68 kDa (Santiesteban et al., 2004).

La cepa VI026 de *M. anisopliae*, nativa de la localidad de Sumapaz, ubicada sobre la Cordillera Oriental de los Andes colombianos, al extremo sur del casco urbano de Bogotá se ha propuesto como producto comercial por su letalidad del 80% en 24 horas de exposición a una concentración de 1×10^{10} conidios/g, sobre plagas que ocasionan pérdidas económicas de 25 a 100% en cultivos de hortalizas (Villamizar et al., 2012).

Prayogo, (2010), aisló una cepa de *L. lecanii* en Indonesia. Las pruebas de letalidad para ninfas I y II de mariquitas pardas en la soja fueron de 30% en siete días de exposición, dicha cepa fue registrada fotográficamente a escala macro y micro. Por otra parte Zare et al., (2001), estableció una clave para la identificación morfológica de la especie *L. lecanii*. Ver figura 4.

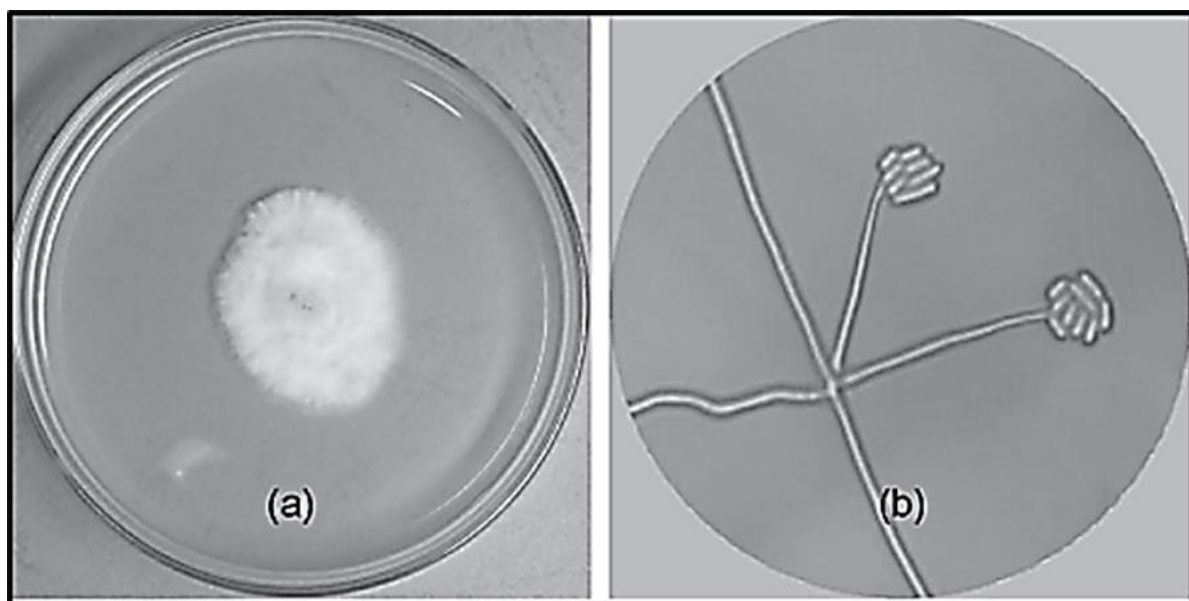


Figura 4. Cepa Indú de *L. lecanii*. Tomado de (Prayogo, 2010)

Crecimiento en medio sólido.

Las colonias en PDA son blanco amarillentas compactas y al reverso son amarillo intenso, una vez cumplen los 10 días de crecimiento llegan a 15 y 25 mm de diámetro (Fianna, 2012). Las colonias son blancas o color crema algodonosas delicadas, tanto en PDA como en Sabouraud Dextrosa Agar a 10 días de crecimiento, expuesto a 25°C. (Gómez Ramírez et al, 2014).

Microscopía

El crecimiento del género *Lecanicillium* presenta conidióforos erectos, alargados y ramificados, mientras que las fiálides son delgadas y alargadas, sus conidios están individuales y en pareja (Bustillo et al, 1986). EL micelio de la especie *L. lecanii* se presenta tabicado, conidióforos simples o verticilados, anchos en la base y delgados hacia el ápice, donde los conidios están agrupados y rodeados por sustancia viscosa. Ver figura 5. (Gómez Ramírez et al, 2014)

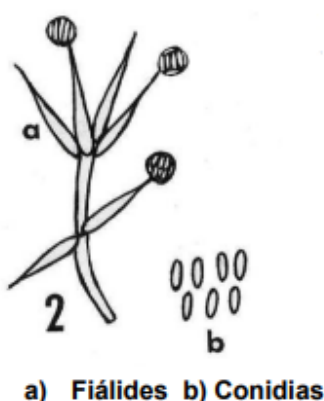


Figura 5 Estructura de *L. lecanii*. Tomada de (Ramírez et al., 2014)

Metarhizium anisopliae (Metschn – 1879)

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Metarhizium*.

(Fundacion Charles Darwin, 2023; Asociación Index Fungorum, 2024).

Al igual que *B. bassiana*., el hongo entomopatógeno *M. anisopliae*. sintetiza enzimas extracelulares que degradan extensas cadenas de monómeros cuticulares, la infección que causa se conoce como “muscardina verde”. Asimila bien la fuente de carbono orgánico e inorgánico (Padilla-Melo et al, 2000). Este hongo presenta persistencia en suelos arenosos y arcillosos, puede sobrevivir en suelo estéril hasta 216 días y observarse su viabilidad, además puede encontrarse densamente en pasto y márgenes de campo mejorado, donde los dos tipos

de hábitat seminaturales actúan como refugios potenciales para la especie (Vieira Tiago et al, 2014)

M. anisopliae es capaz de infectar al adulto de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*) en un periodo de cuatro días, se recomienda que la concentración sea de 9.97×10^9 esporas/ml y que sea constantemente sembrado de manera *in vitro* para pruebas eficaces de viabilidad y patogenicidad (Lemus y otros, 2008). Además, tiene la capacidad de infectar la garrapata, *B. microplus*, una vez se desprende del bovino con una concentración de 1×10^8 esporas/ml, considerándose como un acaricida potencial para el control biológico de garrapatas (Fernández-Ruvalcaba y otros, 2005). Incluso a una concentración baja de 1×10^7 esporas/ml, *M. anisopliae* es capaz de causar 100% de mortalidad en un rango de 2 a 6 días posteriores a la inoculación (Hoe et al, 2009).

Mongkolsamrit et al., (2020), realizó un análisis filogenético para determinar el neotipo ecológico de la región de Tailandia de *M. anisopliae*. Una de las cepas estudiadas fue ARSEF 7487 porque representaba el neotipo etíope a la fecha del análisis, pero se concluyó que otra cepa poseía más concordancia con las condiciones geográficas destacadas de la zona. Aun así, la cepa ARSEF 7487 es usada para realizar arboles filogenéticos de máxima verosimilitud como el realizado por Montes-Bazurto et al., (2020) y este árbol se muestra en la figura 6. Además, la cepa ARSEF 7487 tiene una morfología con referencias fotográficas confiable, tanto en la formación de colonias, como en la estructura vegetativa de la especie. ver figura 7, sección A.

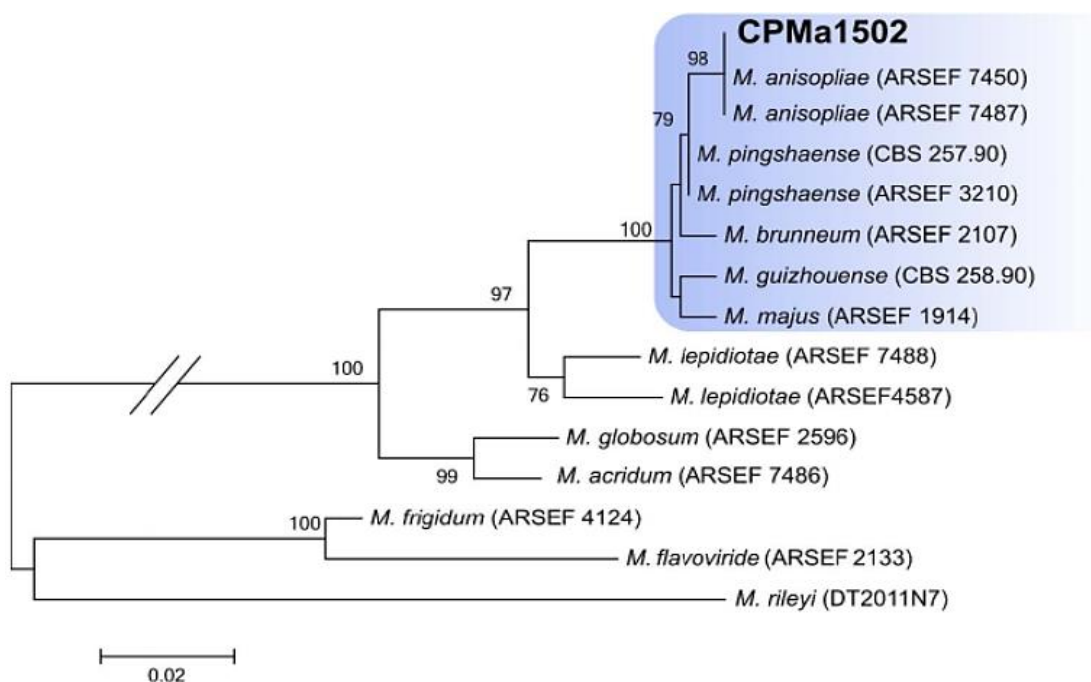


Figura 6. Árbol filogenético obtenido por máxima verosimilitud para *M. anisopliae* y cepa CPMa1502, realizado por Montes-Bazurto et al., (2020).

Goodman *et al.*, (2018b) realizó comparación morfológica y del ADN ribosómico entre los aislados B10964 y B11022 de *M. anisopliae*. La comparación resultó en una similitud morfológica y una diferencia en la susceptibilidad antifúngica que indica la polifilogenia del grupo. Los aislados de diferentes regiones de Estados Unidos inicialmente eran blancos y gradualmente se volvieron verde oscuro y naranja pardusco en el reverso. Para el aislado de Georgia B10964 se muestra la estructura vegetativa en la figura 7, sección B. esta sección representa de igual manera la microscopia del aislado B11022.

El aislado cubano LBM-10 fue uno de los descritos para *M. anisopliae* por Gato Cárdenas *et al.*, (2016a), este aislado presentó actividad entomopatógena para el coleóptero *Cylas formicarius*, además tuvo diferencias morfológicas ocasionadas por la temperatura de incubación, en la figura 7, sección D.1 se muestra a 32°C y en la sección D.2 se observa el crecimiento a 34°C.

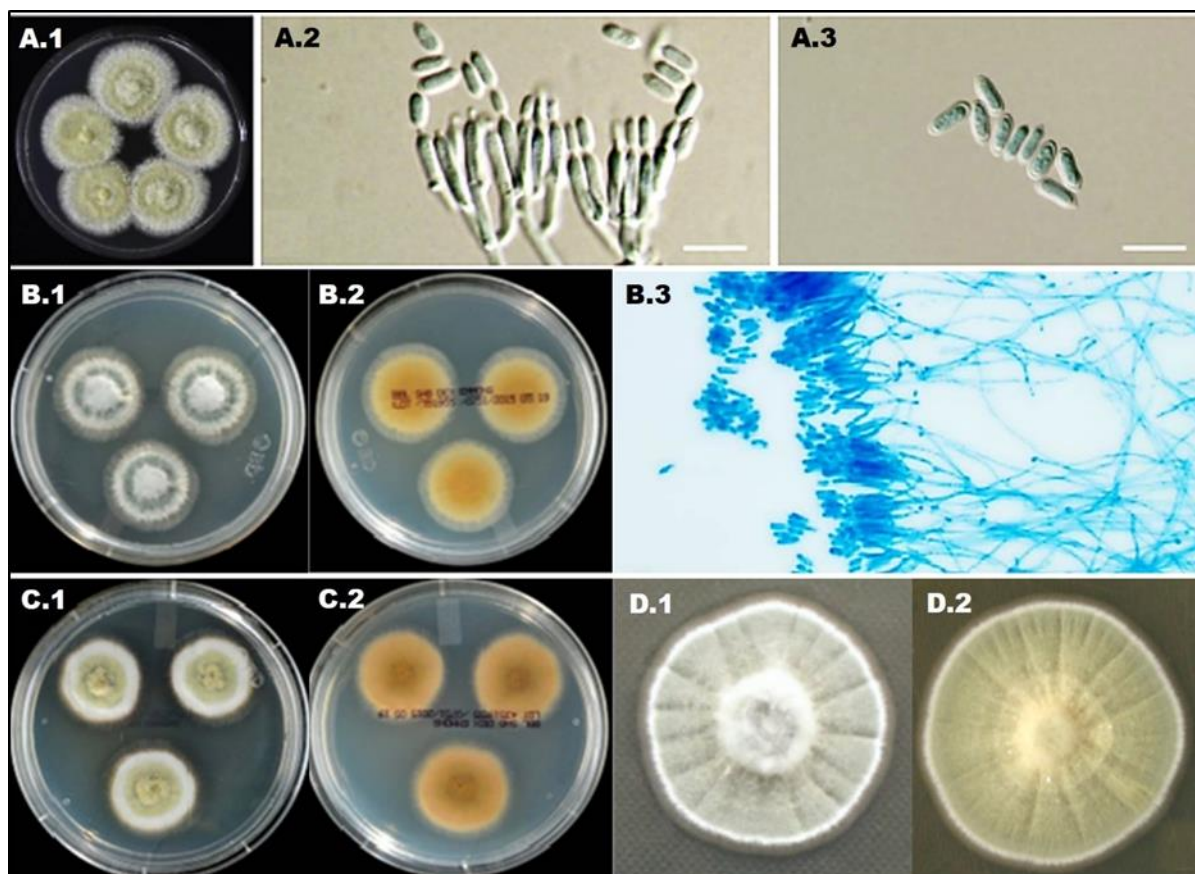


Figura 7. *M. anisopliae*: A) fotografías de la cepa ARSEF 7487 tomadas por Mongkolsamrit *et al.*, (2020). B) Cepa B10964 (Goodman *et al.*, 2018b). C) Cepa B11022 (Goodman *et al.*, 2018b). D) Cepa LBM-10 cubano aislada por Gato Cárdenas *et al.*, (2016a).

Crecimiento en medio Sólido

El medio sólido ideal para su crecimiento entomopatógeno es Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) y Papa Dextrosa Agar (PDA), mientras que para la producción masiva es usando

el arroz (Padilla-Melo y otros, 2000). En PDA su crecimiento es radial con poca esporulación, comparado con menor crecimiento radial en SDA, aunque hay estudios que demuestran que otros aislados de *M. anisopliae* muestran rendimiento máximo de conidios en SDA (Hoe et al, 2009). Las características coloniales varían del color oliváceo hasta un amarillo-verde o verde oscuro en cualquiera de los medios de agar (Gómez Ramírez et al, 2014). En SDA la esporulación es escasa, la capa verde es la región de esporulación. Aun así tres aislados sembrados en medio PDA presentan diferentes patrones de coloración en las colonias; Un aislado nombrado como TA de *M. anisopliae*, presenta en la parte de arriba, en el centro, la estera de micelio amarillo con naranja y amarillento pálido con finas estructuras próximas o adpresos redondos con 3 anillos circulares de conidios verdes, mientras que la parte del revés se presentaron anillos circulares naranja amarillento pálido con anillos circulares del conidios verdes; el aislado TA, presenta estera de micelio de color amarillo oscuro, los conidios de color verde oscuro en la estera de micelio en la parte de arriba, por la parte de abajo el crecimiento se ve blanco y en el centro un tinte naranja (Hoe et al, 2009).

Microscopía

El conidióforo es ramificado, los conidios van desde cilíndricos a ovalados que se forman en cadenas de fiálides. Las conidias son producidas en sucesión de la base hacia el ápice, basipetales. La conidia más joven en la base de la cadena y la más madura en el ápice. Estas últimas ya maduras tienen el color verde característico de la especie, ver figura 8 (Gómez Ramírez et al, 2014).

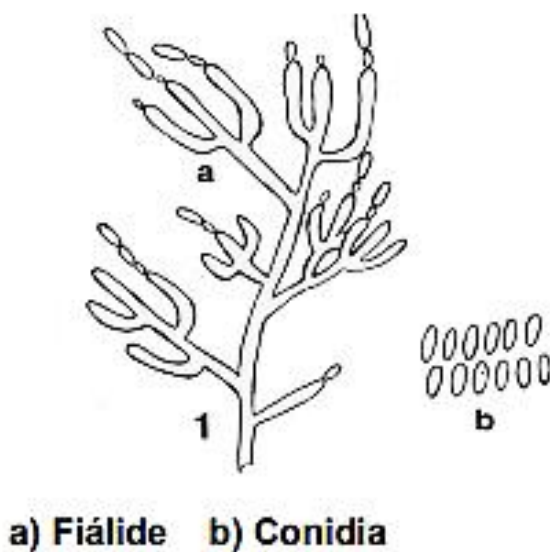


Figura 8. Estructura vegetativa de *M. anisopliae*. Tomado de (Ramírez et al., 2014)

Purpureocillium lilacinum (Luangsa-Ard et al, 2011).

Reino: Fungi

Filo: Ascomicota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Ophiocordycipitaceae

Género: *Purpureocillium*

Especie: *Purpureocillium lilacinum*.

(Luangsa-Ard y otros, 2011; Asociación Index Fungorum, 2024)

El basiónimo de esta especie es *Penicillium lilacinum* (Thom 1910), otras sinonimias son *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces nostocoides*. Su nomenclatura actual es ***Purpureocillium lilacinum*** (Luangsa-Ard et al, 2011; Asociación Index Fungorum, 2024).

Se comporta como nematófago y excelente reductor de masas de huevos de *Meloidogyne incognita*. Además, supera con el porcentaje de 50% mortalidad establecidos para controladores biológicos, y se acerca al 80% de mortalidad para productos químicos establecido por la NOM-032-FITO-1995 en México (García-Velasco & Chavarro-Carrero, 2020). *P. lilacinum* tiene un rango de mortalidad entre el 30 y 50% en 5 días para *Spodoptera frugiperda*, un lepidóptera del orden Noctuidae, que causó en 2016, daños económicos considerables en plantaciones de maíz de países africanos (Toledo et al, 2004).

Aun no se estandariza una comercial específica para esta especie en el manejo integrado de plagas y control biológico. Aun así, se encuentra en el mercado a la concentración estándar para la mayoría de hongos entomopatógenos. CENIPALMA en Colombia realizó investigaciones orientadas al control biológico de la plaga *Leptopharsa gibbicarina* (Chinche de encaje), donde la cepa CPPI0601 de *P. lilacinum* obtuvo un porcentaje de mortalidad del 88% en donde se realizaron aspersiones sobre las parcelas,

mientras que las parcelas sin aspersión tuvieron 72% de mortalidad de la plaga, debido a la contigüidad presentada entre parcelas. Se corroboró que la cepa CPPI0601 en una concentración de 1×10^{13} conidias/ha es un controlador biológico a escala comercial (Valbuena, 2017). Por otra parte, *P. lilacinum* a 1×10^6 conidios/ml tiene 64.1% en la media de mortalidad en grupos de 100 hormigas cortadoras de hojas (*Acromyrmex lundii*), mientras que grupos de 5 hormigas con concentración igual de *P. lilacinum*, la media es 85,6% de mortalidad (Goffré & Folgarait, 2015).

P. lilacinum fue objeto de estudio en las concentraciones 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 esporas/ml, para saber que concentración ocasionaba la muerte de *Tuta absoluta* (polilla perforadora del tomate), lo que resultó en que la concentración más alta produjo un porcentaje de mortalidad del ~93% en el estadio dos y del 83% y 72% en los restantes tres y cuatro estadio larval de la polilla, en cuanto a las demás concentraciones hubo diferencias significativas en los porcentajes de mortalidad y Bali et al., (2022) concluyó en que *P. lilacinum* es un potente agente de biocontrol a 1×10^8 esporas/ml.

