

Memorias de Congreso



"...por un ambiente
y alimentos sanos"



Artículos



1^{er} Congreso Internacional de Control Biológico Aplicado

“... por un ambiente y alimentos más sanos”

MEMORIAS DEL EVENTO

4, 5 & 6 de octubre de 2018.

Quito – Ecuador

Distribución electrónica

Primera edición, 2018

Compilación y diseño:

Patricio Cuasapaz, Ing.

AGNLATAM S.A.

Editores:

Castillo, C., Montero, B. y Cuasapaz, P. (Eds.) 2018. Memorias del I Congreso Internacional de Control Biológico en Ecuador. 4-6 de octubre del 2018. Quito, Ecuador. 115pp.

Coordinadora:

Carmen Catillo C. Ph.D.

INIAP

Quito, octubre del 2018

ISBN: 978-9942-35-779-3



9 789942 357793

“Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales”

1^{er} Congreso Internacional de Control Biológico Aplicado

“...por un ambiente y alimentos más sanos”

COMITÉ ORGANIZADOR

Byron Montero (Koppert, Ecuador)
Patricio Cuasapaz (AGN LATAM S.A.)
Carmen Castillo C. (INIAP)

COMITÉ CIENTÍFICO

Carmen Castillo C., PhD, INIAP
(Coordinadora)
Ligia Ayala, PhD, ESPE
Julia Prado, PhD, UTN
Norma Erazo, PhD, ESPOCH
Jorge Mendoza, MSc, CINCAE
Carlos Ruales, MSc, USFQ
Jorge Caicedo, MSc, UCE

APOYO INSTITUCIONAL

Organización Internacional de Control
Biológico (IOBC)
Ministerios de Agricultura y Ganadería
(MAG)
Facultad de Ciencias Agrícolas,
Universidad Central del Ecuador (UCE)
Instituto Interamericano de Cooperación
para la Agricultura (IICA)
Agrocalidad
SENESCYT
Centro de Investigación de la Caña de
Azúcar del Ecuador (CINCAE)
AgReseach, Nueva Zelanda
HILSEA

AUSPICIANTES

Tecnoviv
Microtech-Bioraiz
Grupo empresarial VOS
Artal
Scarab
Negotium

PERSONAL ASISTENTE ORGANIZACIÓN Y APOYO LOGÍSTICO

INIAP y AGN LATAM S.A.

FOTOGRAFÍAS USADAS EN MATERIAL IMPRESO Y DIGITAL

Koppert Ecuador.

Tabla de contenido

Tabla de contenido.....	5	Liberación óptima de enemigos naturales para control de <i>Liriomyza huidobrensis</i> en <i>Gypsophila</i> sp.....	57
Introducción.....	7	Uso de sustratos para la cría y reproducción de <i>Coenosia attenuata</i>	60
Conferencias magistrales	8	Microbiológicos	64
Worldwide and Latin American use of biological control: factors stimulating and frustrating its use	9	Manejo de enfermedades fúngicas mediante el uso de microorganismos y cationes en cultivo de brócoli.....	65
Experiencias sobre control biológico en el cultivo de caña de azúcar en Ecuador.....	12	Biocontrol para sistemas de agricultura sustentable, Ecuador	68
Control biológico: Una síntesis global y un proyecto en Ecuador	16	Evaluación de la inducción de resistencia sistémica y capacidad antifúngica producidos por cepas ecuatorianas de <i>Trichoderma</i>	73
Claves para la aplicación del control biológico en cultivos hortícolas en el sureste Español.....	19	Biocontrol de la Bacteriosis en naranjilla utilizando Bacteriófagos	76
Augmentative biological control in Brazil: an overview	25	Utilización de controladores biológicos como método de control de plagas en Galápagos	80
Using insect-pathogenic fungi to manage insect pests, current and future directions	27	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de actinomicetos del Ecuador sobre <i>Phytophthora infestans</i>	83
Insect pathogens – a key component of biological control and sustainable agriculture	32	Evaluación del consorcio <i>Trichoderma spp.</i> - <i>Bacillus spp.</i> como biocontroladores de <i>Fusarium oxysporum</i> causante de la marchitez vascular en <i>Physalis peruviana</i> (uvilla) en Ecuador	87
Control biológico clásico de la Escama Algodonosa (<i>Icerya purchasi</i>) y otras especies invasoras: una herramienta para la restauración de ecosistemas en las Islas Galápagos.....	34	Control de calidad, evaluación de riesgos y bioseguridad	90
Ponencias orales.....	40	Control de calidad de formulaciones biológicas	91
Macrocontroladores.....	41	Control biológico para la conservación de la biodiversidad	93
Evaluación del controlador biológico <i>Coenosia attenuata</i> sobre <i>Liriomyza</i> spp. y <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	42	¿Afectan el manejo del cafetal y la heterogeneidad del paisaje la diversidad de biocontroladores y el control biológico de la broca?: caso de paisaje cafetero en el sur occidente Colombiano	94
Reproducción de <i>Coenosia attenuata</i> para liberación en campo como controlador biológico	45	Caracterización molecular de la diversidad fúngica de los bosques Lluçud y Palictahua: Potencialidades en control biológico.....	101
Determinación del hábito parasítico de <i>Diaeretiella rapae</i> sobre el áfido <i>Brevicoryne brassicae</i> en diferentes plantas hospederas	48		
Control de la araña roja (<i>Tetranychus urticae</i> Koch) con <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> en rosas.....	53		

Normativa, legislación e impacto socioeconómico	103	Prospección de insectos parasitoides de minadores de hoja en la sierra Ecuatoriana	110
Normativa para el ingreso de controladores biológicos	104	Evaluación de sobrevivencia de <i>Trichoderma harzianum</i> en el suelo en dos tipos de formulaciones sólidas	114
Pósters.....	106	Selección de hongos entomopatógenos efectivos para el manejo del Gusano Blanco (<i>Premnotrypes vorax</i> Hustache)	118
Determinación de la actividad antagonista de <i>Pleurotus ostreatus</i> sobre <i>Globodera pallida</i> en condiciones de laboratorio....	107		

Introducción

El control biológico, desde hace mucho tiempo ya, pasó de ser un método de control de plagas, enfermedades y malezas en la agricultura y otros con ventajas notables frente a los otros métodos de control, a ser una disciplina de estudio con numerosas y variadas líneas de investigación, al igual que resulta ser una industria creciente de gran interés en el mercado. El Ecuador, en general, se encuentra en el proceso de aprendizaje tanto por parte de quienes se encuentran a cargo de la divulgación tecnológica y la extensión agrícola como por parte de los productores y empresas agrícolas sobre la aplicación del control biológico. Este proceso de aprendizaje inicia por conocer la realidad del país en cuanto al control biológico, conocer los principales actores y determinar el estado actual de la investigación local. El 1er Congreso Internacional de Control Biológico Aplicado en Ecuador contó con el apoyo de la Organización Internacional de Control Biológico (IOBC, siglas de su nombre en inglés, <http://www.iobc-global.org/>) y la participación activa de su actual presidente, el Dr. George Heimpel, el Ministerio de Agricultura y Ganadería y Agrocalidad (entes rectores de la producción agrícola en el país y su calidad), la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, el Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador y AgResearch (organizaciones cuyo ámbito de acción es la investigación y la extensión agrícola) y la empresa HILSEA (cuyo objeto principal es la floricultura, rubro en el cual se evidencia un fuerte uso del control biológico). Los objetivos principales del congreso se perfilaron hacia conocer y difundir los avances en investigación y aplicación del control biológico en Ecuador, alcanzados por los centros de investigación, universidades, empresas agrícolas y otros relacionados con el tema. Además, para conocer las experiencias de otros países en los cuales el control biológico ha sido empleado y generar espacios de discusión sobre mantener una red activa de actores alrededor del control biológico en el Ecuador sobre investigación, aplicación, producción, registros, control de calidad, legislación, políticas y otros temas de relevancia. Finalmente, para potencializar recursos, conocimientos y esfuerzos interinstitucionales y entre los diferentes actores que permitan la coordinación de actividades de I+D+i a nivel nacional e internacional relacionados con la aplicabilidad del control biológico. Gracias al involucramiento de estas organizaciones el evento contó con la contribución de importantes investigadores y personalidades del control biológico de reconocimiento nacional e internacional, así como la participación de 31 estudiantes y jóvenes investigadores becados por la IOBC. De esta manera, tanto las conferencias como las memorias generadas, aportan a la búsqueda de una agricultura más responsable con el medio ambiente que genere alimentos saludables para el consumidor, todo esto como pasos imprescindibles para la evolución de nuestra agricultura.