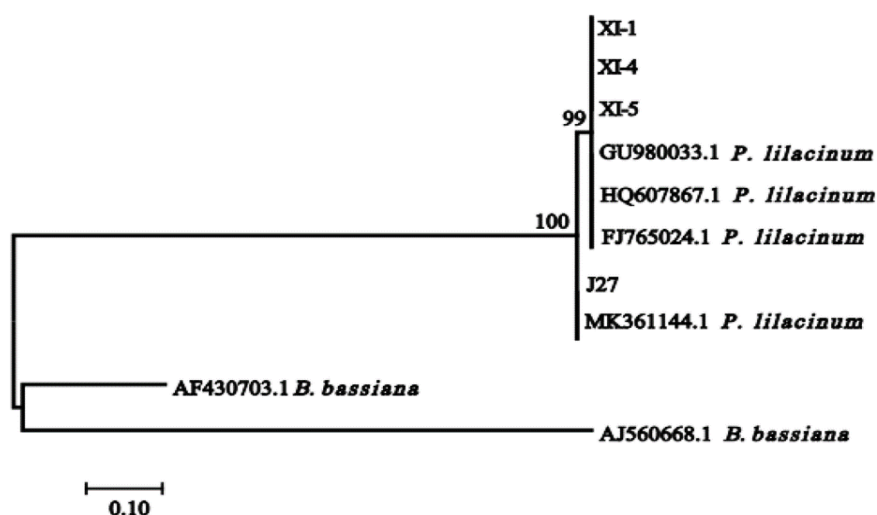


Figura 9. Árbol de máxima verosimilitud (ML) de aislados XI-1, XI-4, XI-5 y J27 con *P. lilacinum* según su región realizado por Sun et al., (2021b)

Las cepas XI-1, XI-4, XI-5 y J27 presentan máxima verosimilitud según su región y usando *B. bassiana* como grupo externo (ver figura 9). Las características morfológicas de dichas cepas son típicas de *P. lilacinum*. Sun et al., (2021a) observó la misma textura

algodonosa y carente de secreción en la superficie para los cuatro aislados. Además, tiene letalidad en siete días de exposición a las concentraciones $4,99 \times 10^6$, $4,82 \times 10^5$ y $2,85 \times 10^6$ conidios/ml para la mosca blanca, ver figura 10, sección desde la A hasta la H. Aun así, en la figura 10. Secciones I-J , se observan las características propias de *P. lilacinum* para realizar una comparación morfológica fiable (Sprute et al., 2021a).

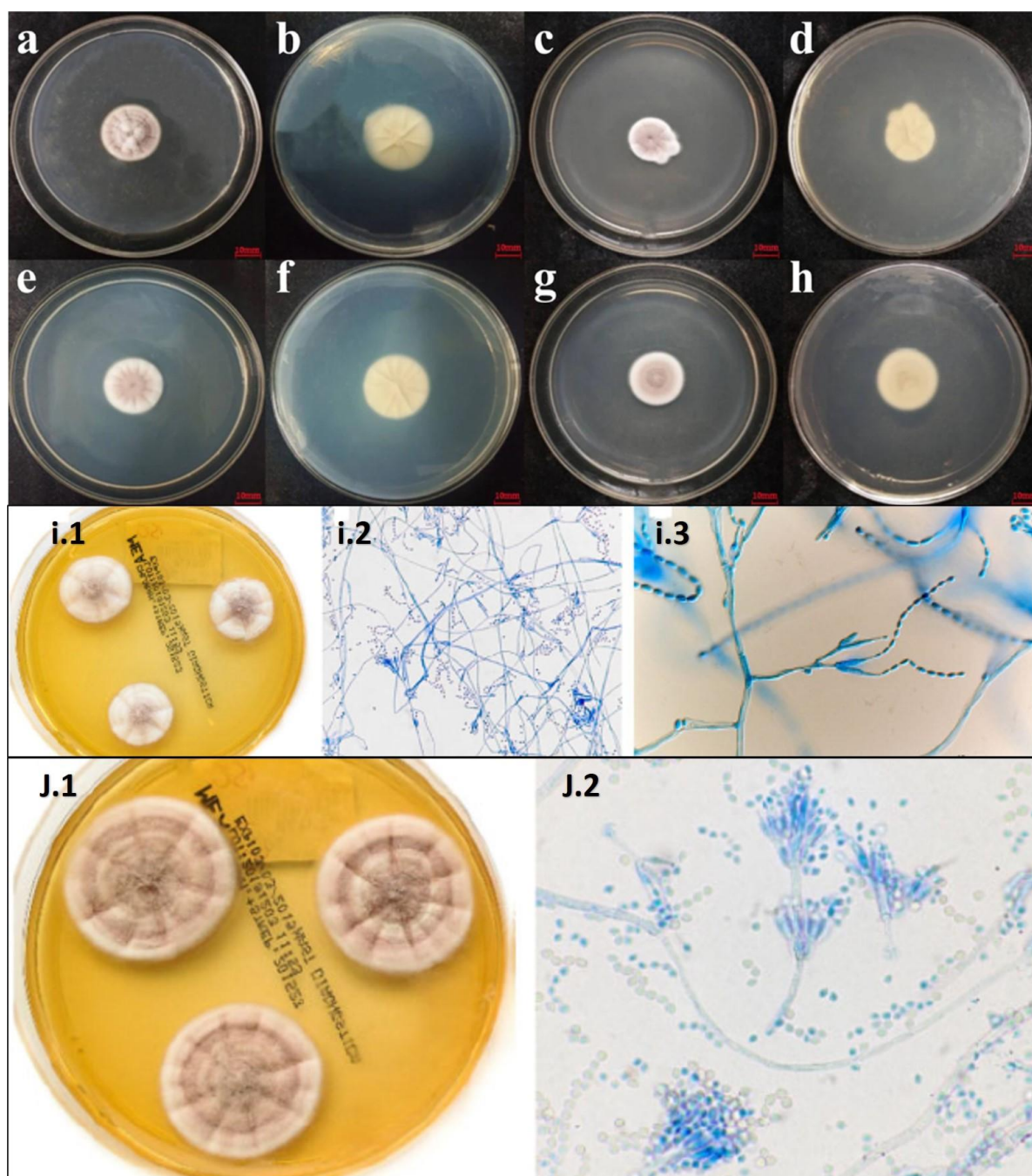


Figura 10. *P. lilacinum*. A-H) a; anverso de XI-1. b; reverso de XI-1. c; anverso de XI-4. d. reverso de XI-4. e. anverso XI-5. f. reverso XI-5. g. anverso de J27. h. reverso J27. Fotografías tomada de: (Sun et al., 2021). I-J) Microscopia de dos cepas tomadas de: (Sprute et al., 2021b)

Crecimiento en medio sólido.

En medio Agar Extracto de Malta (MEA) *P. lilacinum* es de crecimiento rápido hasta el día siete, después se restringe o se estanca. Las colonias son de un fieltro basal con o sin crecimiento aéreo flooso, al principio el crecimiento es blanco y se va tornando vino tino, en su revés, va de tonos purpura a incoloro (Luangsa-Ard et al, 2011). A los 14 días de crecimiento en medio MEA, los caracteres de la colonia pueden ser de 50-56 mm de diámetro, circular, márgenes regulares, lisos, ligeramente elevados, algodonosos de color blanco opaco y al reverso el color de blanco amarillento. En medio Agar Sabouraud Dextrosa con levadura (SYDA), las colonias eran de color gris rojizo, de 35 a 40 mm de diámetro después de 14 días de incubación, algodonosas, aterciopeladas, ligeramente elevadas, circulares, márgenes lisos y enteros, conidios en masa y reverso de color amarillo grisáceo (Bali et al, 2022). En medio Czapek, *P. lilacinum* produce colonias de apariencia rosada y el reverso de marrón rojizo (Saghrouni et al, 2013).

Microscopía

Las hifas son fiálides, alargadas, cónicas con formación basipétala ovaladas a manera de cadenas, ancha en la base y fina hacia el cuello (Saghrouni et al, 2013). Los conidióforos surgen de hifas sumergidas y ocasionalmente forman sinematos o grupos de conidióforos sueltos de hasta 2 mm de alto y los tallos presentan paredes gruesas y rugosas de 3 a 4 μm de ancho constituidas por ramas verticiladas con verticilos de dos a cuatro fiálides. Los conidios están en cadenas divergentes, de elipsoidales a fusiformes, de paredes lisas a ligeramente rugosas, hialinos, de color púrpura en masa. Ver figura 11 (Luangsa-Ard et al, 2011).

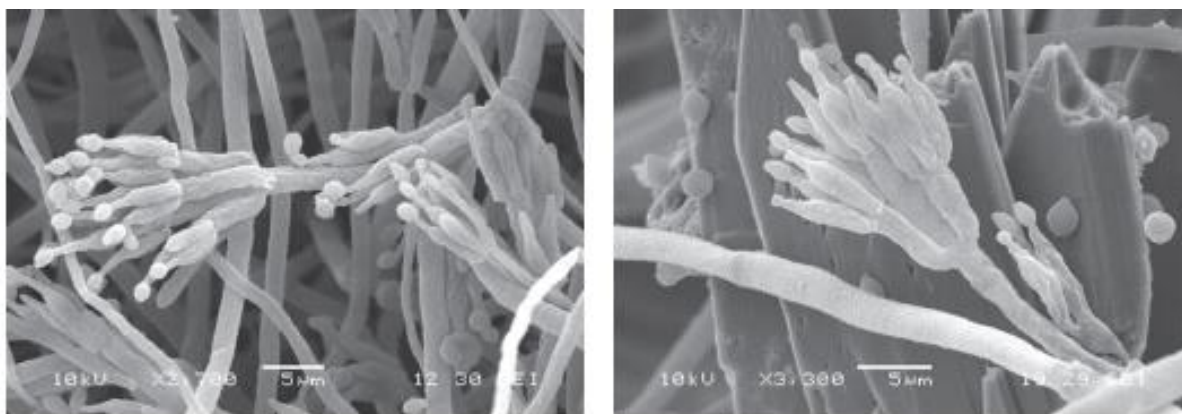


Figura 11. Fotografías SEM de *Purpureocillium lilacinum* cepa QLP12. Tomada de (Xingjie et al, 2017).

Mecanismo de acción entomopatógena

La principal condición ambiental necesaria para que un hongo de carácter patógeno inicie su mecanismo de acción es la humedad. Según esto, los mecanismos inician por adhesión o ingesta de las estructuras reproductivas de los hongos. La adhesión garantiza que el insecto de estado inmaduro sea afectado por micosis, con la colonización de las hifas sobre la linfa del insecto. En cambio, la ingesta garantiza la humedad mas no la micosis; esto es, por los diferentes mecanismos de defensas en el hospedero, como los jugos gastricos dañan las estructuras fungicas o bien la enfermedad al insecto puede darse por toxinas al degradar dichas toxinas, tampoco se descarta la adhesión y el crecimiento del hongo desde el intestino (Téllez-Jurado y otros, 2009; Nicholls Estrada C. I., 2008).

Adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto.

Cuando la espora se deposita en el integumento (Cubierta externa, glándulas o espiráculos), inicia la absorción de la espora por receptores de reconocimiento de los insectos. En este proceso participan enzimas de adhesión (adhesina), dependiendo del número de esporas que se adhieran a la cutícula se da la muerte del insecto con éxito (Téllez-Jurado et al, 2009; Nicholls Estrada C. I., 2008). Para darse la retención de esporas en el integumento, inicia la asociación patógeno-hospedero. El apresorio, los tubos germinales y fuerzas de iones divalentes de Calcio (Ca^{2+}) y Magnesio (Mg^{2+}) del hongo hospedero actúan como

repelentes de las fuerzas electrostáticas de la superficie del insecto, rompiendo la barrera hidrofóbica y estableciendo contacto fúngico-cutícula (Micaela et al, 2006).

Penetración en el hemocele.

Una vez favorecida por la humedad, la espora comienza aumentar de tamaño e inicia el metabolismo germinativo. Los iones de hidrogeno ($H1^+$) y calcio ($Ca2^+$) interactúan en un extremo de la hifa mediante transporte pasivo, de esta manera crece el tubo germinativo y se forma el apresorio o ancla de la espora. Después de neutralizar el entorno para reducir el impacto del mecanismo de defensa del insecto, la espora se beneficia de la cutícula, evita la mecanización de la hemolinfa. Esto quiere decir que se adapta para minimizar la deshidratación del huésped y produce blastoporos especializadas en la absorción rápida de nutrientes de la linfa (Micaela et al, 2006; Téllez-Jurado et al, 2009; T M et al , 2016).

Leptophobia aripa (Boisduval, 1836)

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Lepidoptera

Familia: Pieridae

Subfamilia: Pierinae

Género: *Leptophobia*.

(Warren et al, 2024).

La especie es de importancia económica para distintas variedades cultivadas de *Brassica oleracea*, tal como la col, el repollo, coliflor y el brócoli. Una vez emerge la larva del huevo, esta defolia por completo la planta en muy poco tiempo (Bustillo; De Gutiérrez, 1975). La hembra de *L. aripa* presenta una relación entre la ovoposición o postura de los huevos y la fenología de la planta; Hay más presencia de posturas en una planta juvenil que

en una con floración o una plántula, pero se confirma que *L. aripa* ovoposita en las tres etapas fenológicas de la variedad conocida como brócoli (Murillo Gomez & Giraldo Sánchez, 2023).

L. aripa es una de las especies de Lepidoptera consideradas plagas del brócoli, además es una de mayor importancia en la lista por mayor frecuencia de ovoposición. El control biológico de esta especie ser aumentativo, puesto que recupera y aumenta el número de individuos fácilmente. En condiciones de temperatura ambiental entre 16,0 y 21,6 °C, humedad relativa entre 72,1 y 84,6 %, con etapas fenológicas de floración y crecimiento vegetativo se puede encontrar de 16 a 20 individuos por planta (Atunca Sernaque, 2023). Las plantas hospederas de la preferencia de *L. aripa* son de las familias Cruciferaeae, Loranthaceae, Capparidaceae, Euphorbiaceae y Tropaeolaceae. En el caso de *Tropaelum majus*, es una opción para la cría de la larva de *L. aripa*; esta especie pertenece a la familia Tropaeolaceae, el nombre común es Capuchina, de carácter perenne, alcanza varios metros de largo, tallo muy ramificado, hojas circulares, peltadas con margen ondulado, peciolo largos y delgados (Cervantes Valera, 2012).

Ciclo de vida y proceso de metamorfosis

Leptophobia aripa pone los huevos de color amarillo, estos son alargados y están agrupados de 22 a 49 individuos, la duración de esta fase es de 6 días aproximadamente. Al eclosionar el huevo, el primer instar de larva es color amarillo, al pasar de instar a instar, el individuo se va tornando verdoso con líneas transversales dorsales de color oscuro y un color que va de azul claro a blanco (García Cochagne & Oré Eusebio, 2017). El estado de larva dura entre 11 y 12 días, existen cinco instares de larva; el primero se reconoce por ser el único instar donde son totalmente amarillas y el instar de larva con mayor tamaño es el quinto, antes del estado de prepupa o de iniciar el proceso de pupa (Bernal Morales, 2018).

El color de la pupa es verde claro; en el dorso medio se forman dos estructuras a manera de setas alargadas, puntiagudas y fijas; la etapa de pupa dura entre 11 y 13 días. Desde la postura de huevos hasta emerger en una mariposa (García Cochagne & Oré Eusebio, 2017). Como se observa en la figura 12.

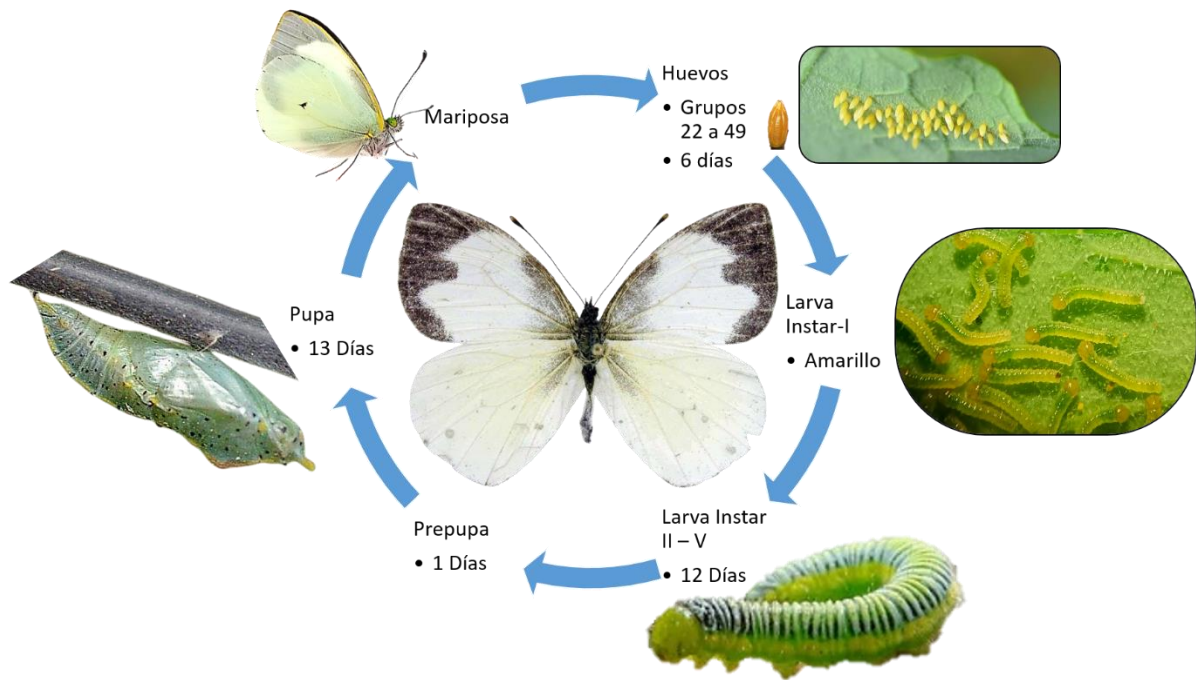


Figura 12. Principales etapas del desarrollo de *Leptophobia aripa*. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

ANTECEDENTES.

Para el presente estudio se tuvieron en cuenta como antecedentes a estudios enfocadas en el control de la mariposa de la col, *L. aripa*. El rastreo bibliográfico arrojó dos resultados.

Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa* Elodia. (Ramírez-Moreno et al, 2001).

Con base en la problemática de salud ocasionada por el uso de pesticidas y contaminantes orgánicos persistentes para controlar el insecto que defolia el repollo y la col, se han planteado extractos de plantas para la reducción del insecto en estado larval de *Leptophobia aripa*. Los 15 extractos fueron de plantas registradas en literatura como controladora potencial de piéridos. Las etapas de larvas se establecieron así: Instar I; etapa gregaria, Instar II; etapa de dispersión, consumo y búsqueda del alimento, e Instar III; etapa errante en busca de donde convertirse en pupa. El diseño experimental usó 18 tratamientos, 15 fueron extractos, 2 agua y 1 permetrina: 12 extractos provocaron menos del 13% de mortalidad, el agua 7% y el veneno de permetrina 100% en las primeras dos horas. Los extractos de *Pteridium aquilinum*, *Equisetum myriochaetum* y *Senecio salignus* arrojaron mortalidad de 27, 25 y 19%, respectivamente.

Susceptibilidad de estadios larvales de *leptophobia aripa* Boisduval (Lepidoptera: Pieridae). (Valverde-Rodríguez et al, 2021)

Además, se ha evaluado *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* como agentes de mortandad para las cinco diferentes etapas larvales del insecto problema. Los tratamientos fueron cinco, las dos cepas fúngicas, dos cepas de bacterias y un testigo. Las unidades fueron los cinco instares de larva, para cada unidad se usaron cinco larvas. Se observó el experimento por 7 días cada 25 horas, resultando como los estadios dos y tres como los más susceptibles de las larvas, además *M. anisopliae* el más eficaz de los cuatro agentes microbianos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad biocontroladora fúngica frente a larvas de *Leptophobia aripa*, defoliadoras de plantas *B. oleracea*.

Objetivos específicos

1. Establecer el criadero de *Leptophobia aripa*.
2. Aislar cepas fúngicas comerciales a partir de bioinsumos agrícolas
3. Caracterizar morfológicamente los microorganismos fúngicos potencialmente entomopatógenos para *L. aripa*.
4. Comparar el efecto entomopatógeno biocontrolador contra *L. aripa* usando cepas fúngicas nativas y comerciales.

METODOLOGÍA

Diseño experimental.

Para abordar la pregunta investigativa ¿Existe biocontrol fúngico frente a *L. aripa*? Se plantean dos posibilidades. La primera es que no exista biocontrol fúngico que puedan afectar y reducir poblaciones de la mariposa blanca de la col, esta será nuestra hipótesis nula porque niega la posibilidad de que existan dicho control biológico. La segunda posibilidad es la hipótesis de que al menos un microorganismo fúngico comercial o aislado nativo presente actividad biocontroladora frente a *L. aripa*. Ver Figura 13.

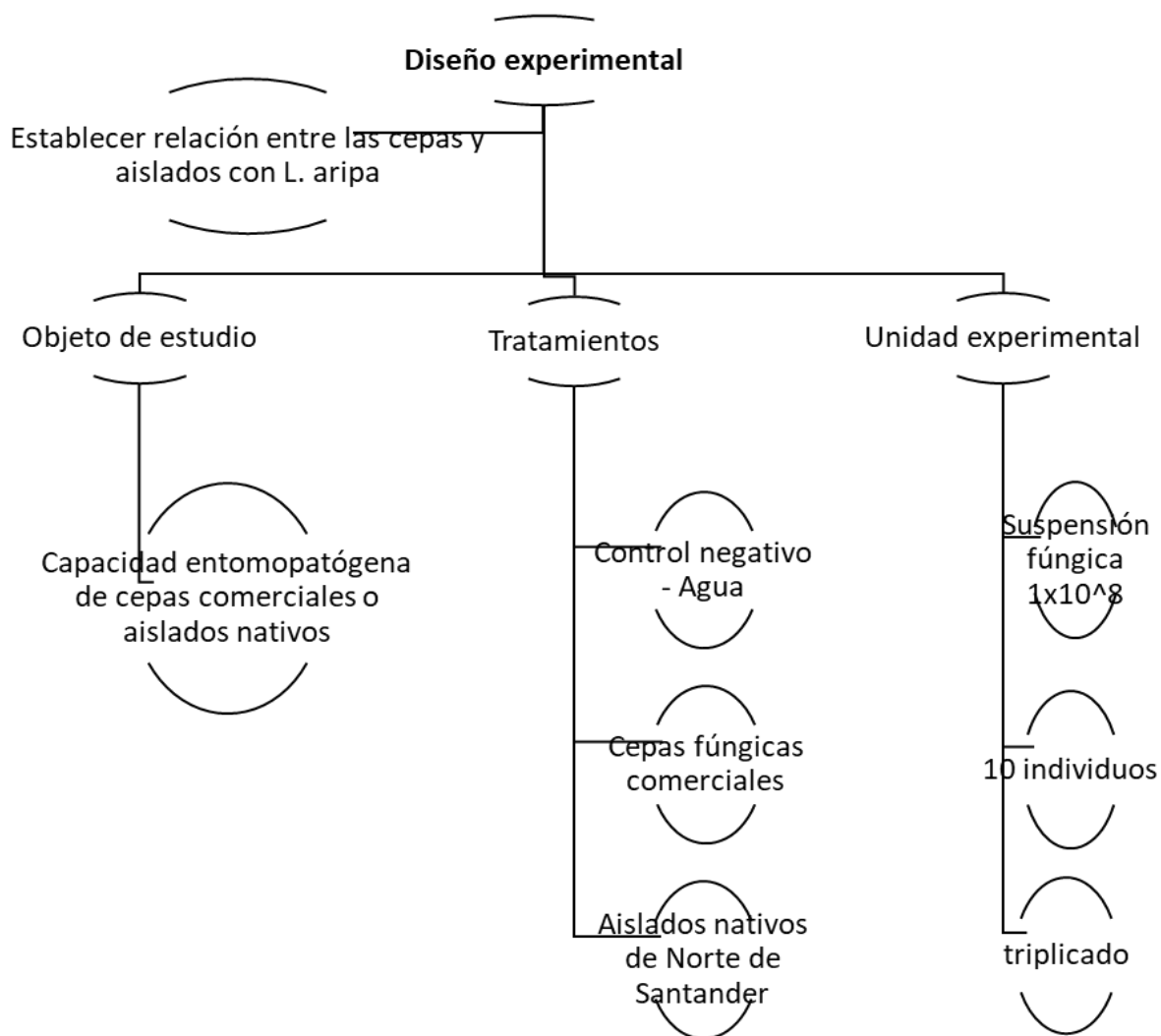


Figura 13. Diseño experimental para evaluar la capacidad entomopatógena fúngica sobre *L. aripa*. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.

La segunda hipótesis o hipótesis alterna, tiene como objeto de estudio la capacidad entomopatógena presente o ausente en cepas fúngicas comerciales o aislados nativos. Una vez determinado el objeto de estudio, se establece las condiciones en que este es comparable, es decir los tratamientos del diseño experimental. Cada cepa comercial y aislado nativo presentan o no la capacidad entomopatógena, por ende, estos son los tratamientos; *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lacanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum*, aislado nativa B1 – Silos y aislado nativo B2 – Tarabotá. Se estableció como control negativo, agua destilada y esterilizada, a fin de establecer que los individuos de *L. aripa* en cada unidad de muestreo, condiciones ambientales controladas de factores externos a su propio funcionamiento biológico o natural. En total ocho tratamientos.

En cada tratamiento, la unidad de observación contenía 10 larvas en instar III de *L. aripa* y aspersión de la respectiva suspensión de cepa comercial o aislado nativo fúngico a una concentración de 1×10^8 esporas/ml. A cada unidad se realizó por triplicado.

Análisis estadístico.

Teniendo en cuenta que las unidades experimentales son de 10 individuos, los individuos muertos a 10 días de exposición al tratamiento, se multiplican por 10 para referirnos en términos de porcentaje. Las gráficas de las medias de la tasa de letalidad de cada tratamiento con el error atípico y desviación estándar de los datos y el modelo que mayor se ajusta a los datos se realizaron utilizando Microsoft Excel.

Bioterio

Para obtener las larvas en instar III del bioensayo y garantizar que los individuos del diseño experimental no fuesen afectados por parásitos u otro tipo de enfermedades, se creó un bioterio de *L. aripa*.

Cría y producción de *Leptophobia aripa*.

La creación del bioterio inicia con la colecta de huevos y larvas de *L. aripa*. Una vez en el laboratorio de biología de la Universidad de Pamplona, se clasificaron y separaron en cajas de Petri con por los estados del desarrollo de huevos, larvas en instar I y II y larvas de instar III. Cada caja de Petri contenía de dos a tres hojas frescas de *T. majus*, previamente lavadas con agua estéril. Cada día se limpiaron los desechos de las larvas y se cambiaron los residuos de hojas devoradas. Las hojas frescas de *T. majus* mantuvieron la humedad y fueron alimento para los individuos. Se supervisó el crecimiento de los individuos hasta llegar a pupas y finalmente se pusieron en el terrario sin enemigos naturales. La manipulación de los individuos se realizó con pinceles 000 y numero 2 para las larvas en instar IV y V.

Adecuación del terrario para cría de *L. aripa*.

Una estructura de vidrio de 70cm de ancho, 100cm largo y 70cm de alto se usó como terrario. Se adecuo el abono orgánico a base de estiércol, madera, tierra y procesado de lombrices. Se sembraron plántulas de *T. majus* (figura 14), debidamente revisadas para que no tuviesen algún insecto o artrópodo que pudiese afectar el crecimiento y posturas de la especie de interés. Un bombillo de luz amarilla controlaba los cambios de temperatura durante la noche y la madrugada.

Se dispuso de flores de brócoli y un tazón con agua que fueron la fuente de alimento para las mariposas, estas flores se renovaron cada tres días. El terrario se ubicó en el balcón del salón de entomología de la Universidad de Pamplona bajo sombra y entrada de luz. El agua para el riego contenía cascara de banano licuado con el fin de hacer florecer las plántulas. Cabe aclarar que antes de ubicar los individuos de *L. aripa* en el terrario se fumigó con insecticida y se esperó las tres semanas que duró el efecto del insecticida. Lo anterior fue para evitar organismos que afectaran la especie y asegurar que continuara el ciclo de *Leptophobia aripa*.



Figura 14 Adecuación del hábitat para la cría de mariposas y cosechas de huevos. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Colecta de cepas nativas del Municipio de Silos, Norte de Santander.

En la zona rural y urbana del municipio de Silos, Norte de Santander-Colombia. Se colectaron restos de exoesqueletos de insectos con infección fúngica. Ver figura 15.

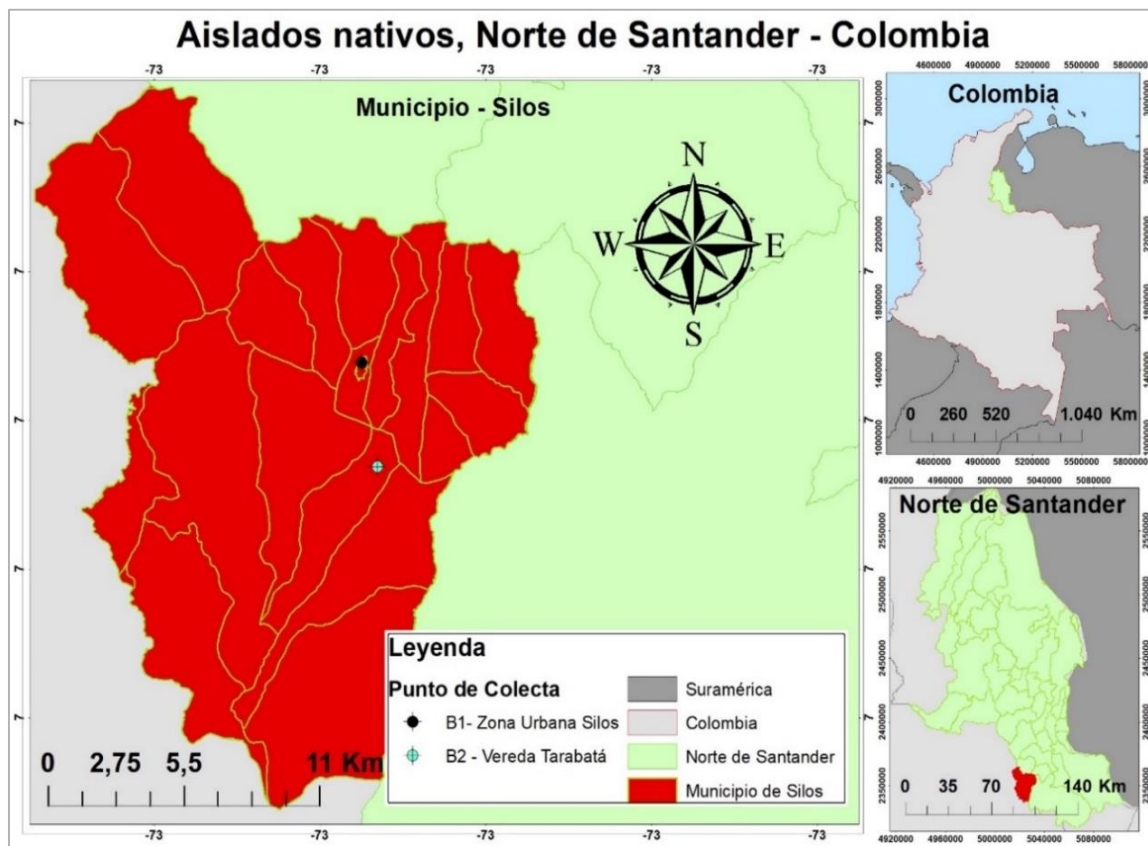


Figura 15. Coordenadas de colecta de las cepas nativas del municipio de Silos. B1- Zona urbana de silos; 7°12'22.36"N, 72°45'25.27"O – 2721 msnm. B2 - Vereda Tarabotá; 7°10'10.39"N, 72°45'3.90"O – 2635 msnm.

La cepa B2-Tarabará estaba infectando un insecto del orden Dermaptera. Ver figura 16



Figura 16. Exoesqueleto colectado por Gabriel E. Prieto López

Aislamiento y purificación de cepas fúngicas comerciales y nativas

Las diluciones se realizaron con agua destilada y esterilizada, más solución salina al 0,85% y Tween al 0,05%. Esto con el fin de romper la tensión del agua con las esporas fúngicas. Se usó agar avena con ácido láctico al 0,2% para evitar el crecimiento de bacterias en los aislamientos.

Aislamiento de cepas fúngicas comerciales.

CULTIVO	PLAGA	DOSIS
Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) Lulo (<i>Solanum quitoense</i>) Uchuva (<i>Physalis peruviana</i>) Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) Ají (<i>Capsicum annum</i>) Pimentón (<i>Capsicum annum</i>) Berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	Mosca Blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	1 g/L
Café (<i>Coffea arabica</i>)	Broca del Café <i>Hypothenemus hampei</i>	1 g/L
Rosas de corte (<i>Rosa</i> spp.)	Trips <i>Frankliniella occidentalis</i> *	1,5 g/L
Mango (<i>Mangifera indica</i>) Aguacate (<i>Persea americana</i>)	Trips <i>Heliothrips haemorrhoidalis</i>	1 g/L**
Cítricos (Limón, mandarina, naranja, lima, tangelo, toronja)	<i>Diaphorina citri</i>	1 g/L
Piña (<i>Ananas</i> sp.)	<i>Dysmicoccus brevipes</i>	1 g/L
Banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	<i>Frankliniella parvula</i> <i>Colaspis submetallica</i>	2 g/L
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	<i>Spodoptera frugiperda</i>	1 g/L***
Pasifloras Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) Gulupa (<i>Passiflora edulis</i> var. <i>edulis</i>) Granadilla (<i>Passiflora ligularis</i>) Badea (<i>Passiflora quadrangularis</i>) Chulupa (<i>Passiflora maliformis</i>) Curuba (<i>Passiflora tarminiana</i>)	Escamas blancas (<i>Ceroplastes cirripediformis</i>)	2 g/L Aplicar un volumen de agua de 600 litros. Frecuencia quincenal

Figura 17. SAFERMIX WP, registro de venta ICA 9560. Y tabla de organismos sensibles al bioinsumo agrícola.

La composición del bioinsumo agrícola agente microbiano entomopatígeno. Registro de venta ICA 9560 (ver figura 17). Polvo mojado constituido por las cepas fúngicas de *B. bassiana* a 4×10^8 UFC/g, *M. anisopliae* a 4×10^8 UFC/g, *L. lecanii* 1×10^8 UFC/g, además contiene *Bacillus thuringiensis* a 1×10^8 UFC/g. El total de concentración de microorganismos en el polvo mojado es de 1×10^9 UFC/g en 500g, pH al 10%, densidad $0,8 \text{ g/cm}^3$ y porcentaje de humedad menor o igual a 10. Figura 18.

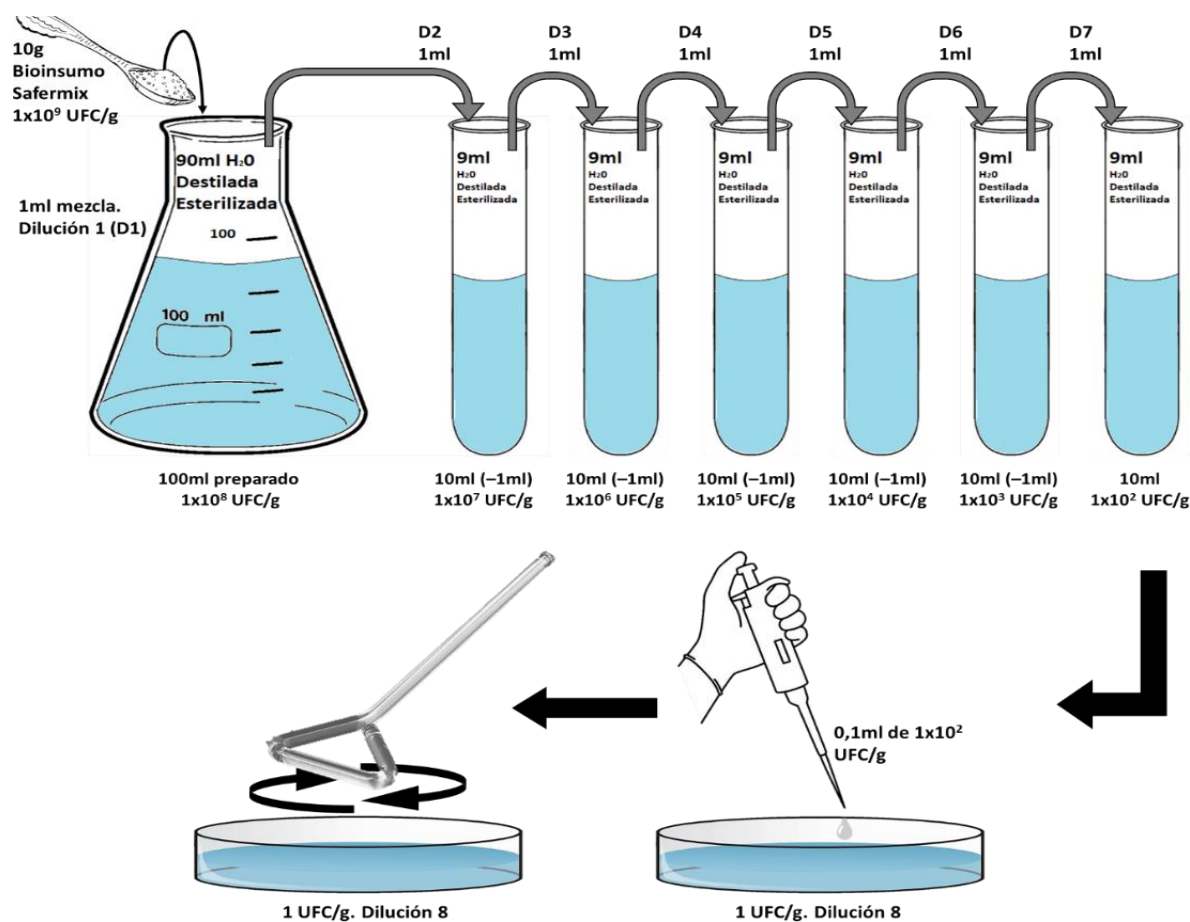


Figura 18. Aislado de cepas fúngicas comerciales a partir de BIOINSUMO AGRICOLA SAFERMIX WP (Becerra-Rojas, 2024)

Se agregaron 10g de bioinsumo en 90ml de agua destilada y esterilizada, siendo esta la primera dilución de ocho en total. Se prepararon 6 tubos de ensayo con 9ml de agua destilada y esterilizada, con micropipeta del 1000 μl (microlitros) se extrajo 1ml de la dilución uno, se agregaba a la siguiente y se homogenizaba la solución hasta llegar a la

numero siete. La octava consistió en la siembra de 100 µl en agar avena dentro de caja de Petri. Para dispersar el inóculo se utilizó un asa Drigalsky en vidrio previamente esterilizada. Ver figura 11. *Purpureocillium lilacinum*, se obtuvo de Bioinsumo de uso agrícola

Paecilotrópico® WP, con el anterior nombre *Paecilomyces lilacinus*.

Aislamiento de cepas nativas del Municipio de Silos, Norte de Santander.

Cada exoesqueleto fue introducido en tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada y esterilizada, con concentración de NaCl al 0,85%, además contenía tritón a un porcentaje del 0,05. Se usó un mortero para homogenizar la mezcla, se diluyó en tres ocasiones para la siembra en agar avena. La incubación fue a 25°C durante 4 días, y se tomaron esporas para realizar una segunda siembra de cada una de las cepas nativas. Cuando se obtuvieron las cepas puras se sembró por masificado y por punción. Cada cepa pura se sometió a una caracterización macro y microscópica.

Preparación de medios y soluciones empleadas.

Las diluciones de sembraron en medio sólido agar-agar con avena en polvo y hojuelas. Una vez obtenidos los crecimientos fúngicos se realizaron siembras medio sólido de Agar Dextrosa Sabouraud y Agar Papa Dextrosa para determinar morfológicamente cada cepa fúngica.

Medio Agar-Avena

Para prepara 500ml de medio se agregó 6g de avena en polvo y hojuelas, 7,5g de Agar-Agar en 350ml de agua destilada y esterilizada. La solución contenía ácido láctico y glicerol que evitara el crecimiento bacteriano. Se sembró dentro de cabina esterilizada con hipoclorito y luz ultravioleta, los 600ml en cajas de Petri de vidrio, previamente lavada y esterilizada.

Se utilizaron nueve cajas con medio para sembrar las tres diluciones de las cepas comerciales y las tres diluciones de cada cepa nativa. Para extraer las cepas puras se

realizaron duplicado de siembras por método de punción. Finalmente, cada cepa pura se masificó en agar avena. Se utilizaron en total 27 cajas con medio Agar-Avena.

Medio Papa Dextrosa Agar (PDA).

Para la preparación de 150ml de medio sólido, utilizaron 5,85g de Agar PDA; cinco cajas de Petri con 15ml fueron usadas para siembra de punción por triplicado y en las 5 cajas restantes se realizó siembra masiva de las cepas comerciales y la cepa nativa B1-Silos.

Medio Sabouraud Dextrosa Agar (SDA).

Para la preparación de 150ml de medio sólido, utilizaron 4,5g de Agar PDA; 5 cajas de Petri con 15ml fueron usadas para siembra de punción por triplicado y en las 5 cajas restantes se realizó siembra masiva de las cepas comerciales y la cepa nativa B1-Silos.

Caracterización fenotípica de cepas comerciales y aislados nativos fúngicos.

Una vez aisladas las cepas comerciales y realizadas siembras masivas y por punción se observó la morfología y el crecimiento de las colonias con la información respectiva a cada hongo, citada en el marco teórico. En cuanto a las cepas nativas se describe el crecimiento de las colonias. Para ambos casos la microscopia de la estructura vegetativa se realiza mediante micro cultivos y observación al microscopio, además se toman registros fotográficos.