...por un ambiente y alimentos más sanos

Atentamente

La organización

INIAP – AGNLATAM – KOPPERT (Ecuador)



Conferencias Magistrales

Worldwide and Latin American use of biological control: factors stimulating and frustrating its use

Joop C. van Lenteren

Laboratory of Entomology, Wageningen University, P.O. Box 16, 6700 AA,
Wageningen, The Netherlands. Email: joop.vanlenteren@wur.nl

First I will summarize the use of different types of biocontrol and its use worldwide to show the enormous areas on which this environmentally and sustainable form of pest control is applied. Natural biocontrol, an ecosystem service provided without any human input, occurs on 89.5 billion ha of the world's ecosystems, i.e. land with vegetation), of which 44.4 billion ha is used for some form of agricultural activity, including forestry and grassland). Natural and inoculative (= addressed as importation biocontrol by the next speaker, G. Heimpel) biocontrol contribute to managing indigenous and alien pest problems in natural and managed ecosystems, and also in controlling vectors of human and veterinary diseases. Inoculative biological control is estimated to be applied on 350 million ha, i.e. 10% of land under cultivation. Commercial augmentative biological control, where biocontrol agents are periodically introduced in (seasonal) crops, is used on a very limited scale, i.e. on only 30 million ha, which is 0.7% of cultivated land with crops on which this type of control could be used.

Secondly, I will discuss the situation with regard to biocontrol in Latin America in more detail. Use of different types biocontrol is varying enormously between countries. For example, Argentina has large areas under inoculative biological control, Brazil mainly uses augmentative biocontrol and Cuba is applying conservation biocontrol on a large scale. Based on recently collected data, it seems that Latin America is currently the champion in use of biocontrol worldwide, both with regard to the area under application and the number of natural enemy species used.

Thirdly, I will give an overview of developments in augmentative biocontrol, including the number of biocontrol agents now available for control of invertebrate pests based on data presented in van Lenteren 2012 and van Lenteren et al., 2018. In commercial augmentative biocontrol, natural enemies are mass-reared in biofactories for release in large numbers to obtain an immediate control of pests. The history of natural enemy mass production of natural enemies spans a period of about 120 years. It has been a successful, environmentally and economically sound alternative for chemical pest control in crops like fruit orchards, maize, cotton, sugar cane, soybean, vineyards and greenhouses. Augmentative biocontrol has moved from a cottage industry to large scale professional production. Many efficient species of natural enemies have been discovered and 350 species are commercially available today. The industry developed quality control guidelines, mass production, shipment and release methods as well as adequate guidance for farmers.

Finally, after having presented data on practical application of biocontrol, I will discuss factors which might stimulate future use of this pest, disease and weed management method (van Lenteren 2012 and van Lenteren et al., 2018).

Factors stimulating application of biocontrol. International developments related to the environmental and animal health (including humans), and demands of retailers and consumers resulted in a strongly increased growth of non-chemical control methods. Biocontrol is responding to this demand by offering a large number of natural enemies and microbial control options. Worldwide, the biocontrol market has been growing at an

average rate of 15%, whereas growth of the chemical pesticide industry has been below 5% and even came to a standstill in several important world areas. Commercial biocontrol is, however, still a relatively small, though fast growing, player in the field of pest management. Biocontrol is currently quickly taken up by progressive, modern farmers who realize the inherent positive advantages of this pest management method (van Lenteren et al., 2018): compared with synthetic chemical pesticides, (1) biocontrol agents are not detrimental to the health of farm workers/persons living in farming communities; (2) they do not have a crop re-entry period as do chemical pesticides; (3) they are more sustainable, also because there has been no development of resistance against arthropod agents; (4) they do not cause phytotoxic damage to plants, with the result that most farmers report better yields and healthier crops when switching to biocontrol-based pest management. Additionally, and increasingly, produce in Europe and North America can only be sold when residue levels are well below the legal MRLs because of retailer's demands. Low residue levels give farmers a preferred partnership with retailers who prefer to buy products with the lowest possible amount of residues. Also, consumers will keep expressing their concerns about food safety and environmental impact issues in relation to synthetic pesticide use, although they often have no direct way to influence crop protection policies. Next, removal of pesticides from the market due to observed health, non-target and environmental effects (e.g., the recent development concerning neonicotinoids), the development of resistance that makes pesticides ineffective, and the appearance of new invasive pests for which no pesticides are available (e.g., the *Tuta absoluta* invasion in Europe) all stimulate use of biocontrol.

Factors frustrating biocontrol. A number of factors might frustrate future use of biocontrol. The first factor is that the pesticide industry is not interested in biocontrol, because natural enemies cannot be patented, cannot be stored for long periods, act very specifically, can often not be combined with chemical control and need extra training of sales personnel and farmers. Chemical industry's concern is not sustainability, but to develop, market and make profit of use of insecticides. This will be a continuous threat to biological control. Latin American countries often mention another frustrating factor related to the chemical industry: their overwhelming lobbying power at many levels of decision making, varying from trying to influence decision makers at ministries of agriculture, to extensionists and farmers. Based on the large amounts of money available for these activities at pesticide companies and the limited sums that can be spent by the relatively small biocontrol industry, it is often an unequal battle that is performed. The second factor is the misconception of farmers that a crop cannot be grown without use of pesticides, but usually this mistaken belief will disappear after having experienced good results with the application of biocontrol. The third factor relates to a global lack of national or international policies to impose the use of sustainable solutions for pest control. Farmers are, understandably, of the opinion that registered pesticides are safe for the environment and for man, so there is no incentive for them to change. The industry is not interested in complicated IPM systems with low profit margins. Therefore, it seems that only governments can influence change by enforcing use of non-chemical pest control methods. And also here we experience some positive developments, like in the EU where use of IPM (including biocontrol when available) is since 2014 compulsory to be implemented in its member countries. A fourth and final frustrating factor is the amount of regulations related to production and use of biocontrol agents, particularly of exotic natural enemies. Pests have been accidentally "exported" for many years, but it now happens at an ever increasing rate. Until recent, potential biocontrol agents could be collected in the country of origin of the pest, evaluated, mass produced and released when an effective agent was found. But today, under the Convention on Biological Diversity

formulated in the Nagoya Protocol, countries have sovereign rights over their genetic resources and agreements governing the access to these resources and the sharing of benefits arising from their use need to be established between involved parties [i.e., Access and Benefit Sharing (ABS) (Cock et al. 2010; van Lenteren 2019)]. This means that currently, permission to sample potential biological control agents can only be granted by the country that has the rights over the genetic resource. Collection of new natural enemies has become increasingly difficult or impossible in countries which have first accidentally exported the pest, a situation which seems very unreasonable.

REFERENCES

- Cock, M.J.W., J. C. van Lenteren, J. Brodeur, B.I.P. Barratt, F. Bigler, K. Bolckmans, F.L. Cônsoli, F. Haas, P.G. Mason, J.R.P. Parra, 2010. Do new Access and Benefit Sharing procedures under the Convention on Biological Diversity threaten the future of Biological Control? *BioControl* 55: 199-218. DOI: 10.1007/s10526-009-9234-9
- van Lenteren, J.C. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57: 1-20. DOI: 10.1007/s10526-011-9395-1. Free download at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-011-9395-1>
- van Lenteren, J.C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W, Urbaneja, A. 2018. Biological Control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39-59. DOI: 10.1007/s10526-017-9801-4. Free download at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-017-9801-4>
- van Lenteren, J.C. 2019. Will the “Nagoya Protocol on Access and Benefit Sharing” put an end to biological control? *Area-wide Integrated Pest Management: Development and Field Application*. Editors: J. Hendrichs, R. Pereira, and M. J. B. Vreysen. In press.

Experiencias sobre control biológico en el cultivo de caña de azúcar en Ecuador

Jorge R. Mendoza

Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. Email:
jmendoza@cincae.org

La caña de azúcar es un cultivo que está distribuido en diversas zonas ecológicas del Ecuador, variando desde lugares muy secos y cercanos al mar, como la zona de Playas (Guayas), hasta lugares muy húmedos como la Amazonía; y, con altitudes mayores a los 1000 msnm (Ibarra). Esta diversidad de ambientes ofrece condiciones favorables para el desarrollo de una amplia variedad de insectos, cuya importancia y distribución está muy influenciada por las condiciones ecológicas de cada lugar. La cuenca baja del río Guayas, caracterizada por una época lluviosa muy intensa entre enero a mayo y una época seca el resto del año, ofrece condiciones favorables para el desarrollo de varias especies de insectos que se consideran perjudiciales para el cultivo de la caña de azúcar. Hasta ahora se ha logrado identificar 39 especies de insectos, de las cuales solo unas pocas son consideradas como plagas claves o principales, tales como: el saltahojas, *Perkinsiella saccharicida*, el áfido amarillo, *Sipha flava*, y el barrenador del tallo, *Diatraea saccharalis*.

Adicionalmente existen otras especies que son consideradas como plagas secundarias, cuya incidencia y distribución es muy irregular, y en algunas ocasiones pueden causar daños económicos en el cultivo. Dentro de este grupo tenemos el salivazo, *Mahanarva andigena* y *M. trifissa*; el piojo algodonoso, *Orthezia praelonga*; el picudo rayado, *Metamasius hemipterus*; y, el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*. El resto de las especies conocidas - que son la mayoría - son consideradas como plagas potenciales, cuyos niveles de daño o de población son tan bajos que muchas veces pasan desapercibidas; tales como: el áfido blanco, *Melanaphis sacchari*; el chinche de encaje, *Leptodictya tabida*; y, la escama blanca, *Duplachionaspis divergens*, entre otras. La dinámica en la que se desenvuelven las poblaciones de estos insectos en estos agroecosistemas pone en evidencia la fragilidad del equilibrio biológico de estas plagas y el riesgo permanente de convertirse en problemas importantes en la caña de azúcar.

El propósito de esta presentación es dar a conocer los resultados del trabajo realizado en los ingenios azucareros y en el Centro de Investigación de la Caña de azúcar del Ecuador (CINCAE) sobre el manejo de las principales plagas de este cultivo en la cuenca baja del Guayas - principal zona azucarera del Ecuador. Los componentes principales del manejo integrado de estas plagas han sido el control biológico natural y aplicado, las labores culturales y la resistencia o tolerancia de las variedades de caña de azúcar. En última instancia se recurre al uso de los insecticidas de una manera racional y responsable.

Saltahojas, *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy

Esta es una especie invasora, originaria del archipiélago Malayo o Australia, cuyo primer reporte en nuestro país y en América ocurrió en 1966. Es un insecto del orden Hemiptera, familia Delphacidae. Los adultos son pequeños saltahojas de unos 5 mm de largo, de color marrón claro. Las ninfas y los adultos succionan la savia y causan heridas al incrustar los huevos en la nervadura central de la hoja, permitiendo la entrada de microorganismos (*Colletotrichum falcatum*, *Physalospora tucumanensis*) que causan la pudrición roja. Además, las ninfas y los adultos producen una secreción azucarada que favorece el desarrollo del hongo *Capnodium* sp., causante de la “fumagina”, lo que le da una apariencia negruzca al follaje y reduce la fotosíntesis. Cuando el ataque es intenso y

persistente las hojas se tornan amarillas, se secan, el crecimiento de la planta es más lento y los entrenudos se acortan. Todo esto puede causar pérdidas de hasta 36% de la producción. Este insecto es también vector del virus que produce la enfermedad conocida como “Enfermedad de Fiji”, el cual no ha sido reportado en el continente americano.

Hasta ahora se ha logrado determinar un complejo numeroso de organismos benéficos que constituyen el factor regulatorio más importante de las poblaciones del saltahoja. Como depredadores se destacan las arañas de las familias Salticidae y Tetragnathidae, los chinches *Zelus pedestris* (Hemiptera, Reduviidae), *Tytthus parviceps* (Hemiptera, Miridae) y los crisópidos *Ceraeochrysa* spp y *Leucochrysa* spp. (Neuroptera, Chrysopidae). Dentro de los hongos entomopatógenos los más predominantes son *Metarhizium anisopliae*, *Hirsutella tompsoni*, *Entomophthora virulenta* y *Fusarium* sp. La acción conjunta de estos entomopatógenos, especialmente *M. anisopliae*, llegan a causar verdaderas epizootias durante la época lluviosa. Como parasitoides, los más importantes son *Aprostocetus* (= *Ootetrastichus*) sp. (Hymenoptera, Eulophidae) que parasita y depreda huevos del saltahoja y, *Pseudogonatopus* sp. (Hymenoptera, Dryinidae) que parasita las ninfas. El nivel de parasitismo y depredación causado por *Aprostocetus* llega a ser superior al 50%. Además, se presenta un alto porcentaje de huevos podridos o infértiles cuyas causas no han sido identificadas.

En 1978 y 1998, el ingenio San Carlos introdujo desde Hawái *Tytthus mundulus* (Hemiptera, Miridae), un chinche depredador de huevos del saltahoja, como un intento de control biológico clásico de esta plaga. En total se liberaron alrededor de un millón de especímenes de este insecto y luego de varios años de observaciones en campo se determinó que no logró adaptarse y establecerse en nuestro medio. Otros estudios sobre control biológico se refieren al uso de *Metarhizium anisopliae*. Al respecto, se efectuaron varias pruebas, en laboratorio y campo, con cepas nativas y cepas provenientes de Colombia, Brasil y Costa Rica. Los resultados en laboratorios fueron muy favorables; sin embargo, en el campo los resultados no fueron satisfactorios, especialmente durante la época seca.

Áfido amarillo, *Sipha flava* Forbes

Esta especie es originaria de Norte América y su presencia en Ecuador data desde 1968. Las ninfas y los adultos son de color amarillo, alcanzan a medir de 1.5 a 2.0 mm de largo, se localizan en el envés de las hojas formando colonias, succionan la savia e inyectan sustancias tóxicas que provocan alteraciones fisiológicas en la planta. La ocurrencia de esta plaga está relacionada con la época seca y con la disminución de los enemigos naturales. Las hojas infestadas se tornan amarillas o rojizas y se secan. Cuando el ataque es intenso y persistente pueden ocurrir pérdidas de hasta 17% en la producción de caña. Esta plaga tiene varios hospederos, siendo los más importantes la caña de azúcar, sorgo, arroz, maíz y varias especies de pastos y malezas gramíneas.

Los enemigos naturales más importantes son varias especies de coccinélidos (*Scymnus*, *Diomus*, *Cycloneda*, *Hipodamia*, *Olla*, *Harmonia*), sírfidos (*Baccha*, *Allograpta*, *Mesograpta*, *Mesogramma*), crisopas (*Ceraeochrysa*, *Leucochrysa*) y arañas. De algunas de estas especies se conoce la biología y la capacidad depredadora sobre el áfido amarillo. La producción y liberación de crisopas o leones de pulgones ha sido una técnica recomendada para el manejo del áfido amarillo en varios países sin embargo, en las condiciones de la costa ecuatoriana esta técnica no dio los resultados esperados. La conservación de hospederos y especies de áfidos alternativos inocuos para la caña ha sido una práctica que ha favorecido el des

arrollo de estos depredadores y sus relaciones tróficas lo que ha permitido un mejor nivel de control de esta plaga. La inmigración de enemigos naturales desde éstos nichos ecológicos hacia los campos de caña infestados por áfido amarillo puede compensar la desventaja que tienen estos enemigos naturales en la reproducción con relación al áfido amarillo y lograr su control.

La recolección de coccinélidos (tortuguitas) en reservorios naturales formados por cultivos abandonados de tabaco (*Nicotiana tabacum*) o malezas como la altamisa (*Ambrosia* sp.), hospederas de otras especies de áfidos, y su posterior liberación en los campos de caña de azúcar es una técnica de manipulación de estos enemigos naturales que ha dado buenos resultados en la colonización de canteros que están siendo infestados por áfido amarillo.

Barrenador del tallo, *Diatraea saccharalis* Fabric.