Determinación de la tasa letal de las cepas comerciales y aislados nativos.

Ajuste de las suspensiones fúngicas a 1×10^8 esporas/ml

A partir de las cajas de las cepas fúngicas, se logró recuperar una suspensión de esporas que se cuantificó bajo conteo directo al microscopio, empleando la cámara de Neubauer y siguiendo las instrucciones del fabricante para establecer la concentración (Marienfeld, 2024). Posteriormente, esta suspensión fue empleada en el bioensayo, realizando la aspersión de las hojas de alimentación (*T. majus*) y de las larvas.



Figura 19. Cámara de conteo de esporas

Una vez las cepas fúngicas han esporulado completamente, se adiciona 1 ml de solución salina al 0,82% con tritón al 0.01% para raspar liberar esporas y proceder a su recolección y cuantificación. Se calculó ajusto las concentraciones fúngicas a 1×10^8 esporas/ml y se almacenaron en frasco de vidrio tipo II con capacidad de 50ml previamente esterilizado (Hidalgo & Tello, 2022). La concentración se calculó con la fórmula $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$, para hallar los mililitros de solución salina al 0,85% con tritón al 0,01% que se debía agregar a cada suspensión.

Preparación de las larvas para usar en el bioensayo.

Los huevos cosechados del mariposario se organizaron en cajas de Petri previamente esterilizadas, se acomodaron con hojas tiernas y frescas de *T. majus* en el fondo y como techo de los huevos. Cuando eclosionaron, se cambió la de caja de Petri con la menor manipulación de las larvas de instar I. A diario se renovaban las hojas para mantener la humedad y las condiciones aptas para el desarrollo de las larvas hasta el instar III. Los huevos que no se usaron en el diseño experimental se cuidaron y se monitorearon para corroborar que no estuvieran infectados por algún parásito.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presenta el desarrollo de la creación del bioterio y la obtención de las larvas en instar III de *L. aripa*. Además, se muestran las cepas en estado puro y la comparación respectiva con las características morfológica con cepas identificadas en estudios previos. También se describe la mortalidad que ocasiona cada cepa sobre el insecto plaga, así como la relevancia que tienen las tasas de mortalidad registradas en el presente bioensayo con tasa letales en otros trabajos. Cabe aclarar que solo se tomaron investigaciones que tuviesen el uso de una concentración a 1×10^8 esporas/ml, conidios/ml, UFC/ml, UFC/g.

Bioterio

De los estados para la creación del bioterio se usó el huevo. Puesto que la mayoría de larvas de instar IV y V colectadas en el campus de la universidad estaban parasitadas por moscas. Las larvas parasitadas disminuyeron el desplazamiento y poco a poco se tornaban de color amarillo en el centro del cuerpo. En la figura 20, las estructuras de color marrón a vino tinto son pupas de larvas parasitas que emergieron de *L. aripa*. El individuo de color amarillo es un parásito en proceso de pupa. Las cinco larvas de *L. aripa* están siendo devoradas vivas desde el interior hasta que solo queda el exoesqueleto. Los puntos oscuros son excrementos de *L. aripa*, evidenciando que estos individuos se alimentaron a buen ritmo hasta llegar a instar IV, donde se evidenció el parasitismo.



Figura 20. Larvas colectadas del campus principal de la Universidad de Pamplona

Mientras se supervisó el crecimiento de las larvas colectadas para el bioterio, se determinó que los huevos de *L. aripa* tienen una longitud de 1mm, y poseen una textura con líneas longitudinales y pequeñas líneas transversales. El instar I, mide hasta 1,5 mm. El primer estado de larva no dura más de 48 horas a 25°C. Los huevos ocasionalmente son puestos sobre la hoja de la planta, regularmente se encuentra en el envés.

Una sola postura de la mariposa puede tener 120 individuos, como máximo. También se presentaron grupos de a 10, 15, 20 o 30 huevos. La luz influye en la actividad de las mariposas. Se registró cierto ritmo de alimentación para 20 individuos en una caja de Petri, a medida que mudaban o realizaban cambio de instar. En los instar I y II, las larvas solían alimentarse de una hoja mediana de *T. majus*. A partir del tercer instar de larva, el ritmo de alimentación era de 2 a 3 hojas por día. En instar IV, el tamaño es considerable y se agruparon de a 10 individuos, en aproximadamente 24 horas se alimentaban hasta de 4 hojas frescas de *T. majus*. ver figuras 21 y 22.

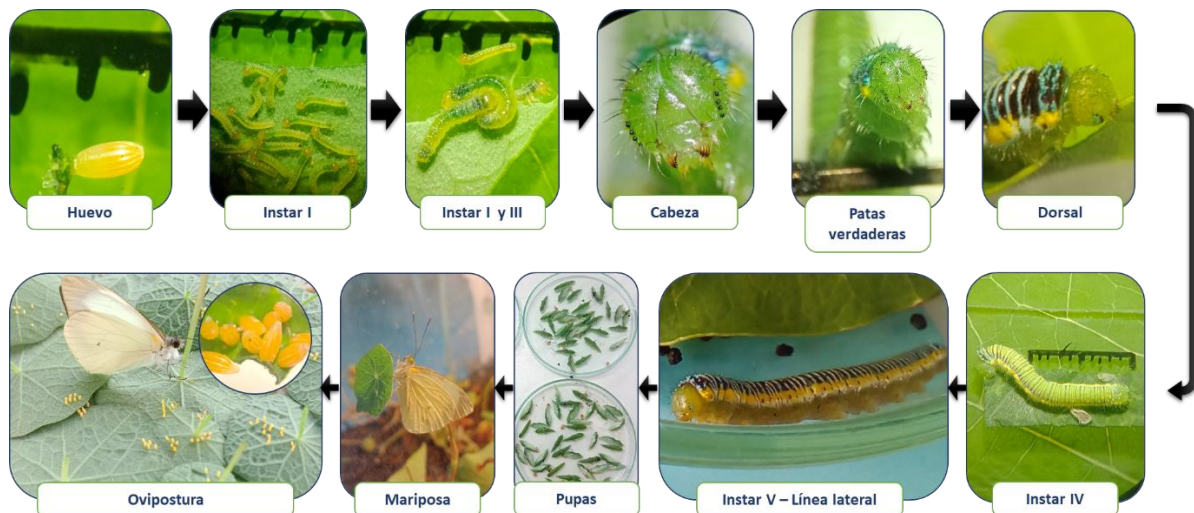


Figura 21. Resultado de la producción de nuevos del mariposario. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Se logró a ver los semi-anillos en la parte dorsal en los colores blanco, azul y negro con bordes irregulares. Una línea amarilla transversal donde se ubican los espiráculos, separa la región dorsal de la ventral. Lasseudopatas están en los primeros segmentos de la larva,

justo después de la cabeza. En individuos del instar IV se logró observar que las mandíbulas son fuertes y devoran 4 hojas grandes de *T. majus* completas en un día.

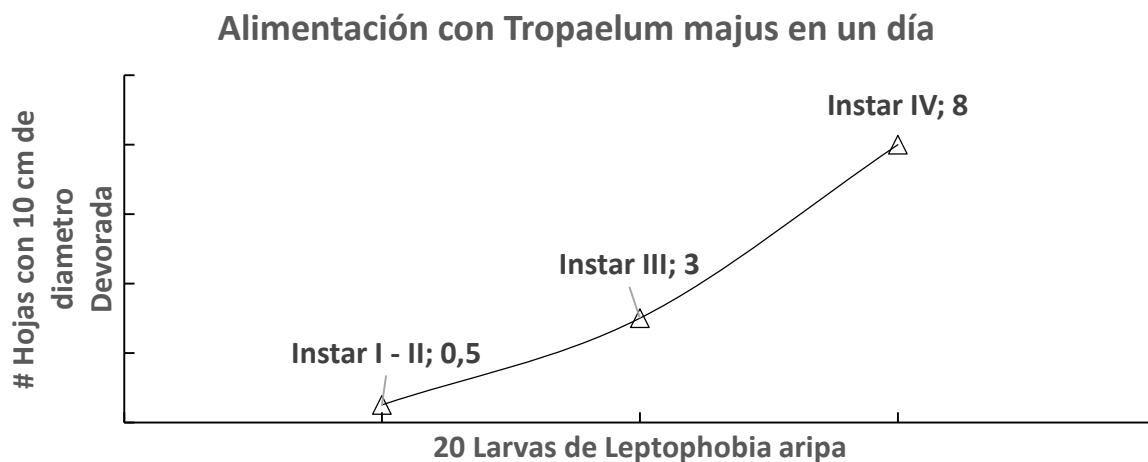


Figura 22. Alimentación diaria de *L. aripa* en instares I, II, III y IV. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Producción de huevos.

Pasada dos semanas desde que emergieron los adultos del estadio de pupa, se dio la producción de huevos en la planta; en las hojas, en los tallos e incluso sobre el vidrio del terrario. Para la cosecha de huevos, se tuvieron en cuenta los que estuvieran en partes de la planta, entre menos manipulación de los huevos antes del bioensayo, menos error experimental. Ver figura 23.



Figura 23. Cosecha de huevos en el terrario. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Ajuste de suspensiones fúngicas a una concentración de 1×10^8 esporas/ml

Las suspensiones fúngicas ajustadas a la concentración de 1×10^8 esporas/ml en frascos de vidrio tipo II, resistente a la autoclave donde fueron previamente esterilizados. Cada tarro posee su respectiva tapa ajustada a presión y recubierta de aluminio para evitar contaminaciones. Ver tabla 2 y figura 24.

Rotulo	Especie	Aislado	Concentración inicial e/ml	Concentración final e/ml
P. lila	<i>P. lilacinum</i>	Comercial	$1,2645 \times 10^8$	1×10^8
C1	<i>M. anisopliae</i>	Comercial	$1,9160 \times 10^8$	1×10^8
C2	<i>L. lecanii</i>	Comercial	$1,1295 \times 10^8$	1×10^8
C3	<i>B. bassiana</i>	Comercial	$1,0425 \times 10^8$	1×10^8
C-Silos	Por determinar	Nativa	$1,8390 \times 10^8$	1×10^8
C-Tarabata	Por determinar	Nativa	$9,850 \times 10^7$	$9,850 \times 10^7$

Tabla 2. Ajuste de las concentraciones de los aislados fúngicos comerciales y nativos. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024



Figura 24. suspensiones fúngicas a 1×10^8 esporas/ml. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Caracterización de fenotípica de los aislados fúngicos comerciales y nativos

Se tomaron registros fotográficos del crecimiento fúngico para PDA y SDA. Además, se realizaron micro cultivos en agar-agar, para registrar el cuerpo vegetativo de cada hongo con sus respectivas hifas, Fiálides, conidios y esporas que permitieran la comparación morfológicamente de trabajos mencionados en la bibliografía. Las evidencias fotográficas de dichas investigaciones se compilaron en el apartado de resultados para cada especie de hongo.

Identificación morfológica de los aislados comerciales de SAFERMIX WP

Se tomaron los crecimientos fúngicos de as diluciones 1×10^{-5} y 1×10^{-6} e/ml para tomar las cepas puras. Ver figura 25

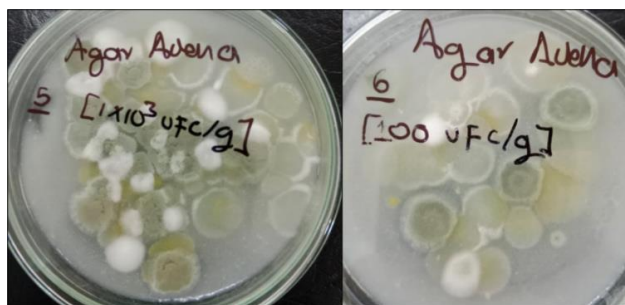


Figura 25. Crecimiento fúngico de las diluciones comerciales usadas para obtener cepas puras. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Las cepas fúngicas se rotularon como C1, C2 y C3. En cuanto a la observación de conidios se realizó mediante microcultivos en agar-agar y por lo menos cuatro montajes al microscopio, dos con tinción con azul de anilina y dos montajes sin tinción.

Beauveria bassiana

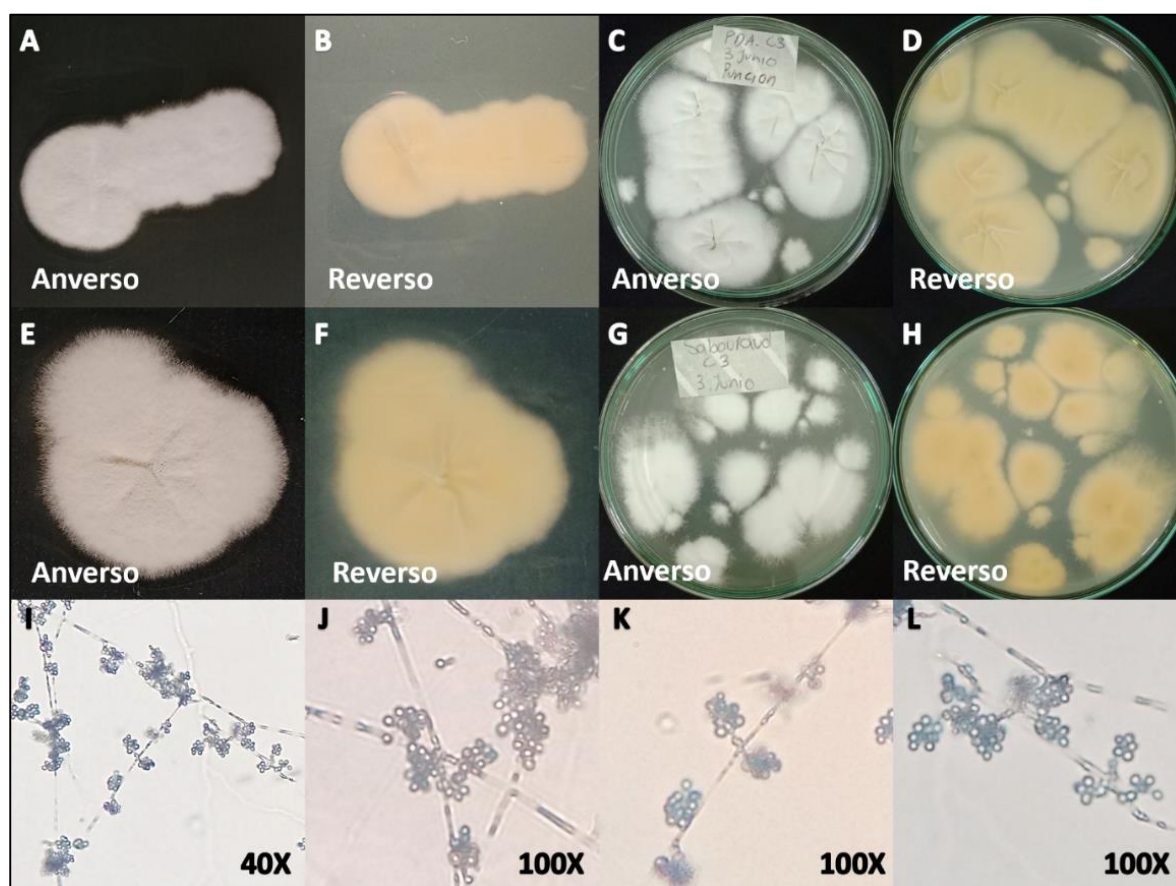


Figura 26. Cepa Comercial 3 - *B. bassiana*. A-D; Medio PDA. E-H; Medio Sabouraud. I-L; Montajes con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

La cepa rotulada como C3, se determinó como *B. bassiana*. Colonia de color blanco, la textura no es totalmente algodonosa, mientras que si se observa la textura harinosa y

pulverulenta. Mientras que los conidios se distribuyen en el raquis de forma acrópetala, como se observa en la figura 26, secciones I-L y la figura 27, secciones D.2 y D.3, la espora es desde circular hasta ovalada, como lo describe Echeverría-Beirute, (2006).

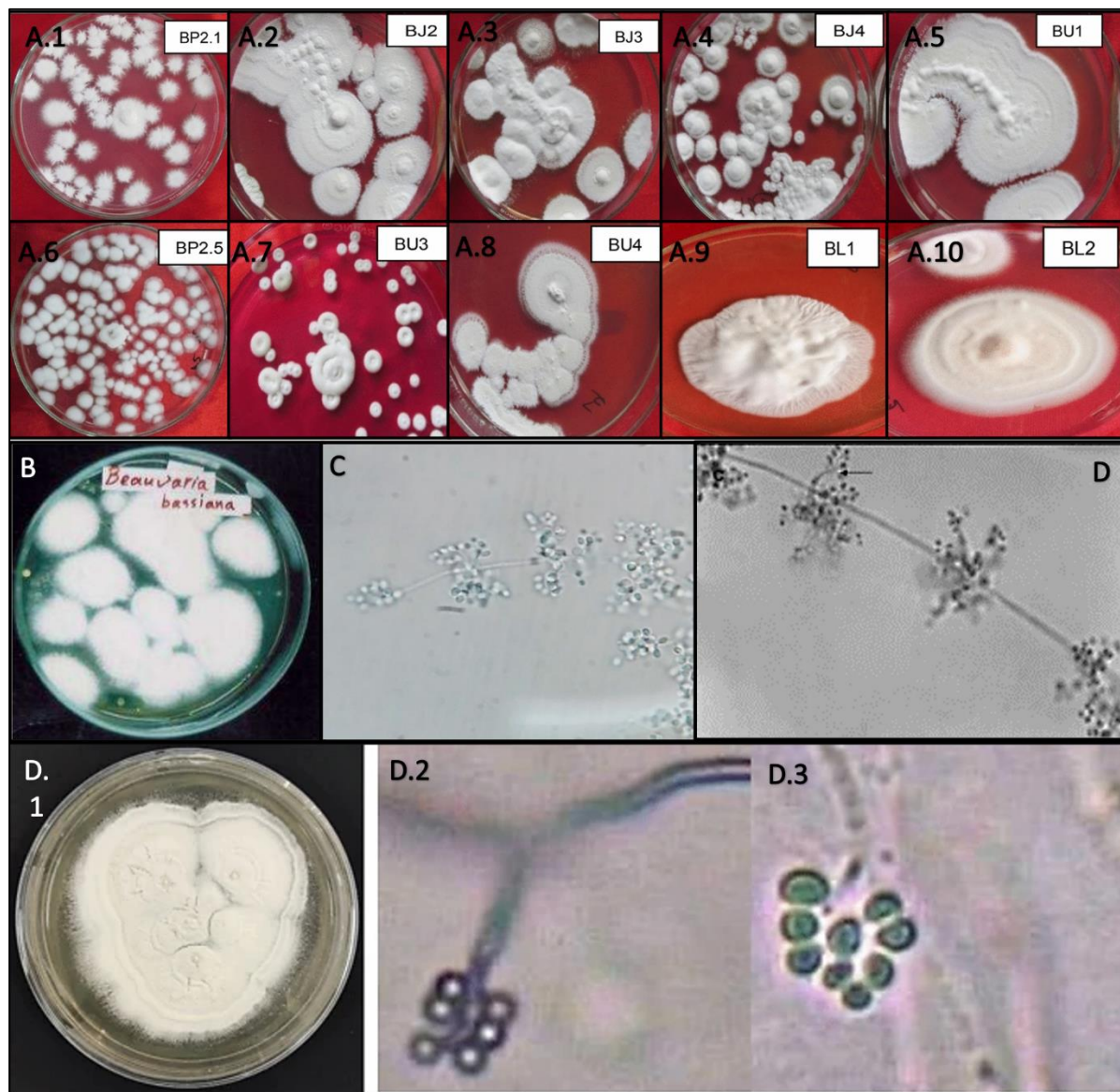


Figura 27. *B. bassiana*: A) 10 cepas aisladas por Deb & Dutta, (2021). B) 15 días de crecimiento, inoculado por Abdigoudarzi et al., (2009). D) Cepa 82% letal en 7 días para larvas instar II de *Spodoptera litura* (Islam et al., 2023).

Lecanicillium lecanii

Tal como Ramírez et al., (2014) describe la especie de *L. lecanii*, nuestra cepa comercial presenta conidióforos verticilados o agrupados por sustancia gelatinosa, sostenidos

por una fiálide de base ancha y cuello delgado justo donde se agrupan los conidióforos, ver secciones desde la I hasta la L de la figura 28 y sección b de la figura 29.

Las colonias en PDA de la Cepa 2, exhiben hiperpigmentación amarilla por el reverso y la textura es delicadamente algodónosa. Por el anverso en el inoculo de triplicado se observa una elevación un círculo, como que no ocurre con el medio Sabouraud. Esta cepa se rotuló con el número dos antes de su identificación.