Las especies del género *Diatraea* son originarias del continente americano. El adulto es una mariposa pequeña (20 a 25 mm de expansión alar), de color amarillo pajizo. Las larvas se alimentan inicialmente de las hojas más tiernas o de la cara interna de las vainas foliares. Después de las primeras mudas penetran por las partes más suaves del tallo (arriba del nudo) haciendo galerías en su interior, hasta completar su desarrollo y transformarse en pupa o crisálida. Las larvas cuando atacan los brotes jóvenes causan la muerte de la yema apical, cuyo síntoma se conoce como “corazón muerto”. En caña adulta, a más del daño anteriormente mencionado, ocurren pérdidas de peso y azúcar, brotación lateral, enraizamiento aéreo, cañas quebradas y entrenudos atrofiados. A más de la caña de azúcar, *Diatraea* ataca otros cultivos, como: maíz, arroz y sorgo, y varias malezas gramíneas.

El método de control más efectivo contra *Diatraea* es el control biológico. En nuestro medio existen varios enemigos naturales, siendo los más importantes los parasitoides de huevos (*Trichogramma* spp y *Telenomus* spp.); los parasitoides larvales (*Billaea claripalpis*, *Ipobracon* sp. y *Cotesia flavipes*); y, los hongos entomopatógenos *Nomuraea rileyi* y *Metarhizium anisopliae*.

Para complementar este control natural, los ingenios azucareros en Ecuador poseen laboratorios de producción de *Billaea claripalpis* y *Cotesia flavipes*, que se liberan a razón de 12 a 24 parejas de moscas/ha; o, 2 a 4 avispitas por cada larva de *Diatraea* que se estime por hectárea. Algunos depredadores, como crisopas, coccinélidos y hormigas ejercen también un buen control de esta plaga, principalmente en la fase de huevos y durante los primeros estadios larvales.

Los resultados del trabajo de investigación para el manejo de plagas en caña de azúcar han demostrado que el control biológico, las labores agronómicas y el nivel de tolerancia de las variedades son los métodos más efectivos, económicos y duraderos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FLORES, R. 2003. Biología y dinámica poblacional de *Perkinsiella saccharicida* (Homoptera: Delphacidae), en caña de azúcar. Tesis Ing. Agr., Milagro, Ecuador, Universidad Agraria del Ecuador. 90 p.
- JUNCO, J. 2006. Estudio bioecológico del áfido amarillo, *Sipha flava* Forbes (Homoptera: Aphididae), en caña de azúcar. Tesis Ing. Agr., Guayaquil, Ecuador, Universidad de Guayaquil. 82 p.

- LEÓN, T. 2008. Biología y capacidad parasítica de *Aprostocetus* sp. sobre los huevos de *Perkinsiella saccharicida* en caña de azúcar. Tesis Ing. Agr., Guayaquil, Ecuador, Universidad de Guayaquil. 49 p.
- GÓMEZ, L. A.; RAMÍREZ, D.; LASTRA, L. A. 2003. Las crisopas: Una alternativa potencial para el control biológico del pulgón amarillo de la caña de azúcar. En. Memorias VI Congreso TECNICAÑA. 24-26 Septiembre de 2003. pp 166-173.
- MENDOZA J.; GUALLE D.; GÓMEZ P. 2013. Guía para el reconocimiento y manejo de insectos plagas y roedores de la caña d azúcar, en el Ecuador. 3^{era}. Ed. El Triunfo, Ecuador. CINCAE. 33 p.
- VARGAS, G. A.; GÓMEZ, L. A. 2006. Regulación de las poblaciones del pulgón amarillo de la caña de azúcar, *Sipha flava*, mediante la utilización de crisopas. Cali, Colombia, CENICAÑA, 11 p.; CD-ROM (Documento de Trabajo N°572).
- SALAZAR, J. D. 2012. Áfidos en el Cultivo de la Caña de Azúcar. LAICA, Costa Roca. 15 p.

Control biológico: Una síntesis global y un proyecto en Ecuador

George E. Heimpel

Universidad de Minnesota, Estados Unidos

The importation of biological control agents can be an effective way to manage invasive species, whether they are agricultural pests or whether they threaten natural ecosystems. In this presentation I will provide a global synthesis of this activity to provide some insights into the trends of effectiveness and safety of biological control programs over the last 100+ years. I will also provide a brief overview of the International Organization for Biological Control (IOBC) which is the premier organization supporting biological control on a global basis. To finish the presentation I will discuss a project that I have been involved in for the last 6 years – the potential to achieve biological control of an invasive bird-parasitic fly in the Galápagos Islands.

A global synthesis of biological control importations

The following information comes from a set of analyses addressing the changes in the patterns and outcomes of biological control introductions from the 1880's to the current time (Heimpel & Cock 2018). The purpose of this study was not to calculate the success rates of such introductions (these are reported elsewhere) but to investigate the trends that have occurred in the target organisms and the ecological safety of the discipline over this time period.

The earliest targets for biological control introductions were insects that were invasive agricultural pests and this practice continues to this day. Between the 1880's and now, 214 species of insect pests have been controlled using biological control introductions. Economic weeds began to be targeted by biological control introductions beginning in the 1920s and until now, 44 species of these kinds of invasive weeds have been controlled using biological control. Later, biological control began to be used to control invasive species that were of conservation concern, and to date 13 invasive weed and 5 invasive insect species that threatened natural ecosystems have been controlled using biological control importations. Thus, the history of biological control importations has included a shift toward targeting invasive species of environmental rather than solely economic pests and weeds.

It is important to recognize that biological control introductions can cause ecological harm if proper risk assessment protocols are not followed. This was the case in the early days of biological control when harm to non-target organisms was not taken into account. Some well-known cases of ecological harm fall into this category, including the release of mongooses into Hawaiian and Caribbean Islands to control rats, cane toads into Australia to control insect pests, and polyphagous weevils into the United States to control thistles. However, the emergence of rigorous risk assessment protocols have ensured that only specialized agents are released in 'modern' times and there has been no known case of serious non-target feeding by a biological control agent since the 1960s. Another risk of biological control is unintended ecological effects and these are harder to predict and have occurred in three cases of weed biological control. In all of these cases the problems stem from enrichment effects linked to agents that establish at a high level but do not control their target weed. Risk assessment models can take these kinds of effects into account as well. To finish this section, I would like to stress that unintended negative side effects of biological control introductions have been very rare, occurring in far less than 1% of cases.

The International Organization of Biological Control

As you can see from this summary of biological control, the importation of biological control agents is a very international endeavor. And so – it is sometimes necessary to take a global approach in thinking about, and supporting biological control activities. For the last 70 years this has been the role of the International Organization of Biological Control.

The mission of the IOBC is to:

- promote the development of biological control solutions to pest and invasive species problems
- disseminate information about biological control
- arrange biological control conferences
- be an advocate for biological control with respect to international regulations

IOBC is composed of 6 sections:

- Asia and the Pacific Regional Section
- Afrotropical Regional Section
- East Palearctic Regional Section
- Nearctic Regional Section
- Neotropical Regional Section
- West Palearctic Regional Section

The Neotropical Regional Section (NTRS) was established in 1989 and has the following executive committee:

- Dra. Yelitza Colmanarez; President; Brazil-Venezuela
- Dr. Bruno Zachrisson; Vice President 1; Panamá
- Ximena Cibils Stewart; Vide President 2; Uruguay
- Dra. Maria Gabriela Luna, Gen. Sec.; Argentina
- Dr. Marcus Vinicius Sampaio; Treasurer; Brazil
- Maria del Rosario Manzano; Past Pres.; Colombia
- Dra. Vanda Bueno; Adviser 1; Brazil
- Dr. Guillermo Cabrera; Adviser 2; Argentina

The NTRS produces a great newsletter about biological control advances in the region and also organizes conferences and workshops.

Biological control of the Avian Nest Parasite *Philornis downsi* in Galapagos

Philornis downsi a bird-parasitic fly that is native to mainland South America and has invaded the Galapagos Islands, likely within the last 100 years. Female flies lay eggs in bird nests and the resulting fly larvae feed on the blood of nestlings, killing them if the number of larvae per nestling is high enough. Our research indicates that *Philornis downsi* causes little mortality of birds in mainland South America, mainly because of relatively low incidence of larvae in nests. In Galapagos, however, parasitism rates are much higher, leading to massive levels of nestling mortality, including for many species of Darwin's finches. This situation is a conservation crisis with the Galapagos National Park Directorate and the Charles Darwin Foundation seeking management options to protect populations of finches from likely extinction during this century.

My colleagues and I have been involved in research aimed at finding a specialized biological control agent that could be used against *P. downsi* in Galapagos. To this end, we monitored field sites in Western Ecuador that have a climate similar to Galapagos and that harbor *P. downsi* for the last five years. This work has revealed five parasitoid species to date, including two that are relatively abundant and show strong signs of specialization on *Philornis* pupae. One of these is the chalcidid wasp *Conura annulifera*, and the other is a member of the diapriid genus *Trichopria*. Both of these parasitoids showed specialization in laboratory trials and an experimental field study and they are now considered promising biological control agents for *P. downsi* in Galapagos; the laboratory results for *C. annulifera* have been published by Bulgarella et al. (2017). Next steps in this research will involve further host-specificity studies within quarantine conditions at the Charles Darwin Research Station in Galapagos involving species of conservation interest there.

REFERENCES

- Bulgarella, M., M. A. Quiroga, R. A. Boulton, I. E. Ramirez, R. D. Moon, C. E. Causton, and G. E. Heimpel. 2017. Life cycle and host specificity of the parasitoid *Conura annulifera* (Hymenoptera: Chalcididae), a potential biological control agents of *Philornis downsi* (Diptera: Muscidae) in the Galapagos Islands. *Annals of the Entomological Society of America* 110:317-328.
- Heimpel, G. E. and M. J. W. Cock. 2018. Shifting paradigms in the history of classical biological control. *BioControl* 63:27-37.

Claves para la aplicación del control biológico en cultivos hortícolas en el sureste Español

Francisco J. Calvo

Departamento Investigación y Desarrollo, Koppert España. C/ Cobre 22, 04745 La Mojonera, Almería, España.

España, con una superficie estimada de unas 49000 ha, es el país con la mayor superficie invernada en la zona del Mediterráneo. La mayor parte de esta superficie se destinan a la producción de cultivos hortícolas (FAO, 2009) y se concentra en el sureste del país, en las provincias de Almería y Murcia. Entre ambas, comercializan más de 5 millones de toneladas de hortalizas al año, lo que supone cerca del 40% total nacional. (Hortoinfo, <http://www.hortoinfo.es/index.php/noticia/5272-fito-habas-220715>). Los principales cultivos son el tomate, pimiento, berenjena y diversas cucurbitáceas.

A inicios de los años 2000, las principales plagas que afectaban a los cultivos hortícolas en el sureste de España eran el trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) y la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). Ambas plagas causan importantes daños directos e indirectos, pero son más importantes por su rol como vectores de diversas virosis como el Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) en pimiento y tomate por parte del trips y el Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) en tomate por parte de la mosca blanca. Para su control, los agricultores empleaban fundamentalmente agentes de control químico, para los cuales estas plagas pronto empezaron a generar resistencias (e.g. Espinosa et al., 2002; Fernández et al., 2009). Esto condujo a un círculo vicioso en el que los agricultores incrementaban la frecuencia de las aplicaciones y la dosis de los plaguicidas, en busca de incrementar la eficacia, pero que en realidad agravaba el problema de la generación de resistencias y generaba un problema medioambiental y de seguridad alimenticia.

El control biológico aumentativo, que consiste en la liberación de enemigos naturales producidos en masa para el control de plagas y enfermedades, se ha demostrado como una alternativa eficaz y limpia al uso de los agentes de control químicos de síntesis (van Lenteren y Bueno, 2003), especialmente en los cultivos hortícolas protegidos. En este sentido, la industria productora y comercializadora de enemigos naturales ha realizado en las últimas décadas importantes avances, identificando y desarrollando los métodos de producción que han permitido poner a disposición de los agricultores más de 230 especies de enemigos naturales en todo el mundo (van Lenteren, 2012). Este amplio abanico, ha posibilitado a los agricultores dar solución a multitud de plagas de gran importancia económica. Sin embargo, en el caso del sureste español, pese a que las empresas comercializadoras de agentes de control biológico habían logrado tener éxito en el control de *F. occidentalis* mediante la combinación de *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera: Anthracoridae) y el ácaro depredador *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) (Sánchez et al., 1997), el control de *B. tabaci* era aún insuficiente. La causa principal era que la estrategia de control de esta plaga eran adaptaciones de otras utilizadas en países con climatología y sistemas productivos diferentes, como los del norte de Europa, donde sin embargo, venían aplicándose con éxito durante años. Con el objetivo de adaptar estos programas a las condiciones locales, estudios realizados mostraron que enemigos naturales como el parasitoide de *B. tabaci*, *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae), podrían mejorar la eficacia (Stansly et al., 2004, 2005). Sin embargo, mientras la eficacia en ciclos de cultivo invernales era buena, en

ciclos estivales no era suficiente, por lo que los agricultores debían seguir recurriendo con frecuencia a aplicaciones de productos químicos.

El control de *B. tabaci* era un desafío desde inicios de los años 90 cuando esta mosca blanca se había extendido ya por casi todo el mundo y venía provocando problemas graves derivados de sus daños directos y en especial por su capacidad para la transmisión de diversas virosis (Brown et al., 1995; Gerling y Mayer, 1996; De Barro et al., 2011) y por la generación de resistencias a multitud de plaguicidas según se señaló anteriormente. Así pues, se pusieron en marcha diversos proyectos encaminados a la búsqueda de alternativas de control eficaces. Entre ellas, estudios de catalogación y búsqueda realizados en oriente medio, seguidos de estudios de laboratorio, demostraron que *A. swirskii* podría ser un buen agente de control biológico de *B. tabaci* (Nomikou et al., 2001, 2002). Además, se demostró que *A. swirskii* podría ejercer un mejor control de trips que *N. cucumeris* (van Houten et al., 2005; Messelink et al., 2006), y por tanto, ofrecer la posibilidad de controlar dos plagas a la vez. Ya en España, la liberación de *A. swirskii* en combinación con *E. mundus*, se demostró más eficaz que la introducción del parasitoide únicamente (Calvo et al., 2009a). Además, la introducción de *A. swirskii* permitía reducir de forma significativa las poblaciones de *F. occidentalis*, si bien no de forma suficiente para evitar los posibles problemas derivados de la incidencia del TSWV (Belda y Calvo, 2006), por lo que, como en otros lugares (Weintraub et al., 2011), se recomendaba la combinación del ácaro con *O. laevigatus* para lograr evitar la incidencia del virus. Todos estos resultados se confirmaron posteriormente en invernaderos comerciales de pimiento, en los que dicha combinación no solo resultó eficaz para el control de mosca blanca y trips, sino que también más económica que la estrategia previa basada en el uso de parasitoides, *N. cucumeris* y *O. laevigatus* y mucho más limpia derivada de la reducción del uso de plaguicidas (Calvo et al., 2012a).

Pese a ello, inicialmente los agricultores no se sentían muy atraídos por la utilización de esta estrategia. Todo cambió a partir de 2006. Ese año, Greenpeace (Krautter, 2007) publicó un informe demoledor que alertaba sobre la presencia, en más de un 60% de los frutos analizados procedentes del sureste español, de residuos químicos de plaguicidas. Estos residuos, alguno de ellos de plaguicidas no autorizados en el cultivo, excedían los niveles autorizados. Como resultado, los mercados de destino paralizaron las importaciones de frutas y hortalizas, provocando así una grave crisis en el sector productor. Los agricultores se vieron forzados a modificar de forma drástica su estrategia de control de plagas, lo que supuso una adopción masiva del control biológico. Así, en tan solo 3 años, la gran mayoría de los agricultores de pimiento liberaron ya en sus invernaderos agentes de control biológico (van der Blom, 2005, 2008; Merino-Pacheco, 2007). Con esto, los agricultores lograron reducir totalmente la interceptación de muestras con presencia de residuos químicos y evitar así una posible crisis económica de gran impacto en el sector hortofrutícola. El efecto en el cultivo de pimiento tuvo también su eco en el resto de los cultivos hortícolas. Así, el depredador *A. swirskii*, que resultó ser también eficaz para el control de mosca blanca y trips en cultivos como pepino, calabacín o berenjena (Calvo et al., 2007, 2008, 2011; Messelink et al., 2008), comenzó a liberarse de forma masiva en todos estos cultivos, llegando a liberar en unas 20000 ha hacia el año 2015 (Calvo et al., 2015).