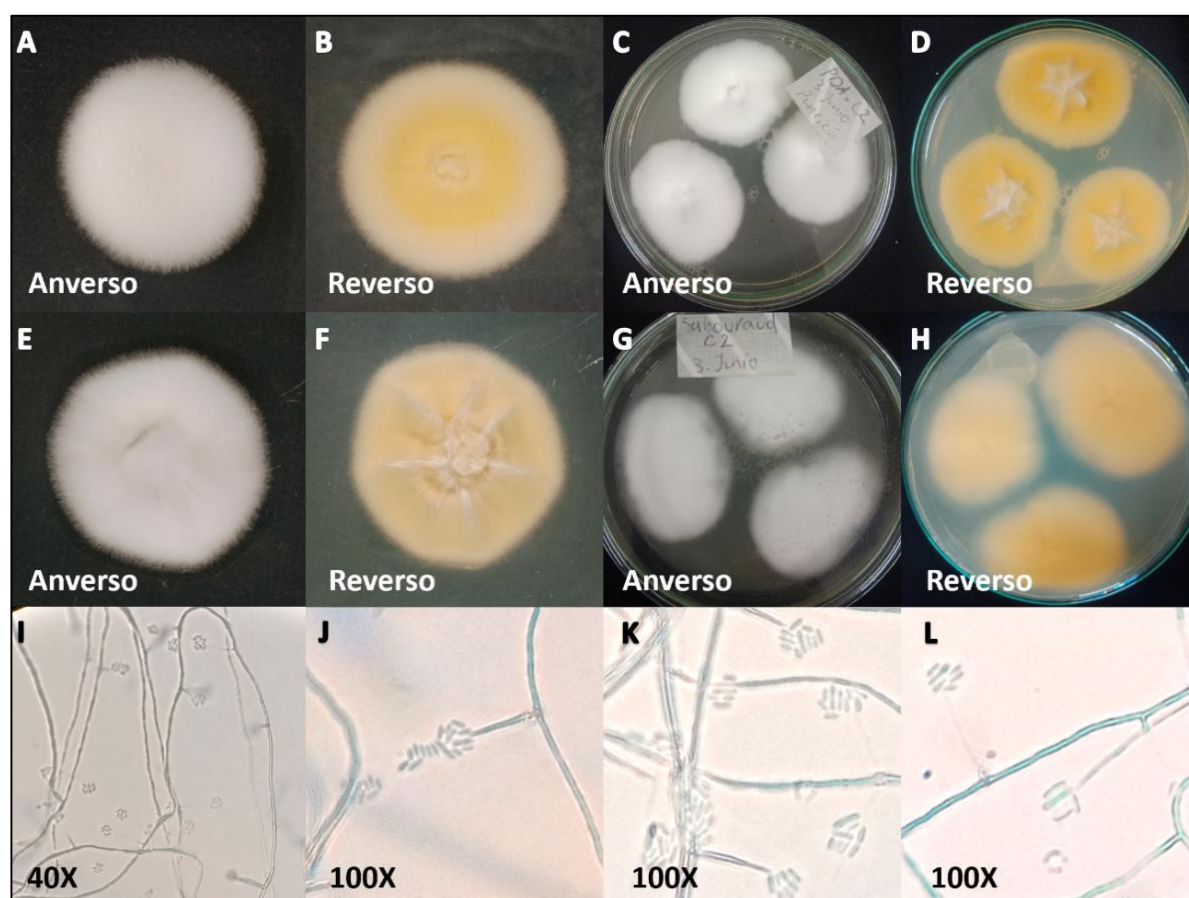


Figura 28. CEPA 2 – *L. lecanii*. A-D. Crecimiento en medio PDA. A y B tienen 4 días de edad. E-H. Crecimiento en medio sólido Sabouraud. I: Montaje sin tinción. J-L; Montaje a 100x con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

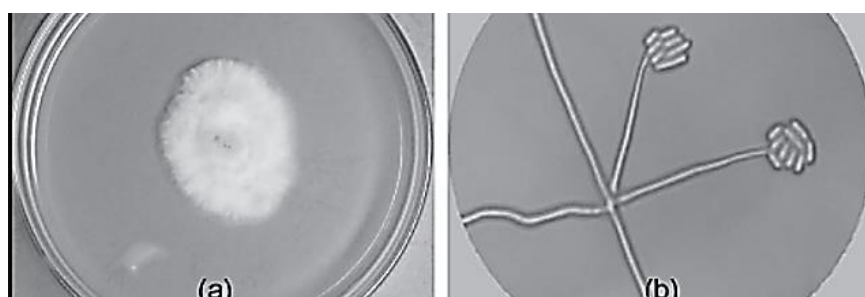


Figura 29. Cepa estudiada como *L. lecanii*. Tomado de (Prayogo, 2010)

Metarhizium anisopliae.

La Cepa 1 exhibió simetría radial, color amarillo y verdoso en el centro, seguido un anillo medio de color verde, además, un anillo distal de color blanco que aumenta el diámetro de distancia a medida que crece de la colonia. En las primeras 24 hora de crecimiento se observó de color blanco algodonoso, esta misma textura se presenta en el anillo distal mencionado. Con el paso de los días los surcos se acentúan y exhiben un exsudado en PDA, además por el reverso de la cepa inoculada por triplicado se observó hiperpigmentación, ver figura 30, sección D. En la observación microscópica hubo presencia de conidióforos muy ramificados, los conidios son circulares y forman cadenas. Las ramificaciones en el conidióforo dan la textura algodonosa, así como Ramírez et al., (2014) describe para la especie *M. anisopliae*.

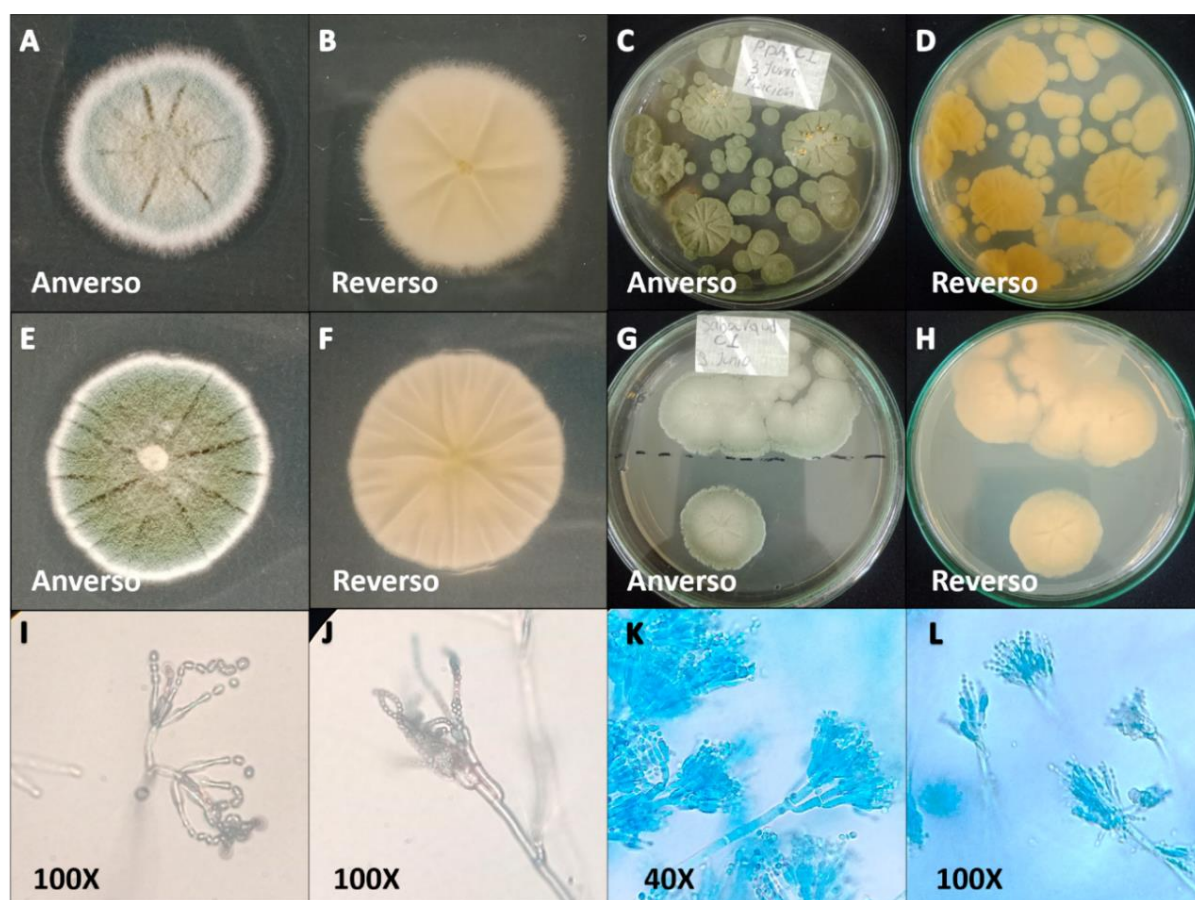


Figura 30. CEPA 1 – *Metarhizium anisopliae*. A-D; crecimiento fúngico en Agar Papa Dextrosa (PDA) A y B; 4 días de edad. 2,5 cm de diámetro. C-D, siembra punción por triplicado, el color verde evidencia esporulación. E-H: 12 días de crecimiento fúngico en Agar Sabouraud Dextrosa. I-L; microscopia sin tinción y con tinción azul de anilina. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

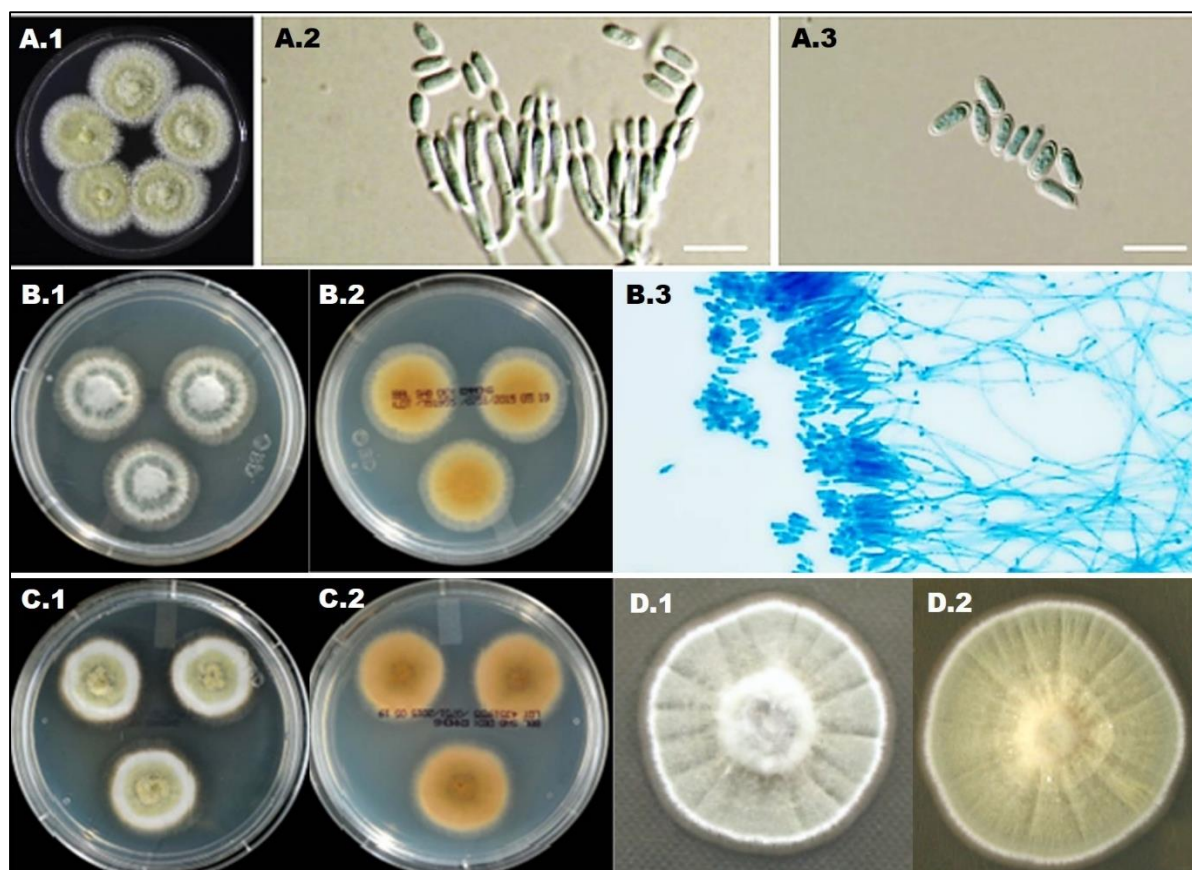


Figura 31. *M. anisopliae*: A) fotografías de la cepa ARSEF 7487 tomadas por Mongkolsamrit et al., (2020). B) Cepa B10964 (Goodman et al., 2018b). C) Cepa B11022 (Goodman et al., 2018b). D) Cepa LBM-10 cubano aislada por Gato Cárdenas et al., (2016a).

Purpureocillium lilacinum

Esta cepa comercial se encontraba en estado puro en su empaque comercial con el nombre de *P. lilacinus*. No presentó contaminación y las colonias mostraron el color característico de *P. lilacinum*. Ver figura 32. Esta cepa comercial se comparó con la figura 33

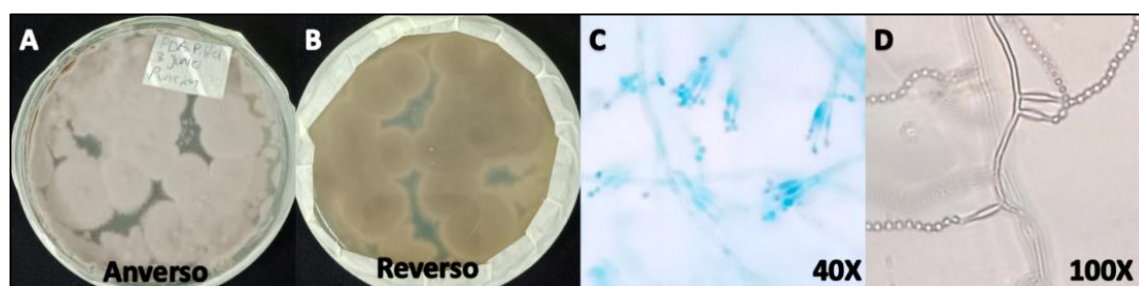


Figura 32. Cepa comercial de *P. lilacinum*: A) Crecimiento de la colonia en tono purpura. B) El reverso del crecimiento fúngico. C) montaje en agar PDA y tinción azul de anilina. D) sinemato o conidióforo suelto con cadena de esporas. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

El cultivo se realizó en PDA, tuvo mucha presencia de esporas, textura algo algodonosa y por el anverso mostro un tono purpura oscuro o gris. En cuanto a los micro cultivos de la cepa, el medio usado fue Agar-Agar, se logró ver a 100X, las fiálides basipétalas, ver figura 32, sección D. Mientras que el micro cultivo con agar PDA y tinción con anilina se logró observar la estructura completamente formada en la figura 32, sección C.

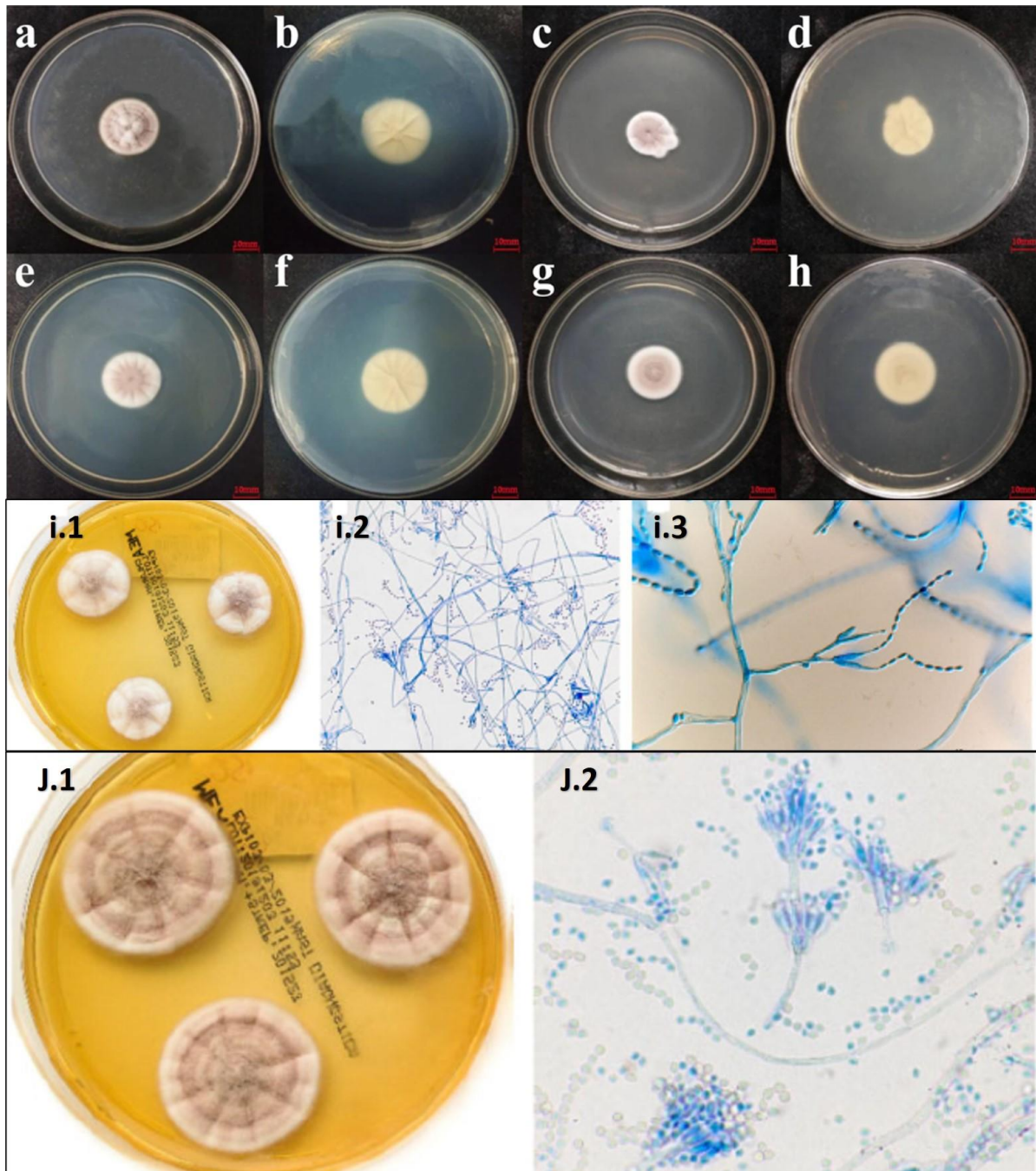


Figura 33. *P. lilacinum*. A-H) a; anverso de XI-1. b; reverso de XI-1. c; anverso de XI-4. d. reverso de XI-4. e. anverso XI-5. f. reverso XI-5. g. anverso de J27. h. reverso J27. Fotografías tomadas de: (Sun et al., 2021). I-J) Microscopia de dos cepas tomadas de: (Sprute et al., 2021b)

Morfología de cepas nativas de Silos.

En el presente estudio esta intrínseco determinar si los hongos nativos del municipio de Silos son entomopatógenos o no, es importante describir el crecimiento fúngico de cada uno. Con esto se podrán hacer estudios a futuro en campo y poder realizar estudios filogenéticos para identificar las especies en cuestión. Ambos aislados nativos, tanto el colectado en la parte urbana como en la vereda Tarabatá son comparables morfológicamente con *B. bassiana*.

Aislado nativo B1 – Silos.

En medio PDA y Sabouraud, la textura es ligeramente harinosa y algodonosa, las colonias fueron circulares, simetría radial, ver figura 34. El ritmo de crecimiento fue similar al de las cepas comerciales, en cuatro días se establecieron colonias con un diámetro de 2,2 cm. Las condiciones de crecimiento fueron a 25°C y 85% de humedad relativa en incubadora.