En tomate, *B. tabaci* era la principal plaga en España hasta 2006, año en que se detectó por primera vez *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Desneux et al., 2010). Para el control de la mosca blanca se liberaba el parasitoide *E. mundus* y el mírido *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae), que eran capaces de ejercer un buen

control de la plaga (Stansly et al., 2004, Calvo et al., 2009b). La llegada de *T. absoluta* supuso un importante reto para el control biológico al tratarse de una plaga invasora, pues *a priori*, podría no tener ningún enemigo natural autóctono. Sin embargo, Urbaneja et al., (2009) pronto observaron que *N. tenuis* era capaz de desarrollarse y reproducirse alimentándose de huevos de *T. absoluta*. Más tarde, Calvo et al., (2012b, 2016) demostraron que la liberación del depredador en tomate era capaz de ejercer un control muy eficaz de *T. absoluta* y *B. tabaci*. Además de *N. tenuis*, se han identificado en Europa otros enemigos naturales autóctonos que son capaces de atacar a *T. absoluta*. Entre ellos, cabe destacar el parasitoide *Necremnus tutae* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae), que se encuentra ampliamente distribuido en Europa y aparece frecuentemente en invernaderos comerciales de tomate del sureste español (Gebiola et al., 2015, Crisol-Martínez y van der Blom, 2018). Sin embargo, sus características biológicas suponen actualmente una barrera para su producción en masa (Calvo et al., 2013), lo que unido a la alta eficacia de *N. tenuis*, lo hacen menos atractivo para utilizarlo dentro de estrategias de control biológico por aumento (Calvo et al., 2016). Pese a ello, un manejo adecuado del cultivo puede favorecer su aparición espontánea, ayudando así al control de la plaga, especialmente en primavera cuando parece ser más abundante. Estos estudios, los primeros resultados exitosos controlando mosca blanca y *T. absoluta* en invernaderos comerciales, junto al eco de las reacciones anteriormente mencionadas a la presencia de residuos químicos en pimiento, propiciaron un importante incremento de la superficie de tomate bajo plástico cultivada con control biológico. De ese modo, de una superficie del 20% en la campaña 2007-08, se llegó a más del 80% en 2014, lo que en números absolutos representaba cerca de 12000 ha.

Así pues, diversos proyectos de investigación, en los que participaron diferentes entidades públicas y privadas, ayudaron a desarrollar las estrategias de control biológico que permitían dar respuesta frente a las principales plagas que afectaban a los cultivos protegidos en el sureste español. Esto ofrecía al agricultor una alternativa eficaz y limpia frente al uso de agentes de control químico. Pese a ello, en un primer momento, el incremento en el uso de estrategias de control biológico se debió a factores externos, que se consolidó gracias a la eficacia demostrada frente a las plagas objetivo, el apoyo decidido por parte asesores técnicos y servicios públicos y por el compromiso de los agricultores para producir de un modo más sostenible y limpio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brown, J.K., Frohlich, D.R., Rosell, R.C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Ann. Rev. Entomol.* 40: 511–534.
- Calvo, F.J., Belda, J.E. 2007. *Amblyseius swirskii*, un depredador para el control de mosca blanca y trips en cultivos hortícolas. *Phytoma España* 190:58–62.
- Calvo, F.J., Bolckmans, K., Belda, J.E. 2008 Controlling the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hom.: Aleyrodidae) in horticultural crops with the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot). *J. Insect. Sci.* 8:4.
- Calvo, F.J., Bolckmans, K., Belda, J.E. 2009a. Development of a biological control-based IPM method for *Bemisia tabaci* for protected sweet pepper crops. *Entomol. Exp. Appl.* 133:9–18.
- Calvo, J., Bolckmans, K., Stansly, P., Urbaneja, A. 2009b. Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. *BioControl* 54: 237–246.

- Calvo, F.J., Bolckmans, K., Belda, J.E. 2011. Control of *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in cucumber by *Amblyseius swirskii*. *Biocontrol* 56:185–192
- Calvo, F.J., Bolckmans, K., Belda, J.E. 2012a. Biological control-based IPM in sweet pepper greenhouses using *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae). *Biocontrol Sci. Technol.* 22:1398–1416.
- Calvo, F.J., Lorente, M.J., Stansly, P.A., Belda, J.E. 2012b. Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisa tabaci* in greenhouse tomato. *Entomol. Exp. App.* 143: 111–119.
- Calvo, F.J., Soriano, J.D., Bolckmans, K., Belda, J.E. 2013. Host instar suitability and life-history parameters under different temperature regimes of *Necremnus artynes* on *Tuta absoluta*. *Biocontrol Sci. Tech.* 23(7): 803–815.
- Calvo, F.J., Knapp, M., van Houten, Y.M., Hoogerbrugge, H., Belda, J.E. 2015. *Amblyseius swirskii*: What made this predatory mite such a successful biocontrol agent? *Exp. Appl. Acarol.* 65:419–433.
- Calvo, F.J., Soriano, J.D., Stansly, P.A., Belda, J.E. 2016 Can the parasitoid *Necremnus tutae* (Hymenoptera: Eulophidae) improve existing biological control of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)? *Bull. Entomol. Res.* doi:10.1017/S0007485316000183.
- Crisol-Martínez, E., van der Blom, J. 2018. *Necremnus tutae* (Hymenoptera, Eulophidae) is widespread and efficiently controls *Tuta absoluta* in tomato greenhouses in SE Spain. *IOBC-wprs Bull.*
- De Barro, P.J., Liu, S.S., Boykin, L.M., Dinsdale, A.B. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Ann. Rev. Entomol.* 56:1–19.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S. et al. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest. Sci.* 83: 197–215.
- Espinosa, P.J., Bielza, P., Contreras, J., Lacasa, A. 2002. Insecticide resistance in field populations of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in Murcia (south-east Spain). *Pest. Manag. Sci.* 58:967–971.
- Fernández, E., Gravalos, C., Haro, P.J., Cifuentes, D., Bielza, P. 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q-biotype in south-eastern Spain. *Pest. Manag. Sci.* 65:885–891.
- Gebiola, M., Bernardo, U., Ribes, A., Gibson, G.A.P. 2015. An integrative study of *Necremnus* Thomson (Hymenoptera: Eulophidae) associated with invasive pests in Europe and North America: taxonomic and ecological implications. *Zoological Journal of the Linnean Society* 173: 352–423.
- Gerling, D., Mayer, R.T. (eds). 1996. *Bemisia*: 1995. Taxonomy, biology, damage, control and management. Intercept, Andover.
- Merino-Pacheco, M. 2007. Almeria finally forced to turn green. *Fruit. Veg. Technol.* 7(1):23–25.

- Messelink, G.J., van Steenpaal, S.E.F., Ramakers, P.M.J. 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. *Biocontrol* 51:753–768
- Messelink, G.J., van Maanen, R., van Steenpaal, S.E.F., Janssen, A. 2008. Biological control of thrips and whiteflies by a shared predator: two pests are better than one. *Biol Control* 44:372–379.
- Krautter, M. 2007. Essen ohne Pestizide. Greenpeace, Hamburg
- Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R., Sabelis, M.W. 2001. Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. *Exp. Appl. Acarol.* 25:271–291.
- Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R., Sabelis, M.W. 2002. Phytoseiid predators suppress populations of *Bemisia tabaci* on cucumber plants with alternative food. *Exp. Appl. Acarol.* 27:57–68.
- Sánchez, J.A., García, G., Lacasa, A., Guitiérrez, L., Oncina, M., Contreras, J., Gómez, J. 1997. Response of the anthocorids *Orius laevigatus* and *Orius albidipenis* and the Phytoseiid *Amblyseius cucumeris* for the control of *Frankliniella occidentalis* in commercial crops of sweet peppers in plastic houses in Murcia (Spain). *IOBC-wprs Bull.* 20(4): 177-185.
- Stansly, P.A., Sánchez, P.A., Rodríguez, J.M., Cañizares, F., Nieto, A., López, M.J., Fajardo, M., Suárez, V., Urbaneja, A. 2004. Prospects for biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) in greenhouse tomatoes of Southern Spain. *Crop Protect.* 23:701–712.
- Stansly, P.A., Calvo, F.J., Urbaneja, A. 2005. Augmentative biological control of *Bemisia tabaci* biotype “Q” in Spanish greenhouse pepper production using *Eretmocerus* spp. *Crop. Prot.* 24:829–835
- Urbaneja, A., Montón, H., Mollá, O. 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus caliginosus* and *Nesidiocoris tenuis*. *J. App. Entomol.* 133: 292–296.
- van der Blom, J. 2005. Control biológico en cultivos hortícolas bajo abrigo. *Horticultura* 189:10–17.
- van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S., Sánchez, J.A. 2008. Control biológico de plagas en Almería: revolución verde después de dos décadas. *Phytoma España* 198:42–48.
- van Lenteren, J.C. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biocontrol* 57:1–20.
- van Lenteren, J.C., Bueno, V.H.P. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol* 48:123–139
- van Houten, Y., Østlie, M.L., Hoogerbrugge, H., Bolckmans, K. 2005. Biological control of western flower thrips on sweet pepper using the predatory mites *Amblyseius cucumeris*, *Iphiseius degenerans*, *A. andersoni* and *A. swirskii*. *IOBC WPRS Bull.* 28(1):283–286.