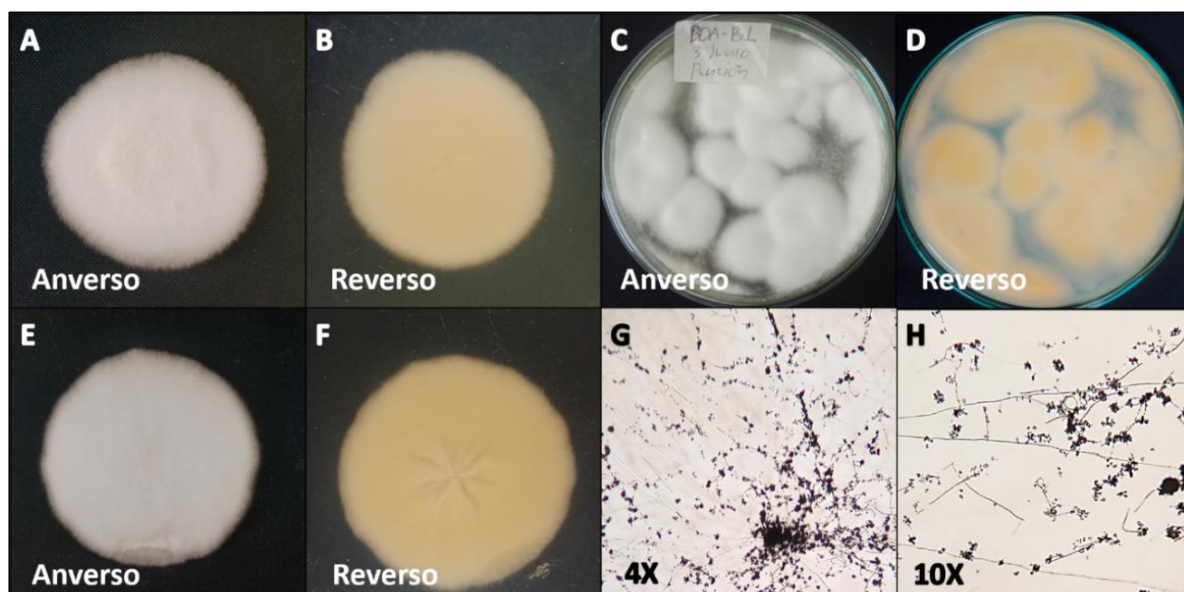


Figura 34. Cepa nativa B1- Silos. A-D; Medio PDA. E-H; Medio Sabouraud. G-H; microscopia. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Cepa nativa, B2 – Tarabatá.

El ritmo de crecimiento de la Cepa nativa B2 – Tarabatá, fue muy lento en condiciones similares a las que se expusieron las cepas comerciales y B1 – Silos. Hasta el día

45 de inoculación se observó crecimiento fúngico de B2, pero no se observó una textura determinada. Por ende, se optó por dejarla expuesta a las condiciones ambientales de Pamplona para observar el crecimiento del micelio.

Las condiciones ambientales de la Ciudad de Pamplona como la incidencia de luz natural, exposición a las fluctuaciones de humedad relativa de 65% a 100% y los cambios de temperatura entre 22°C como máximo durante el día y -13°C durante la noche, favorecieron drásticamente el crecimiento del hongo entomopatógeno. De 45 a 15 días se redujo el crecimiento del micelio a las nuevas condiciones en Agar Avena, el mismo que se usó para inocular las primeras cepas puras. Por el bajo ritmo de crecimiento fue difícil tomar una mejor fotografía que la mostrada en la figura 35, sección C.

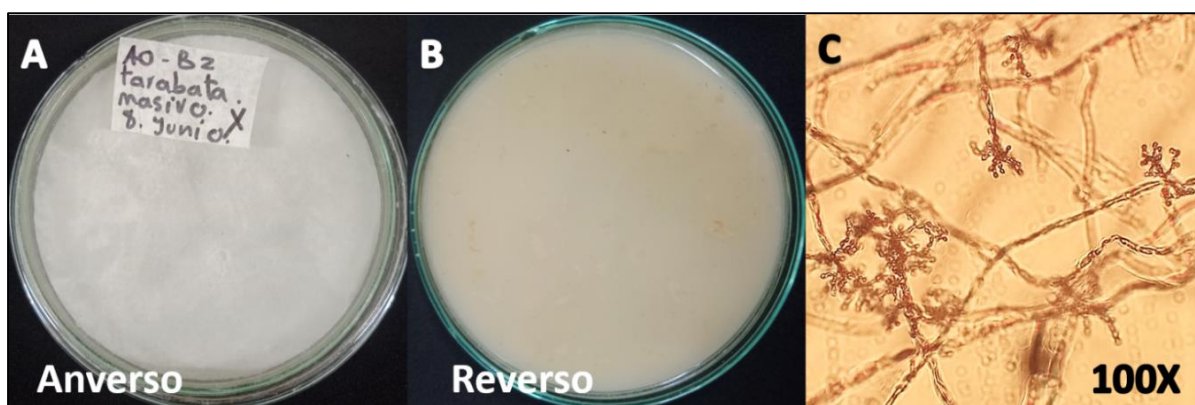


Figura 35. Cepa nativa B2 - Tarabata. Crecimiento en Agar-Avena con técnica de masificado. C) esporas esféricas un poco ovaladas y las hifas septadas distribuidas alrededor del raquis. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

La textura presenta cambios a lo largo del tiempo, primero es sutil cremosa y con los días se observa un poco harinosa, finalmente cuando el aislado cubre todo el agar con crecimiento fúngico, mediante inoculación por masificado, esta se observa algodonosa y muy esponjosa, finalmente baja la textura algodonosa y se mantiene harinosa y de un color crema.

Efecto de aislados fúngicos comerciales y nativos sobre larvas I-3 de L. aripa

El efecto del hongo sobre larvas del instar III de *L. aripa* no fue inmediato, los individuos se retorcían encogiéndose el dorso. Las muertes se registraron por contacto y al comer de las hojas con esporas. El hongo actúa poco a poco e inicia con la inhibición de las

actividades motoras, mientras se observó movimiento visceral. No se observó coloración negra en los individuos muertos, dicha coloración es evidencia de maltrato o muerte por manipulación. Una vez muerta la larva, el hongo continúa alimentándose de la hemolinfa y degrada los tejidos internos. Finalmente queda el crecimiento fúngico sobre el exoesqueleto del insecto.

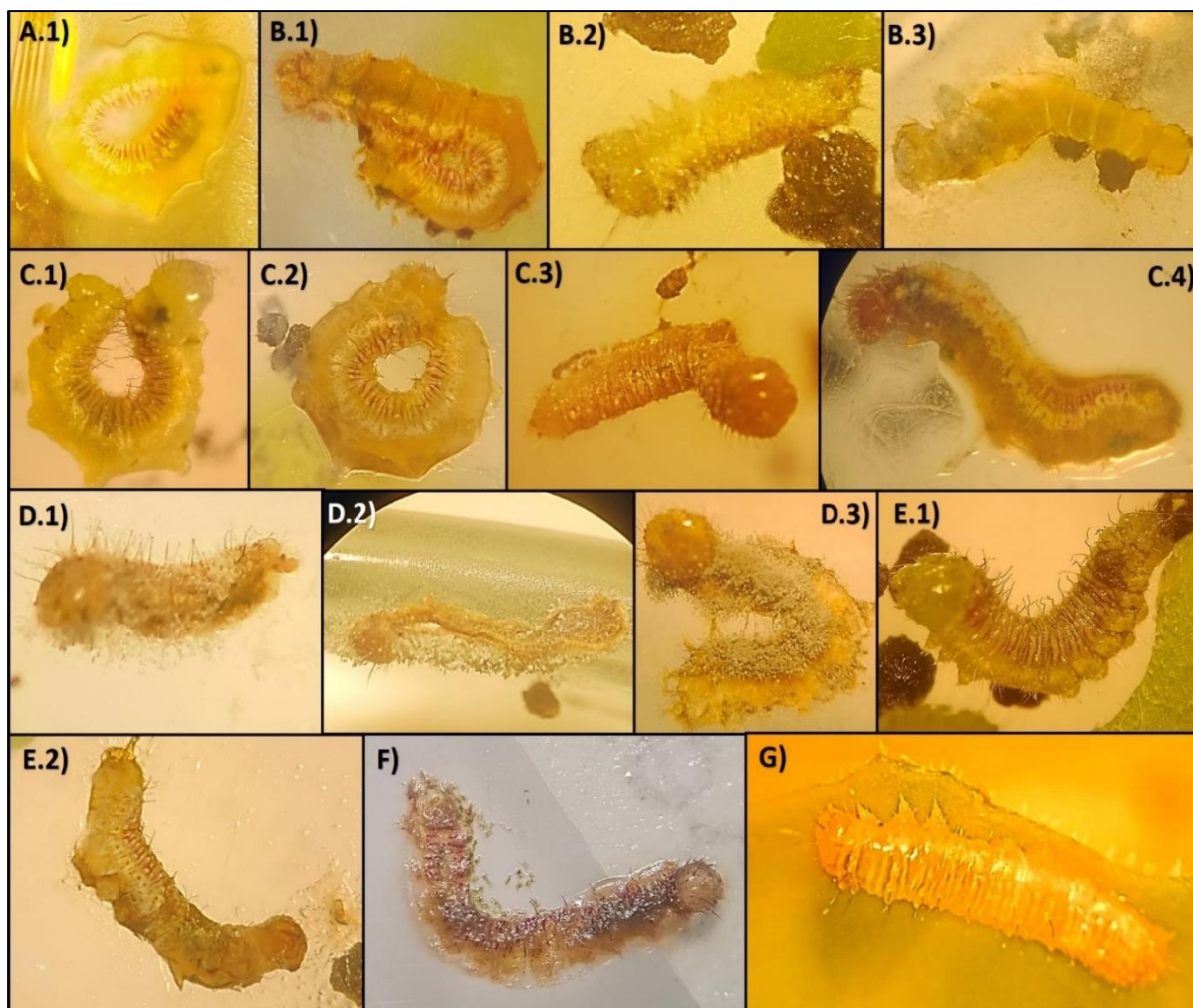
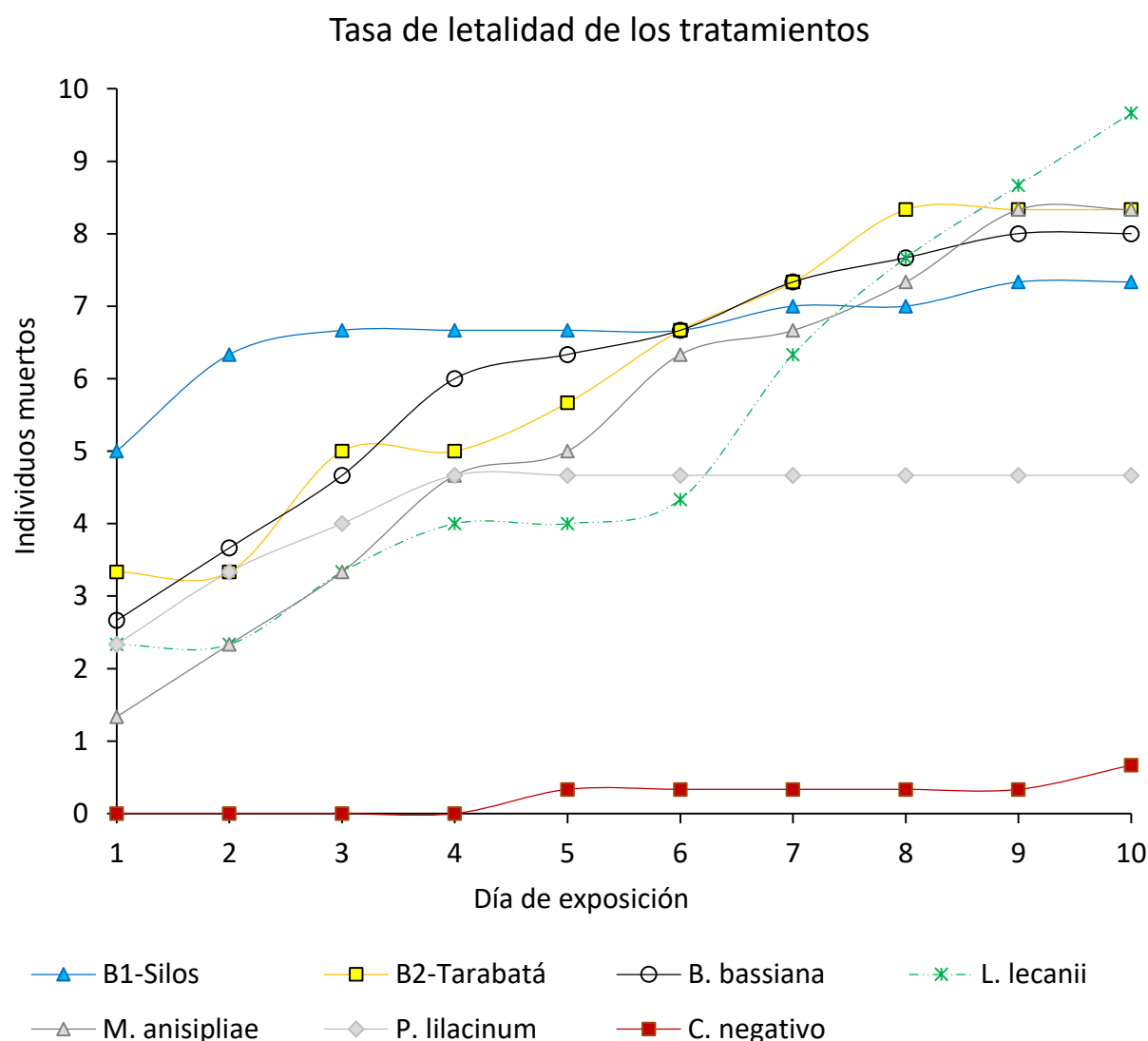


Figura 36. Larvas bajo efecto letal de hongos entomopatógenos. A, *Beauveria* spp. B; *Lecanicillium* spp. C-D; *Metarhizium* spp. E; *Purpureocillium* spp. F; Aislado nativo B1-Silos. G; Aislado nativo B2-Tarabata. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Tasa de letalidad de L. aripa causada por hongos entomopatógenos.

La gráfica 1, muestra el comportamiento de las medias para cada tratamiento. El registro del número de larvas afectadas por la exposición al hongo a través del tiempo, 10

días. Acertando a nuestra hipótesis alterna; Si existe biocontrol fúngico que afecte y reduzca poblaciones de *L. aripa*.



Gráfica 1. Tasa de cada aislado nativo y cepa comercial fúngica, junto al control negativo. Becerra-Rojas, Nathalia., 2024

Junto con esta investigación existen tres estrategias para el control de *L. aripa*. Los extractos de plantas usados como alternativa para un control biológico de *L. aripa* mostraron una mortalidad máxima de 19% (Ramirez-Moreno et al, 2001), mientras que los microorganismos fúngicos evaluados en este trabajo, presentaron una tasa de letalidad mínima de 46,66% en diez días de exposición a la cepa comercial de *P. lilacinum*. La tasa de letalidad más alta fue de 96,66% para la cepa comercial *L. lecanii*. Los datos tuvieron un

comportamiento lineal; a medida que transcurrían los días de exposición de suspensión fúngica a una concentración de 1×10^8 esporas/ml, aumentaron las muertes de larvas de *L. aripa* en Instar III. El presente estudio es prometedor porque introduce una nueva estrategia para el control de la mariposa de la col, *L. aripa*. Antes no se ha evaluado la letalidad de *L. lecanii* y *P. lilacinum* comparado con la ocasionada por *B. bassiana* y *M. anisopliae*.

Tabla 3. Registro de las letalidades media por cada tratamiento a través del tiempo.

HONGO / TIEMPO	B1- SILOS	B2- TARABATÁ	B. BASSIAN A	L. LECANII	M. ANISIPLIA E	P. LILACINU M	C. NEGATIV O
DIA 1	5,000	3,333	2,667	2,333	1,333	2,333	0,000
DIA 2	6,333	3,333	3,667	2,333	2,333	3,333	0,000
DIA 3	6,667	5,000	4,667	3,333	3,333	4,000	0,000
DIA 4	6,667	5,000	6,000	4,000	4,667	4,667	0,000
DIA 5	6,667	5,667	6,333	4,000	5,000	4,667	0,333
DIA 6	6,667	6,667	6,667	4,333	6,333	4,667	0,333
DIA 7	7,000	7,333	7,333	6,333	6,667	4,667	0,333
DIA 8	7,000	8,333	7,667	7,667	7,333	4,667	0,333
DIA 9	7,333	8,333	8,000	8,667	8,333	4,667	0,333
DIA 10	7,333	8,333	8,000	9,667	8,333	4,667	0,667
LETALIDA D %	73,333	83,333	80,000	96,667	83,333	46,667	6,667

Becerra-Rojas, Nathalia., 2024.

Beauveria spp

La cepa comercial *B. bassiana* empleada en nuestro estudio presentó letalidad de 73,77% a 7 días y 80% a 10 días de exposición, valores cuantitativamente menos letales que los arrojados por una cepa local de india, que ha mostrado a 1×10^8 UFC/ml una letalidad de 93,3% en seis días de exposición al lepidóptero *Pieris brassicae* de la familia pieridae. Por otro lado, nuestra cepa mostro más letalidad que *B. bassiana* var. *Daman* con una letalidad de 26,6% en seis días contra la misma especie de mariposa de la india (Parmod et al, 2020). Otro bioensayo con dos aislados de *B. bassiana* fue menos letales con $47,78\% \pm 4,06$ y $34,44\% \pm 3,28$, respectivamente, en un período de 17 días para el lepidóptero *Lymantria dispar* en instar III (S. Draganova et al, 2013). Así pues, la especie de *B. basiana* es un organismo comercial para el control biológico de *L. aripa*

Lecanicillium spp

L. lecanii tuvo en las primeras 24 horas de exposición a la concentración de 1×10^8 esporas/ml se registraron dos muertes. Las barras de error muestran un rango de una unidad hacia arriba y una unidad o muerte hacia abajo. *L. lecanii* fue 43,33% letal al sexto día, inferior al 86,6% de letalidad para *P. brassicae* en mismo día de exposición que registro Parmod *et al*, (2020). Como nuestro ensayo continuo hasta el día 10, la letalidad de la cepa india fue supera por 96,66% y los datos se ajustaron a un modelo lineal, en el que las muertes son directamente proporcionales a medida que pasa el tiempo. Esta especie tiene buen potencial para realizar biocontrol de lepidópteros, especialmente de *L. aripa*.

Metarhizium spp

La cepa comercial tuvo una tasa de letalidad del 83,33% en 10 días de exposición. *M. anisopliae* se registró con una letalidad baja de 66,66% a los 7 días de exposición, en contraste con las cepas *Ma002*, *Ma010*, *Ma18* y *Ma33* aisladas de campos de algodón, al igual que con la cepa *Ma024* aislada de campo de hortalizas que tuvieron 87.5, 71.87, 75, 78.12 y 84.37% respectivamente, las cuales se usaron para controlar el lepidóptera *Spodoptera exigua* (Mubeen *et al*, 2012). La ventaja de tener registro al décimo día de exposición es que la letalidad alcanzada fue de 83,33% con un comportamiento lineal; posiblemente con más días de exposición, la tasa de mortalidad aumentaría por el comportamiento directamente proporcional. La especie *M. anisopliae* hace control biológico sobre la especie *L. aripa*.

Purpureocillium spp

La cepa comercial en estado puro reporto la letalidad más baja, tanto de cepas comerciales, como de los aislados nativos fúngicos. La tasa de mortalidad en 10 días de exposición fue de 46,66% y exhibió un comportamiento logarítmico, sugiriendo que la máxima tasa de letalidad que pudiese tener la cepa no se aleja de la presentada.

Aislado nativo B1 – Silos.

En la tasa de mortalidad promedio que presenta el aislado B1-Silos, transcurridas las 24 horas de aspersión a la concentración estándar de 1×10^8 esporas/ml, se observa mortalidad de 5 larvas en instar III y finaliza el experimento con una media de 7,33 larvas de instar III muertas a los 10 días de exposición al hongo. El hongo actúa al contacto y se observó que poco a poco inhibe las actividades motoras, mientras que hay movimiento visceral.

Aislado nativo B2 – Tarabotá.

El crecimiento del micelio de este aislado nativo es muy lento, pero la capacidad entomopatógena de las medias es del 83,33% letal en 10 días. Una de las réplicas fue 100% letal para larvas de *L. aripa* en ocho días del bioensayo.

En el bioensayo del aislado B2, se observaron a los individuos entrando en inactividad antes de registrar la muerte por acción del hongo. No presentaban actividad locomotora, pero si se vio movimiento visceral.

El aislado nativo B1 de la zona urbana del municipio de Silos, tuvo una tasa de letalidad de 73,33%, cercana a la tasa de la cepa comercial *B. bassiana* con 80% de letalidad al décimo día del bioensayo. las muertes aumentaron en los primeros días, pero al final se estancó el número de muertos por día. En cuanto al aislado nativo B2, colectado en la vereda de Tarabotá y la cepa comercial *M. anisopliae* presentaron la misma letalidad final de 83,33% y la línea de tendencia fue lineal.

Según el análisis exploratorio, los aislados nativos mostraron mayor letalidad que la cepa comercial *P. lilacinum* en condiciones controladas. Con estos resultados se propone estas cepas nativas del departamento de Norte de Santander, como control fúngico para que ejerzan control en el municipio de Mutiscua.

A pesar de que las especies entomopatógenas comerciales están enfocadas en varios insectos plaga, faltan estudios donde se realice biocontrol con entomopatógenos aplicados a

especies de lepidópteros, puesto que es un orden de insectos de importancia económica en cultivos agrícolas.

CONCLUSIONES

A través de la implantación del bioterio se evidenció que efectivamente las larvas de *L. aripa* presentan un ritmo de alimentación acelerado que podrían representar pérdidas económicas a cultivos de repollo, col y brócoli.

Los microorganismos fúngicos comerciales aislados demostraron un amplio espectro, en el control de las larvas de la mariposa de la col, *Leptophobia aripa*, su letalidad luego de 10 días de ensayo rondó valores entre el 46,66 y 96,66%.

Los aislados nativos obtenidos del municipio de Silos, Norte de Santander, demostraron poseer capacidad entomopatógena y, por ende, son una posible estrategia en el control biológico de las larvas de *Leptophobia aripa*, plaga que afecta los cultivos de repollo, col y brócoli en el departamento de Norte de Santander.

Las cepas nativas del municipio de Silos están dentro del rango de letalidad en que operan las cepas comerciales, son cepas que se pueden someter a pruebas de invernadero, además, son un potencial agroquímico para los cultivos de locales.

RECOMENDACIONES

Esta investigación es una propuesta clara a utilizar organismos nativos en el control de plagas, por la capacidad de establecerse en ecosistemas y condiciones conocidas. Además, el poco conocimiento sobre biocotroladores para la mariposa de la col, incita a desarrollar investigaciones sobre la letalidad que los hongos tienen sobre esta especie.

Se recomienda que se estudie la letalidad de las cepas nativas del municipio de silos, para establecerse como bioinsumo agrícola local. El paso a seguir es evaluar la capacidad letal dentro de invernaderos a condiciones controladas. Determinar las condiciones en que se puedan almacenar dichas cepas, para no perder su capacidad entomopatógena a través del tiempo.

La cepa B2-Tarabata es particularmente interesante estudiarla, puesto que a pesar que el crecimiento del micelio es de 15 días con exposición a la luz y 30 días sin luz, fue la segunda cepa más letal, junto con *Metarhizium* spp del presente estudio.

REFERENCIAS

- Agronet & MinAmbiente. (2017). Coliflor. *Evaluaciones agropecuarias municipales*. Gobierno de Colombia. https://www.agronet.gov.co/Documents/39-COLIFLOR_2017.pdf
- Agronet & MinAmbiente. (2017). Brócoli. *Evaluaciones agropecuarias municipales*. Gobierno de Colombia. https://www.agronet.gov.co/Documents/33-BR%C3%93COLI_2017.pdf
- Agronet MinAgricultura. (2017). Repollo. *Evaluaciones agropecuarias municipales*. Gobierno de Colombia. https://www.agronet.gov.co/Documents/29-REPOLLO_2017.pdf
- Aldana de La Torre, R. C. (Feb de 2021). Control biológico por conservación: un servicio gratuito que nos brinda la naturaleza. *Nota Técnica*. Colombia: Fedepalma. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmicultor/article/view/13399>
- Ames de Icochea, T., & Cañedo, V. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Lima, Perú: Centro internacional de la Papa (CIP). https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=IFfNuqTeit8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=Manual+de+Laboratorio+para+el+Manejo+de+Hongos+Entomopat%C3%B3genos&ots=XCI6wGIJd1&sig=yQtnjcqHmvvMI4jJIBY1W_Vn-gI
- Asmaa, G., Fatiha, L., Mouffok, E., & Abdelkader, E. (2022). The study of the biological characters of three entomopathogenic fungi and their pathogenicity against the olive psyllid (*Euphyllura olivina*) under laboratory conditions. *Journal of Entomological Research*. Vol 46 (1), 50-59. <https://doi.org/10.5958/0974-4576.2022.00008.1>
- Asociación Index Fungorum. (2024). *Index Fungorum*. www.indexfungorum.org: <https://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>

Atunca Sernaque, K. V. (2023). Atunca Sernaque, K. V. (2023). Incidencia de insectos plaga en brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) en Santa Rosa de Quives. *Tesis para otorgar el título de agronomo*.

<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/5790/atunca-sernaque-kevin-venjy.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Avila Careces, I. D. (Abril de 1991). Comportamiento de las plagas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) bajo un sistema de producción orgánico. *Tesis*. El Zamorano, Honduras: Escuela agrícola panamericana.

<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4976/1/CPA-1991-T003.pdf>

Bahamón, T., Aycardi, E., Orozco, J., Martín, P., & Bustillo, A. (2001). Preservación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae) contra la broca del café en diferentes sistemas. *Revista Colombiana de Biotecnología*. Vol 3 (1), 80-90.

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/download/30066/30264%3A%3Apdf>

Bali, G. K., Singh, S. K., Maurya, D. K., Wani, F. J., & Pandit, R. S. (2022). Morphological and molecular identification of the entomopathogenic fungus *Purpureocillium lilacinum* and its virulence against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae and pupae. *Egypt J Biol Pest Control Vol.32* (86).

<https://doi.org/10.1186/s41938-022-00582-y>

Bernal Morales, E. N. (2018). *1068_colombia_metamorfosis_de_leptophobia_aripa.pdf*.

Field Museum Web Site:

<https://fieldguides.fieldmuseum.org/es/gu%C3%ADas/gu%C3%ADa/1068>

Bustillo, A. E., Gónales, J. E., & Tamayo, P. J. (1986). Evaluación del hongo *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* en frijol. *Revista*

colombiana de entomología, 12(2), 26-31.

<https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co/index.php/SOCOLEN/article/download/10235/12757>

Bustillo; De Gutiérrez. (1975). Life cycle of *Leptophobia aripa* (Boisduval) (Lepidoptera: Pieridae) pest of cabbage. *Revista Colombiana De Entomología*, 1(4), 1-5.

<https://doi.org/https://doi.org/10.25100/socolen.v1i4.10438>

Castrejón-Antonio, J. E., Montecinos-Matías, R., Tamez-Guerra, P., Ek-Ramos, M. J., & Garza-López, P. M. (2023). Selección de cepas de *Beauveria bassiana* para el control de *Xyleborus affinis* (Curculionidae: Scolytinae). *Avances en Investigación Agropecuaria 27 (Especial)*, ágs-3. <http://doi.org/10.53897/RevAIA.23.27.09>

Castrejón-Antonio, J. E., Tamez-Guerra, P., Montesinos-Matías, R., Ek-Ramos, M. J., Garza-López, P. M., & Arredondo-Bernal, H. C. (2020). Selection of *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) strains to control *Xyleborus affinis* (Curculionidae: Scolytinae) females. *PeerJ Vol. 8*, e9472. <https://doi.org/10.7717/peerj.9472>

Cervantes Valera, K. J. (2012). Preferencia de oviposición de *leptophobia aripa* sobre la planta hospedera *tropaeolum majus* l. en el jardín de mariposas de la FES Iztacala. *Tesis de Licenciatura*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/346887>

Chirinos, D. T., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta Bravo, S., Solis, L., & Geraud-Pouey, F. (2020). Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador. *Cienc Tecnol Agropecuaria*, 21(1), 1-16.

Chirinos, T. D., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta Bravo, S., Solis, L., & Geraud-Pouey, F. (2020). Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador. *Cienc. Tecnol. Agropecuaria vol.21*

no. 1, 84-99. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-87062020000100084

Convenio de estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. (2008). *Informe del Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes sobre la labor de su cuarta reunión*. Ginebra: UNEP/POPS/POPRC.4/15. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://chm.pops.int/Portals/0/Repository/poprc4/UNEP-POPS-POPRC.4-15.Spanish.PDF

Cortez-Madrigal, H. (2007). Producción de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* en diferentes sustratos y patogenicidad. *Agric. Téc. Méx* vol.33, 83-87. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172007000100009&lng=es&tlng=es

Cotes, A. M. (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros (Vol. 1)*. Mosquera. Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

de Albuquerque Maranhão, E. A. (2008). Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de “moscas blancas”(Homoptera: Aleyrodidae). *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 209-242. <http://journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/180>

De Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological control*, 43(3), 237-256. <https://pubag.nal.usda.gov/download/11204/pdf>

De Ulloa Chacón, P., & Hernández Rojas, M. (1981). Biología y control natural de *Peridroma* sama, Plaga de la flor de la maracuyá. *Revista Colombiana de Entomología* 7(1-2), 47-53. <https://doi.org/https://doi.org/10.25100/socolen.v7i1-2.10325>

- Dirección de Desarrollo Sectorial Sostenible. (2007). *Consolidación del Inventario de Plaguidas (COP)*. Bogotá: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Echeverría-Beirute, F. (2006). Caracterización Biológica Molecular *Beauveria bassiana*. *Trabajo Final de Graduación*. <https://www.researchgate.net/publication/333293462>
- FAO/IAEA. (2019). *Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en Programas TIE en Área Amplia*. (A. Villaseñor, S. Flores, S. E. Campos, J. Toledo, P. Montoya, P. Liedo, & W. Enkerlin, Edits.) Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación/Organismo Internacional de Energía Atómica. https://www.iaea.org/sites/default/files/21/05/2019_ipc_use_of_entomopathogenic_fungi_esp.pdf
- FAOSTAT. (2019). Indicadores de plaguicidas - Colombia. *Plaguicidas - Uso por superficie de cultivo (kg/ha) Promedio 1990-2020*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>
- Fernández, M. C., & Giménez, R. A. (2005). Impacto de Imidacloprid en la Descomposición Orgánica Edáfica en Cultivo de Duraznero. *Agricultura Técnica (Chile)* 65(4), 370-377. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072005000400003>
- Fernández-Ruvalcaba, M., Zhioua, E., & García-Vázquez, Z. (2005). Infectividad de *Metarhizium anisopliae* en contra de cepas de garrapata *Boophilus microplus* sensible y resistente a los organofosforados. *Técnica pecuaria en México*, 43 (3), 433-440. <https://www.redalyc.org/pdf/613/61343313.pdf>
- Fianna, J. (2012). INOCULACIÓN Y ESTABLECIMIENTO ENDOFÍTICO DE CEPAS DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* Y *Lecanicillium lecanii* EN PLANTAS DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris*). *Tesis para obtener el título de Bióloga*. Santiago de Cali: Universidad del Valle. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13603.66083>.

- Fred D., B. (1982). Antecedentes, estado actual y futuro del control biológico de las plagas de la caña de azúcar en el neotrópico. *Resúmenes del 9 congreso de la sociedad Colombiana de entomología*, 29-66.
<http://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/34336>
- Fundación Charles Darwin. (2023). *Fundación Charles Darwin*. Fundación Charles Darwin:
<https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=2853>
- García Cochagne, J., & Oré Eusebio, E. V. (2017). *Guía ilustrada de plagas en plantas medicinales*. Lima-Perú: Ministerio de Agricultura y Riego - Instituto Nacional de Innovación Agraria.
https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/725/1/Garcia-Guia_ilustrada_plagas_plantas_medicinales.pdf
- García Cuan, A., Rosado Porto, D., & Salas Lalinde, M. J. (2012). Panorama actual de los contaminantes orgánicos persistentes. *Biociencias*, 7(1), 81-88.
<https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/biociencias/article/download/2796/2216>
- García-Velasco, R., & Chavarro-Carrero, E. A. (2020). *Purpureocillium lilacinum* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) como biocontrolador de *Nacobbus aberrans* (Tylenchida: Pratylenchidae) y *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) en tomate cv. Río Grande. *Acta Agrícola y pecuaria*, 6(1).
<http://aap.uaem.mx/index.php/aap/article/view/146/61>
- Gobernación de Norte de Santander. (2020). *PLAN DEPARTAMENTAL DE EXTENSIÓN AGROPECUARIA (PDEA), NORTE DE SANTANDER*. San José de Cúcuta: Secretaría de desarrollo económico.
- Gobierno de Colombia. (2020). *Bioeconomía para una Colombia Potencia viva y diversa: Hacia una sociedad impulsada por el conocimiento*. Bogotá: Ministerio de Ciencia, Tecnología e innovación. Ministerio de ambiente de Agricultura y Desarrollo Rural.

Agrosavia. Instituto Alexander Von Humbold. Invemar.

https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/paginas/bioeconomia_para_un_crecimiento_sostenible-qm_print.pdf

Goffré, D., & Folgarait, P. J. (2015). *Purpureocillium lilacinum*, potential agent for biological control of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundii*. *Journal of Invertebrate Pathology* Vol.130, 107-115.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201115001330>

Gómez Garzón, M., León Enciso, J., & Rodríguez Rodríguez, C. A. (2018). Producción de láminas de hongos para la enseñanza. *Hehos Microbiol*, 20-27.

<https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/download/332002/20794055/175765>

Gómez Ramírez, H., Zapata Granja, A., Torres Del Aguila, E., & Tenorio Cantoral, M.

(2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Lima, Perú:

SENASA - Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria.

[https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-](https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-Producci%C3%83%C2%B3n-y-Uso-de-Hongos-Entomopat%C3%83%C2%B3genos.pdf)

[Producci%C3%83%C2%B3n-y-Uso-de-Hongos-](https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-Producci%C3%83%C2%B3n-y-Uso-de-Hongos-Entomopat%C3%83%C2%B3genos.pdf)

[Entomopat%C3%83%C2%B3genos.pdf](https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-Producci%C3%83%C2%B3n-y-Uso-de-Hongos-Entomopat%C3%83%C2%B3genos.pdf)

Gualsaqui Panamá, J. G. (2022). Evaluación del hongo entomopatógeno *beauveria bassiana* en los cuatro estadios de desarrollo de la mosca blanca (*bemisia tabaci*) en la Granja Experimental La Pradera. *Tesis de Licenciatura*.

<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/12040/2/03%20AGP%20312%20TRABAJO%20GRADO.pdf>

Hidalgo, D., & Tello, C. (2022). Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados. En *Manual N° 128. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA)*. La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador: Estación Experimental Santo Domingo.

<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5950/1/Manual%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hongos%20entomopat%C3%B3genos%20y%20an%C3%A1lisis%20de%20calidad%20de%20bioformulados%20%282%29.pdf>

Hoe, P., Bong, C., Kadir, J., & Amartalingam, R. (2009). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycete) Isolates and their Effects on Subterranean Termite *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae).

American Journal of Agricultural and Biological Sciences 4 (4), 289-297.

<https://thescipub.com/pdf/10.3844/ajabssp.2009.289.297>

International Labour Organization. (1996-2018). *database International Chemical Safety*

Cards. <https://www.ilo.org>:

https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.listcards3?p_lang=en

Kaura, S., Kaura, H. P., Kaura, K., & Kaura, A. (2011). Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). *Journal of Biopesticides*, 4 (2), 161-168.

http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/Vol_4_2_257C.pdf

Kondo, T., Rincón, D. E., Pérez-Álvarez, R., Vásquez Ordóñez, A. A., & González F, G.

(2018). Capítulo 9. Uso de depredadores como agentes de control biológico para insecto plaga. En A. M. Cotes, *Control Biológico de Fitopatógenos, insectos y ácaros*.

Volumen 1. Agentes de control biológico (págs. 453-485). Mosquera, Colombia:

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia).

https://www.researchgate.net/publication/337006156_Control_biologico_de_fitopatogenos_insectos_y_acaros_Vol_2

Kriukov, V. Y., Yaroslavtseva, Levchenko, M. V., Lednyov, G. R., & Glupov, V. V. (2009).

Variabilidad fenotípica de aislamientos ambientales del hongo

entomopatógeno *Beauveria bassiana*. *Mikologiya i Fitopatologiya*, Vol 43, N° 6, 42-49.

- Lemus, Y. A., Rodríguez, G. M., Cuervo, R. A., Durán Vanegas, J. A., Zuluaga, C. L., & Rodríguez, G. (2008). Determinación de la factibilidad del hongo *Metarhizium anisopliae* para ser usado como control. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 91-98. <https://www.redalyc.org/pdf/1053/105312257007.pdf>
- López M, M. D., López G, A. L., & Luque Z, J. E. (1983). Reconocimiento y evaluación de entomopatógenos nativos de *Diatrea saccharalis* F. en la región panelera del río negro, Cundinamarca. *Revista Colombiana de Entomología*, 9(1-2-3-4), 5-8. <https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co/index.php/SOCOLEN/article/download/10291/12681>
- Lopez-Moral, A. (18 de Feb de 2022). Control of verticillium wilt of olive using nutrients, biostimulants and resistance inducers. *Tesis doctoral*. Universidad de Córdoba (UCO). <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/22776/2022000002432.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Luangsa-Ard, J., Houbaken, J., Van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters*, 321(2), 141-149. <https://academic.oup.com/femsle/article-pdf/321/2/141/19640745/321-2-141.pdf>
- Maldonado Guamán, J. A. (2022). Caracterización de hongos entomopatógenos con potencial para el control biológico de estrés biótico en plantas. *In Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología*. Ecuador: Universidad de las fuerzas armadas. ESPE ed. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/28904/1/T-ESPESD-003199.pdf>
- Mar, T., Suwannarach, N., & Lumyong, S. (2012). Isolation of entomopathogenic fungi from Northern Thailand and their production in cereal grains. *World journal of*

microbiology & biotechnology. *Mundo J Microbiol Biotechnol* N°28, 3281–3291.

<https://doi.org/10.1007/s11274-012-1139-6>

Mascarin, G. M., & Jaronski, S. T. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J Microbiol Biotechnol* 32, 177.

<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>

McKinnon, A. C., Glare, T. R., Ridgway, H. J., Mendoza-Mendoza, A., Holyoake, A., Godsoe, W. K., & Bufford, J. L. (2018). Detection of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the rhizosphere of wound-stressed *Zea mays* plants. *Frontiers in Microbiology* (9), 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01161>

Micaela, P., Antonio, F., Silvia, R., & de la Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856-860.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006001200006&lng=es&tlng=es

Ministerio de agricultura y desarrollo rural. (2019). *Cadena de Hortalizas - Nacional*.

Bogotá. Colombia: Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales.

<https://sioc.minagricultura.gov.co/Hortalizas/Documentos/2019-12-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>

Moraes Boldini, J., Prada Millán, Y., Padilla Osorio, J. C., Montenegro Gómez, S. P., Fonseca

Lara, M. R., Mosquera Mena, R. A., & Pulido Pulido, S. Y. (2019). Capítulo 11.

Control Biológico. En S. Montenegro Gómez, & J. Angel Osorio, *SERVICIOS ECOSISTÉMICOS: UN ENFOQUE INTRODUCTORIO CON EXPERIENCIAS DEL OCCIDENTE COLOMBIANO* (págs. 201-211). Bogotá. DC: Sello Editorial UNAD.

<https://doi.org/10.22490/9789586516358>

Moreno Espinoza, D. S. (2022). Control biológico *in vitro* de *Hypothenemus hampei* utilizando hongos entomopatógenos nativos. *Requisito para la obtención del título de*

Ingenieria en Biotecnologia. Universidad Internacional Sek.

<https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/4579/1/Moreno%20Espinoza%20Darling%20Salomee.pdf>

Mubeen, N., Khalid, A., & Ullah, M. (2012). Effect of *Metarhizium anisopliae* on the nutritional physiology of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pakistán J. Zool*, 44(3), 753-758.

<https://doi.org/doi.org/10.1186/s41938-022-00573-z>

Murillo Gomez, J. J., & Giraldo Sánchez, C. E. (2023). Preferencia de oviposición de *Leptophobia aripa* (Lepidoptera: Pieridae) sobre plantas de *Brassica oleracea* var. *Italica* en diferentes estados fenológicos. *Revis Bionatura Vol. 8*(3), 25.

<http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.25>

Narváez Benítez, A. B., Vásquez Amariles, H. D., Zapata Ospina, P. A., & Caicedo Vallejo, A. M. (2022). Evaluación de hongos entomopatógenos y antagonistas para el manejo de *Eurhizococcus colombianus* en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 113-124.

<https://doi.org/https://doi.org/10.22490/21456453.5398>

Nicholls Estrada, C. I. (2008). *Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico*. Medellín: Universidad de Antioquia.