Weintraub, P., Pivonia, S., Steinberg, S. 2011. How many *Orius laevigatus* are needed for effective western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, management in sweet pepper? Crop. Prot. 30:1443–1448.

Augmentative biological control in Brazil: an overview

Aloisio Coelho Junior & José Roberto Postali Parra

Department of Entomology and Acarology, University of São Paulo (USP)/ Luiz de Queiroz College of Agriculture (ESALQ), Piracicaba, SP, Brazil.

Brazil has a long history of the use of biological control (BC) of pests. The first attempt to use parasitoids was reported in the 1920s, and introductions of natural enemies to control exotic pests in Brazil mainly targeted the pests *Hypothenemus hampei* (Ferrari), *Eriosoma lanigerum* (Hausmann), *Ceratitis capitata* (Wiedemann) and *Grapholita molesta* (Busck) was done until the 1940s. The first successful case dates to 1967 the introduction, of *Neodusmetia sangwani* (Subba Rao) from Texas, USA, to control the scale *Antonina graminis* (Maskell) in pastures, although with no mass rearing of the parasitoid (Batista Filho et al. 2017).

A milestone in mass rearing of natural enemies in Brazil was the introduction of the artificial diet proposed by Hensley and Hamond (1968) to rear the moth *Diatraea saccharalis* (Fabricius), the sugarcane borer, with some components of this artificial diet adapted for Brazilian conditions. The responsible by this program was Professor Domingos Gallo, from the Department of Entomology of the "Luiz de Queiroz" College of Agriculture (ESALQ), the University of São Paulo (USP); who at the time worked with native tachinids, *Lydella minense* (Townsend) (Amazon fly) and *Billaea claripalpis* (Wulp) (South American fly) to control the pest.

Later, in 1971 the parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron from Trinidad and Tobago was introduced (Botelho and Macedo 2002) and the previously mentioned diet was used for mass production of *D. saccharalis* (host) and the parasitoid. Nowadays, 2 sugarcane is the classical example of BC use in Brazil, now the country grown on about nine million ha; about 3.5 million ha of these area are treated with *Cotesia flavipes* Cameron (larval parasitoid) and about 2 million ha are treated with *Trichogramma galloi* Zucchi (egg parasitoid), both agents for control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (ABCBio1-Personal communication).

According to Parra and Coelho (in press) inter- and multidisciplinary programs should be carried out in order to guarantee success in BC programs. Such as the program involving species of *Trichogramma* parasitoid wasps, which began in the 1980s under the influence of French researchers, and reached the farmer in the early 2000s. This project has generated many scientific reports and books on the subject (Parra and Zucchi 1997, Cõnsoli et al. 2010). The timeline of this program was described in the book edited by Vinson et al. (2015), in chapter 20 "Trichogramma as a tool for IPM in Brazil" by Parra et al. (2015). Two International Congresses were hosted in Piracicaba, São Paulo, Brazil, bringing together researchers from different parts of the world, in 1996 and 2008. All these activities contributed to advances in the use of this important egg parasitoid, released on millions of ha throughout the world. In Brazil, in the 2018 growing season, approximately three million hectare will be treated with insects from this genus (ABCBio1-Personal Communication). This program was conducted in the following steps: i) collection, species identification, and strain selection; ii) selection of the most suitable factitious host for mass production of the parasitoid; iii) biological and behavioral studies; iv) egg dynamics in the field; v) in vitro production (attempt); vi) mass rearing and quality control; vii) release techniques, tailored to the plant phenology; viii) selectivity of agrochemicals to the parasitoid; ix) evaluation of field efficiency and cost/benefit analysis (Parra et al. 2015).

Biological control of agricultural pests in Brazil therefore has a long history, with some programs, based on mass rearing, established since the late 1970s. From the first programs until the present day, significant advances have been achieved, and today Brazil is among the largest users of biological control in open fields in the world. Much of the success of certain programs was achieved by good research management, particularly of inter- and multidisciplinary projects, and also by the mastery of insect mass rearing on an industrial scale, always evaluating the quality of the agents produced. The present article provides a brief history of biological control in Brazil and its intrinsic relationship to mass rearing and quality control.

REFERENCES

- Batista Filho, A., Costa, V. and H. Hojo. 2017. *Neodusmetia sangwani* (Subba Rao) (Hymenoptera: Encyrtidae) to control *Antonina graminis* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) in pastures in Brazil: a revision. *Arq. Inst. Biol.* 84: e0432016.
- Botelho, P. S. M. and N. Macedo. 2002. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, pp. 409-425. In J. R. P. Parra, Botelho, P. S. M., Corrêa-Ferreira, B. S. and J. M. S. Bento (eds.) *Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores*. Manole, São Paulo, SP, Brazil.
- Cônsoli, F. L., J. R. P. Parra and R. A. Zucchi. 2010. *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer, New York, USA.
- Hensley, S. D. and A. M. Hammond. 1968. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.* 61: 1742-1743.
- Parra, J. R. P and R. A. Zucchi. 1997. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. FEALQ, Piracicaba, Brazil.
- Parra, J. R. P, Zucchi, R. A., Coelho Jr., A., Geremias, L. D. and F. L. Cônsoli. 2015. *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil, pp. 472–496. In B. Vinson, S. M. Greenberg, T. Liu, A. Rao and L. F. Volosciuk (eds.), *Augmentative biological control using Trichogramma spp.: Current status and perspectives*. Northwest A&F University Press, Shaanxi, China.
- Vinson, B., Greenberg, S. M., Liu T., Rao A. and Volosciuk, L.F. 2015. *Augmentative biological control using Trichogramma spp.: Current status and perspectives*. Northwest A&F University Press, Shaanxi, China. 496 p.

Using insect-pathogenic fungi to manage insect pests, current and future directions

Stefan T. Jaronski

Agricultural Research Service of the U.S. Department of Agriculture, Northern Plains Agricultural Research Laboratory, Sidney, MT 59279, USA. E-mail: stefan.jaronski@ars.usda.gov

RESUMEN

Desde los esfuerzos iniciales para aprovechar los ascomicetos entomopatógenos en el siglo XIX, con el trabajo de Metchnikoff con *Metarhizium* en Rusia y el Departamento de Agricultura de Kansas en EE. UU. Con *Beauveria*, la explotación práctica de estos hongos ha aumentado constantemente hasta nuestros días, lentamente. al principio, luego con una rapidez creciente durante las últimas tres décadas. Hoy en día, estos hongos son un componente importante de los bioplaguicidas microbianos. Una encuesta de 2007 registró más de 110 productos comerciales que utilizan Ascomycete; hoy hay alrededor de 160. ¿Cómo los estamos usando? Con demasiada frecuencia, los utilizamos como factores de mortalidad catastróficos e inundativos, es decir, como sustancias químicas, que con frecuencia conducen a la decepción del usuario. En respuesta, se han ideado nuevos y a menudo ingeniosos métodos para mejorar la eficacia, a través de formulaciones, métodos de aplicación e incluso modificaciones genéticas. En los últimos años, también han aparecido nuevos usos potencialmente emocionantes, que cambian nuestra percepción de estos microorganismos, como los endófitos vegetales que pueden afectar a los insectos herbívoros directamente o mediante resistencia sistémica inducida. De todos modos, ¿cómo deberíamos usarlos? La respuesta se encuentra en el contexto del manejo integrado de plagas, en el que los bioplaguicidas son solo un componente de una agricultura holística y sostenible y no en un paradigma químico.