[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=LPwcidQx3TkC&oi=fnd&pg=PR13&dq=Nicholls,+C.+I.+\(2008\).+Control+biol%C3%B3gico+de+insectos:+un+enfoque+agroecol%C3%B3gico.+Editorial+Universidad+de+Antioquia.&ots=n-hgmSU652&sig=hfau9qzwb4qWmfjJY68qJJtfAs#v=onepa](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=LPwcidQx3TkC&oi=fnd&pg=PR13&dq=Nicholls,+C.+I.+(2008).+Control+biol%C3%B3gico+de+insectos:+un+enfoque+agroecol%C3%B3gico.+Editorial+Universidad+de+Antioquia.&ots=n-hgmSU652&sig=hfau9qzwb4qWmfjJY68qJJtfAs#v=onepa)

Nicholls Estrada, C. I. (2008). *Control biológico: Un enfoque agroecológico*. Medellín: Universidad de Antioquia.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=LPwcidQx3TkC&oi=fnd&pg=PR13&d>

- q=Nicholls,+C.+I.+(2008).+Control+biol%C3%B3gico+de+insectos:+un+enfoque+a groecol%C3%B3gico.+Editorial+Universidad+de+Antioquia.&ots=n-hgmSU652&sig=hfau9qzwfb4qWmfjJY68qJJtfAs#v=onepa
- Olivares P, N., Mora V, A., & Guzmán L, A. (2017). Manejo de plagas en repollo, tomate y lechuga. *Boletín N°356*. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/31580>
- Orozco Almanza, M. S. (2018). Instrumentos de enseñanza-aprendizaje para el diseño de huertos urbanos ecológicos y el aprovechamiento de su fauna asociada. <http://132.248.161.133:8080/jspui/handle/123456789/7067>
- Ortega Amaro, M. A., Rodríguez, M., & Kessler, D. (2017). Manual de Prácticas del Laboratorio del curso de “BIOLOGÍA DE HONGOS”. Universidad Autónoma De San Luis Potosí. <http://www.fc.uaslp.mx/academicos/material-didactico/MANUALDELABORATORIOBIOLOGIADEHONGOS.pdf>
- Ortiz-Lemus, J. F. (s.f.). LABORATORIO N° 2 MEDIDA DEL CRECIMIENTO MICROBIANO, CÁMARAS DE RECuento MICROBIOLOGICO. *LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL*. Programa de Microbiología - Universidad de Pamplona.
- Padilla-Melo, G., Bernal-Urbe, M. G., Vélez-Arango, P. E., & Montoya-Restrepo, E. C. (2000). Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes órdenes insectiles. *Cenicafé 51(1)*, 28-40. <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/966/1/arc051%2801%2928-40.pdf>
- Panizo, M. M., Reviákina, V., Montes, W., & Gonzáles, G. (2005). Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1). http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562005000100007&script=sci_arttext

- Parmod, N., Vishvendra, & Sandeep, K. (2020). Study the bio-efficacy of some biopesticide formulation against cabbage butterfly *Pieris brassicae* Linn. in mustard. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(5), 2694-2697.
<https://www.phytojournal.com/archives/2020.v9.i5.12750/study-the-bio-efficacy-of-some-biopesticide-formulation-against-cabbage-butterfly-pieris-brassicae-linn-in-mustard>
- Parra Garcia, J. (2018). Diseño de un sistema de produccion sostenible de plantas hortícolas para consumo y bienestar humano en ambientes urbanos. *Trabajo de grado*. Universidad de Cundinamarca.
<http://innovacioneducativa.unam.mx:8080/jspui/handle/123456789/7067>
- Paul, Hanson. (1993). *Control Biologico de Insectos*. Turriaba, Costa Rica: CATIE.
<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=NtzQPP6ntXkC&oi=fnd&pg=PA1&dq=control+biol%C3%B3gico+de+insectos&ots=u4g888kzW5&sig=BMeh09fqxWE2T1Q4ZZjw2zs3yRA#v=onepage&q=control%20biol%C3%B3gico%20de%20insectos&f=false>
- Pérez Ruiz, F. T. (2022). Eficacia de tres insecticidas biológicos para el control del Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*, Kuwayama) en plantaciones de cítricos, en dos localidades del departamento de Masaya, Nicaragua. *Disertacion Doctoral*. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria.
<https://repositorio.una.edu.ni/4494/2/tnh10p438i.pdf>
- Pinzón Gutiérrez, Y. A., Bustamante, S. L., & Buitrago, G. (2009). Pinzón-Gutiérrez, Y. A., Bustamante, S. L., & Buitrago, G. (2009, Septiembre 18). Evaluación de métodos para la conservación de hongos fitopatógenos del ñame (*Dioscorea* sp). *Rev. Colomb. Biotecnol*, 11(2), 8-18. *Revista Colombiana de Biotecnología*. Vol 11 (2), 8-18.
<http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v11n2/v11>

- Pozo Álava, A. A. (2022). *Beauveria bassiana* para el control de *Cosmopolites sordidus* en el cultivo de banano (*Musa sapientum*) en la provincia de Los Ríos. *Trabajo de titulación*. Universidad Técnica de Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle>
- Quevedo, A., Magdama, F., Castro, J., & Vera Morales, M. (2022). Interacciones ecológicas de los hongos nematófagos y su potencial uso en cultivos tropicales. *Ciencia Agropecuaria*, 13(1), 97-108. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.009>
- Ramirez-Moreno, L. A., García Barrios, L. E., Rodriguez Hernandez, C., Morales, H. E., & Castro Ramirez, A. E. (2001). Evaluación del efecto insecticida de plantas de Los Altos de Chiapas sobre *Leptophobia aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 60*, 50-56. <https://doi.org/https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6282>
- Rodriguez Sierra, D. A. (1997). Los entomopatógeno en el manejo integrado de plagas. *Memorias del primer curso taller internacional. Programa Nacional del MIP*, 1(1), 25-39. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO2001001286>
- Rodriguez, L. A., & Arredondol, H. C. (2007). *Teoria y aplicacion del control biologico*. Mexico: Sociedad Mexicana de Control Biológico. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Material_Interes/Libro_CB_Aredondo-Rodriguez_2007_Control_Biologico.pdf
- S. Draganova, D. Takov, D. Pilarska, D. Doychev, P. Mirchev, & G. Georgiev. (2013). Fungal Pathogens on Some Lepidopteran Forest Pests in Bulgaria. *Acta zool. bulg*, 65(2), 179-186. https://www.academia.edu/download/52344175/Fungal_Pathogens_on_Some_Lepidopteran_Fo20170328-7830-py6l7k.pdf

- Saghrouni, F., Saidi, W., Said, Z. B., & Gheith, S. (2013). Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Purpureocillium lilacinum* in an immunocompetent patient: case report and review. *Medical Mycology Vol. 51.*, 664-668.
<https://www.researchgate.net/publication/234694480>
- Sánchez Reátegui, A. B. (15 de Sep de 2020). Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en insecto fitófago *Syphrea* sp. en *Plukenetia volubilis* L. bajo condiciones agroecológicas, provincia de Lamas. *Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo*. Perú: Universidad Nacional de San Martín Tarapoto.
- Sánchez, M. P., Rodríguez Susa, M. S., & Sarria, V. M. (2006). Pesticidas obsoletos en Colombia: Situación actual y alternativas de tratamiento y disposición. *Revista de ingeniería*, 23(1), 13-22. <http://www.scielo.org.co/pdf/ring/n23/n23a2.pdf>
- Santesteban, E. G., Fontela, R. Á., Vidal, R. F., Fernández, I. R., Barrios, J. H., Rodríguez, T. L., & Rodríguez, A. S. (2004). Metabolitos producidos por el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. *Biotecnología Aplicada*, 21(2), 92-95.
<https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnologiaaplicada/2004/vol21/no2/6.pdf>
- SIPSA & DANE. (Octubre de 2019). El cultivo de brócoli, (*Brassica oleracea* var. *Itálica* L.) y un estudio de caso de los costos de producción en el municipio de Mosquera (Cundinamarca). *Boletín mensual de insumos y factores asociados a la producción agropecuaria*. N°88, 1-8.
https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2019.pdf
- Soria Morales, B. A. (Agosto de 2023). Evaluación del efecto de la aplicación de un producto comercial (eficax) a base de microorganismos entomopatógenos como agente controlador biológico del díptero (*Delia platura*) en el cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). *Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del*

Título de Ingeniero Agronomo.

<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/10962/1/PC-003038.pdf>

Suárez Quiñones, Á. R. (10 de Feb de 2022). Evaluación de la exposición a mezclas de plaguicidas en población del municipio de Montelíbano (Córdoba) en Colombia 2021.

Tesis Doctoral. Universidad del Rosario. https://doi.org/10.48713/10336_33651

T M, B., C J, C., I M, D., & N A, R. (2016). Entomopathogenic Fungi: New Insights into Host-Pathogen Interactions. *Adv Genet*, 307-364.

<https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.006>

Téllez-Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A., & Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*. N°30., 73-80.

<https://doi.org/https://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v30/v30a7.pdf>

Toledo, A. V., Scorsetti, A. C., Dikgoltz, V. E., & Lopez Lastra, C. C. (2004). *Paecilomyces fumosoruseus* y *Nomuraea rileyi* (Deuteromycotina: Hyphamycetes), Hongos patógenos de insectos plaga de la agricultura de argentina. ., *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 39(1-2), 21-26. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/05/21-26.pdf>

Torres, L., & Cotes, A. M. (2005). Efecto de la crioconservacion sobre la viabilidad y actividad biocontroladora de *Nomuraea rileyi* contra *Spodoptera frugiperda* (lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 133-138.

<http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v31n2/v31n2a05.pdf>

Upadhyay , V., Rai, D., Rana, M., Mehra, P., & Pand. (2014). *Verticillium lecani* (Zimm.): A potential entomopathogenic fungus. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(4), 719-727. <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2014.01380.1>

- Valbuena, L. A. (2017). Manejo de la chinche de encaje con aspersiones del hongo *Purpureocillium lilacinum*. *Boletín El Palmicultor*, 546, 22-25.
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmicultor/article/download/12170/12098>
- Valdes-Duque, B. E., & Velez-Arango, P. E. (2000). Procedimiento para la evaluación enzimática cualitativa de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Cenicafé*, 51(2), 151-168. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/974>
- Valverde-Rodríguez, A., Miguel-Villanueva, N., Briceño-Yen, H., & Cornejo y Maldonado, A. (2021). Susceptibilidad de estadios larvales de *Leptophobia aripa* Boisduval (Lepidoptera: Pieridae) a los entomopatógenos. *Revista Ciencia UNEMI Vol. 14*, N° 36, 12-20. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol14iss36.2021pp12-20p>
- Vieira Tiago, P., Tinti de Oliveira, N., & de Luna Alves Lima, E. Á. (2014). Controle biológico de insetos utilizando *Metarhizium anisopliae*: aspectos morfológicos, moleculares e ecológicos. *Cienc. Rural* 44 (4), 645-651.
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000400012>
- Villacide, J., & Corley, J. (2012). Serie Técnica: Manejo Integrado de Plagas Forestales. En D. Fischbein, *Introducción a la teoría del control biológico de plagas*. Rio Negro, Argentina. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control_biolgico_de_plagas.pdf
- Vinchira V, D. M., & Moreno S, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Rev. colomb. biotecnol*, 21(1), 2-5.
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>
- Warren, A. D., Davis, K. J., Stangeland, M., Pelham, J. P., & Grishin, N. V. (25 de 01 de 2024). *Illustrated Lists of American Butterflies*. butterfliesofamerica.com:
<https://www.butterfliesofamerica.com/L/Pieridae.htm>

- Weinberg, J. (2009). *Guía para las ONG sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (Red Internacional de Eliminación de los Contaminantes Organicos Persistentes (IPEN) ed.)*. Mexico: Marco para las medidas de protección de la salud humana y el medio ambiente de los Contamiantantes Orgánicos Persistentes (COP).
https://ipen.org/sites/default/files/documents/ngo_guide_pops-es.pdf
- Xingjie, L., Zhang, J., Zong, Z., Ma, Q., & Wang, Y. (2017). Evaluation of the Biocontrol Potential of *Purpureocillium lilacinum* QLP12 against *Verticillium dahliae* in Eggplant. *BioMed Research International*, 8. <https://doi.org/10.1155/2017/4101357>
- Yepes Aristizábal, Y. T. (2021). Bioinsumos y control biológico para la agricultura sostenible en Colombia. *Informe de práctica para optar al título de Ingeniera Bioquímica*. El Carmen de Viboral, Colombia: Universidad de Antioquia.
https://bibliotecadigital.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/24554/5/YepesYudi_2021_BioinsumosControlBiologico.pdf
- Zaré, R., & Gams, W. (2001). A revision of *Verticillium* sect. Prostata. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen nova. *Banda Nova Hedwigia* 73, 1-50.
https://www.schweizerbart.de/papers/nova_hedwigia/detail/73/83990/A_revision_of_Verticillium_section_Prostrata_IV_The_genera_Lecanicillium_and_Simplicillium_gen_novdeg

GLOSARIO

Absorción	cultivos vegetales y animales" (Moliner, 2023)
"penetración de cualquier elemento líquido como en una esponja, embeber" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Aislamiento fúngico
Acrópeta	"Esta técnica permite obtener una cepa pura a partir de una muestra de hongo contaminada o mixta" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
"Se refiere a la posición apical de la conidia más joven" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Antimicrobiano
Actividad enzimática	"Sustancias que matan o inhiben el crecimiento de los microorganismos (antibacterianos, antifúngicos, etc.)" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
"La actividad de una enzima describe qué tan rápido ésta cataliza la reacción que convierte un sustrato en producto. Esta actividad depende en gran medida de las condiciones de la reacción, que incluyen temperatura, pH, concentración de la enzima y concentración del sustrato" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Apresorio
Agroecosistema	"estructura fungosa en el extremo del tubo germinativo que le sirve de anclaje o para absorber sustancias de su hospedante" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
"Es la unidad de estudio en diferentes niveles jerárquicos de los sistemas de producción primaria en los que se establece el manejo del hombre para su aprovechamiento mediante la adaptación, modificación e interacción con los recursos naturales para la producción de alimentos y servicios"(Glosbe, 2008)	Basípeta
Agroquímico	"se refiere a la posición basal de la conidia más joven, o cerca de la célula conidiógena" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
"sustancias químicas empleadas en la agricultura con el fin de mantener y conservar los	Biocontrolador
	Son microorganismos, que se obtienen del ambiente, el agua o animales, "para producir ciertos insumos usados en la agricultura y controlar enfermedades o plagas", (Ames <i>et al.</i> , 2004)
	Células conidiógenas

"se refiere a la posición basal de la conidia más jovcélulas que producen conidias" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Una sustancia que se encuentra en un medio al cual no pertenece o que lo hace a niveles que pueden causar efectos (adversos) para la salud o el medio ambiente
Cepa comercial	Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)
cepas suministradas por casas comerciales diferentes de las colecciones de cultivo o Centros de Recursos Biológicos, y que pueden o no proceder de una colección de cultivos.	Los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP), son sustancias químicas o mezclas, sintetizadas para realizar actividades como el control de insectos transmisores de enfermedades, mejorar la producción agrícola y hacer más eficientes algunos procesos industriales, aunque algunos de ellos son generados en forma no intencional, como subproductos de procesos de combustión.
Cepa nativa	Control biológico
Organismo conservado, se encuentran definidos como mínimo a nivel de género y especie. Además son propios de un determinado lugar geográfico	El control biológico es la acción benéfica de los parásitos, patógenos y depredadores en el control de las plagas y los daños que causan
Clamidospora	Crucíferas
"estructura de conservación o espora de resistencia" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Las crucíferas constituyen un grupo amplio de vegetales para el consumo alimentario en los que se incluye desde el brócoli, la coliflor o las coles de Bruselas, hasta la col crespa o "kale", el rábano, o la rúcula
Conidióforo	Cultivo agrícolas
"Hifa especializada, en cuyo extremo apical se insertan los conidios" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	Son plantas que se pueden cultivar y cosechar extensivamente con fines de lucro o de subsistencia. Los productos agrícolas pueden referirse a las partes cosechadas o a la cosecha en un estado más refinado
Conidios	
Los conidios son esporas asexuales que a menudo están pigmentadas y son resistentes a la desecación. Los conidios sirven para dispersar al hongo hacia nuevos hábitats. Cuando estos se forman el color blanco del micelio cambia y toma el color de los conidios que puede ser negro, verde azulado, rojo, amarillo o marrón	
Contaminante	

Cultivos permanentes

Son cultivos no incluidos en el régimen de rotación, distintos de las praderas permanentes, que ocupan las tierras durante largos periodos no necesitando ser trasplantados después de cada cosecha, 88

Cultivos Transitorios

Son aquellos cultivos cuyo ciclo vegetativo por lo regular es menor a un (1) año, llegando incluso a ser de sólo unos pocos meses

Densidad de Allen

La densidad de Allen se utiliza como un criterio para caracterizar compuestos y es una determinación física básica que se realiza en los controles de calidad en laboratorios farmacéuticos y empresas del área química

Enemigo natural

Organismo que se encuentran de forma espontánea en la Naturaleza, y son capaces de hacer disminuir los niveles de población de sus presas hasta valores más bajos de los que alcanzarían sin su presencia, ello constituye el control biológico natural

Entomopatígeno

"se refiere al microorganismo que es capaz de causar una enfermedad al insecto plaga, conduciéndolo a su muerte después de un corto período de incubación. Hoy en día se

conocen pocas especies de estos microorganismos, aunque muchos de ellos atacan a una gran variedad de insectos plaga que afectan a los cultivos. En la actualidad se ha incrementado potencialmente su aplicación en el campo agrícola como insecticida biológico, debido a que resultan ser una alternativa bastante rentable en los programas de manejo integrado de plagas" (Ames *et al.*, 2004)

Especie exótica

Se les llama especies exóticas a aquellas que no son nativas de un país o una región a la que llegaron de manera intencional o accidental, generalmente como resultado de actividades humanas

Esporangióforo

"hifa especial en cuyo extremo apical se forma un esporangio"

Esporodoquio

"masa de tejido fungoso que contiene conidióforos y conidias" (Ames *et al.*, 2004)

Fiálide

"Célula conidiógena que produce conidios blásticos de manera basípeta" (Ames *et al.*, 2004)

Fitopatógenos

Organismo, en general microorganismo, que genera enfermedades en las plantas a través

de disturbios en el metabolismo celular, al secretar enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y, además, absorbiendo nutrientes de la célula para su propio crecimiento	etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida
Hialino	Larva
"Transparente" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	"estado inicial en el ciclo de vida del insecto (estado inmaduro en la metamorfosis de un insecto). Las larvas nacen de los huevos y por lo general tienen el aspecto de un gusano" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
Himenio	
"región fértil del hongo" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	
Hortícola	
Técnica del cultivo de plantas que se desarrollan en huertos	Medio ambiente
Hospedante	El medio ambiente natural (también escrito medioambiente) o entorno natural es el conjunto de componentes físicos, químicos y biológicos externos con los que interactúan los seres vivos. Dicho entorno abarca la interacción de todas las especies vivas, el clima, y los recursos naturales que afectan la supervivencia humana y la actividad económica
Infestar	
Dicho de ciertos organismos patógenos Invadir un ser vivo y multiplicarse en él, como los parásitos en sus hospedadores	
Inoculación	Micelio
proceso mediante el cual un patógeno y un hospedante entran en contacto	"estructura vegetativa de los hongos, constituida por filamentos llamados hifas" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
Inóculo	Micosis
"cualquier porción del patógeno capaz de producir infección" (Ames <i>et al.</i> , 2004)	"Son infecciones causadas por hongos a animales o vegetales" (Ames <i>et al.</i> , 2004)
Insecticida	Microbiota
Un insecticida es un compuesto químico utilizado para matar insectos. El origen	

La microbiota es la gama de microorganismos que pueden ser comensales, simbióticos o patógenos que se encuentran en y sobre todos los organismos multicelulares, incluidas las plantas.,

Organismos soprófito

Es un organismo heterótrofo que obtiene su energía de materia orgánica muerta o de los detritos desechados por otros seres vivos, de los cuales extrae los compuestos orgánicos que requiere como nutrientes

Pesticida

Un pesticida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias cuyo objetivo es prevenir, destruir, repeler o controlar una plaga

Plaga

Aparición masiva y repentina de seres vivos de la misma especie que causan graves daños a poblaciones animales o vegetales

Polimorfismo

Es la presencia de dos o más formas variantes de una secuencia específica de ADN que puede producirse entre diferentes individuos o poblaciones.

Prácticas sostenibles

prácticas que permiten un crecimiento a nivel económico y social más responsable o respetuoso con el planeta, pues facilitan que

se pueda hacer un uso sostenido de los recursos y cubrir las necesidades actuales del ser humano sin que, por ello, las generaciones futuras se vean perjudicadas

Sustrato

material sólido distinto del suelo, natural o de síntesis, mineral u orgánico que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular, desempeñando por tanto un papel de soporte para la planta.

Toxicidad

"Es la capacidad de una sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo y el ambiente que lo rodea, al entrar en contacto con él" (Ames *et al.*, 2004)

Tratamiento

Se conoce como tratamiento a las condiciones experimentales que se desean comparar en el experimento. Es la forma en que se varían las variables independientes dentro de intervalos. El experimentador debe tener control sobre dichas variaciones.

Virulencia

La virulencia es una propiedad de los microorganismos patógenos que se refiere a su capacidad para infectar, causar

enfermedades y daño en un organismo

huésped,