ABSTRACT

Since the initial efforts to take advantage of entomopathogenic Ascomycetes in the 19th Century, with the work of Metchnikoff with *Metarhizium* in Russia and the Kansas Department of Agriculture in the U.S. with *Beauveria*, practical exploitation of these fungi has steadily increased to the present day, slowly at first, then with increasing rapidity during the past three decades. Today, these fungi are a significant component of microbial biopesticides. A 2007 survey recorded over 110 commercial products using Ascomycete; today there are about 160. How are we using them? All too often, we use them as inundative, catastrophic mortality factors, i.e. like chemicals, frequently leading to user disappointment. In response, new and often ingenious methods have been devised to improve efficacy, through formulations, application methods, even genetic modification. In recent years new, potentially exciting uses have also appeared, changing our perception of these microorganisms — as plant endophytes that can affect herbivorous insects either directly or via induced systemic resistance. Regardless, how should we be using them? The answer lies in the context of integrated pest management, in which biopesticides are just one component of a holistic, sustainable agriculture and not in a chemical paradigm.

Biopesticide use has been growing almost exponentially in the past 15 years, with a 15.6% compound annual growth rate through 2014, in contrast to only 1.3% with traditional chemical pesticides. Within this biopesticide market microbial agents represent more than 50%. In the U.S. over 16 companies have microbial products

registered, although not all target insect pests; some are biofungicides or bionematicides. In addition, several of the multinational agricultural chemical companies are forming mergers and partnerships with the small venture-capital enterprises that have been on the technological leading edge of biopesticides. A 2007 survey of fungus-based bioinsecticides (Faria & Wraight, 2007) discovered 110 active, commercial products worldwide. A more recent survey (Mascarin & Jaronski, 2016) determined that there were 59 products based on *Beauveria* species alone. More have appeared since.

Mycoinsecticides (fungus-based insecticides) have been attractive because they are benign for people as well as the environment, easily mass produced, and easily applied in a manner similar to chemical insecticides. But there is still grower dissatisfaction, reluctance, with concerns that mycoinsecticides are too weak (requiring too much for efficacious applications, thus excessive expense compared to chemicals); that they are insufficiently persistent, requiring frequent reapplication; and in some cases they are too complicated to think about, for example sometimes needing refrigerated storage, or having limited shelf life in their distribution networks. These criticisms can be also levied against many viral and bacterial products. A 2016-2017 survey indicated that while 31-39% of California vegetable growers use biopesticides, another 30-35% do not.

One significant problem hindering greater adoption is that for the most part biopesticides, including mycoinsecticides, are being used as “inundative, catastrophic, mortality factors,” i.e., like chemicals. Directly delivering a sufficient number of conidia to each target insect requires a large number of fungus spores, considerable product. For example, Wraight *et al.* (2010) determined the laboratory LC₅₀ of the commercial *B. bassiana* strain GHA, delivered to larval *Plutella xylostella* (Diamondback Moth) in a spray, to be 100 conidia/mm² of sprayed surface. Given that there are 10¹⁰ mm² in a flat hectare surface, and more like eight times that in a crop with a leaf area index of 8, 8 × 10¹² conidia/ha would be required for a theoretical 50% efficacy based on the bioassay data. Given the current price of the commercial formulation of this fungus, treating a hectare of crop, once, would cost US \$ 36. These numbers, however, are based on a laboratory bioassay, conducted under conditions ideal for fungus delivery, host infection and lethal pathogenesis. Under operational conditions, typical spray delivery of fungus is far less efficient than in a laboratory Potter tower spray system. A number of factors affect the efficiency of spray application. The result is that under operational conditions, each spray would cost at least US \$ 50/ha, plus application costs, too often an unacceptable cost.

There have been numerous efforts to devise methods, often ingenious, to increase the efficiency of delivery of mycoinsecticide to the target insect to compensate for their perceived deficiencies. A number of these have been summarized in Jaronski (2010). Different spray systems including air assist and electrospray have been designed to optimize spore delivery. Formulations, based on paraffinic or vegetable oils, greatly increase contact and infections by fungal spores compared to aqueous sprays and allow ultralow volume applications (Inglis *et al.*, 2000). Similarly, use of carnuba or candilla wax powders greatly improves delivery of dry conidia to insect targets (Meikle, 2012). Formulations have been designed to increase rainfastness and UV protection (Jaronski, 2010), thus prolonging persistence and allowing less frequent application. Formulation additives, such as the organosilicone wetting agents, improve transport of conidia into cryptic habitats as well as spread of conidial sprays over plant surfaces. Other approaches to increase mycoinsecticide efficacy have sought to include chemical stressors to either alter insect immune response to infection, or alter behavior that helps

an insect defend itself against pathogens, e. g., behavioral fever. In recent years there has been an effort to increase the virulence of fungi by genetic transformation, as well as via the more traditional mutation selection approaches (Fang *et al.*, 2012). There can be significant regulatory and societal challenges with the transgenic approaches, however, preventing their adoption.

Several research groups have developed methods to bring the insect to the fungus in an effort to increase efficacy. Two notable developments have been an alginate bead containing *Metarhizium* and a CO₂-producing yeast to attract wireworms in a form of 'fatally infectious candy' (Vemmer *et al.*, 2016), and a combination of *Metarhizium* with methyl-isonicotinate to attract thrips to the spores (Mfuti *et al.*, 2017). There have, likewise, been efforts to improve fungus delivery via autodissemination, e.g., Japanese beetle (Klein & Lacey, 1999). Following generation of data that one commercial fungus, *B. bassiana* GHA, was safe for *Apis mellifera*, Canadian researchers developed a bee-dissemination system for a dry formulation of the fungus (Al-Mazra'awi *et al.*, 2007) that is now a registered use in Canada (Bioworks, 2015). This effort has been paralleled by methods using honeybees and *Bombus* spp. to mechanically vector fungicidal microorganisms to flowers (Karise *et al.*, 2016).

Use of fungi in the soil poses particular problems for efficient delivery of conidia to a soil pest (Jaronski, 2007). In general, incorporation of conidia into a soil matrix is very inefficient, requiring concentrations in excess of 1×10^6 /cc and thus extremely large, often uneconomic, quantities per hectare. Use of granular formulations, particularly ones that allow the fungus to germinate, grow and sporulate, thus increasing the number of conidia within a discrete zone around the granule, change the "numbers game" (Jaronski, 2007). Contact, even briefly, with such a concentrated focus of conidia can result in the transfer of more than sufficient numbers of conidia for fatal infection. One such novel formulation is the *Metarhizium* microsclerotial granule produced directly in liquid fermentation (Jackson and Jaronski, 2009).

Inherent in all these efforts is the frequently unvoiced, even unconscious, expectation that the mycoinsecticide should perform like a chemical insecticide, with > 90% efficacy. This with entomopathogenic fungi is rare. What is too often forgotten is the concept of integrated pest management (IPM), first developed by Stern *et al.* (1959). The UN Food and Agriculture Organization defines IPM as "the careful consideration of all available pest control techniques and subsequent integration of appropriate measures that discourage the development of pest populations and keep pesticides and other interventions to levels that are economically justified and reduce or minimize risks to human health and the environment. IPM emphasizes the growth of a healthy crop with the least possible disruption to agro-ecosystems and encourages natural pest control mechanisms." No one tool provides a very high level of control by itself. Within this IPM concept pest management tools span a range of tools, from long-term preventative measures, such as cultural practices and habitat management, to intermediate term measures, such as biological pest control, biorationals (pheromones), physical measures, to short term curative measures (pesticides), only when needed.

Development of practical IPM systems that include mycoinsecticides has heretofore been somewhat limited in the thrust of finding a better fungus. There are examples, however. The Vineland Research and Innovation Centre of Ontario, Canada has been spearheading developing several operational IPM programs that incorporate mycoinsecticides for the greenhouse floriculture industry (Vineland Research and Innovation Centre, 2017) For example, in Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*)

production, they have demonstrated successful integration of a commercial *Beauveria* formulation with insecticidal soap cutting dips with subsequent *Eretmocerus eremicus* release (M. Brownbridge, personal communication). In greenhouse cucumber production, combination of commercial *Metarhizium brunneum* F52 with *Neoseiulus cucumeris* resulted in western flower thrips control equal to that of a spinosad product. This program also suppressed two spotted spider mite. The organization has also generated a production-season-long incorporation of *Beauveria* or *Metarhizium* with *Steinernema feltiae*, *N. cucumeris* and *Amblyseius swirskii* in chrysanthemums. In the United States, the University of California Extension Service has developed successful management of thrips and mites in commercial strawberries using combinations of commercial mycoinsecticides, biorational compounds, reduced rates of safer chemicals, and physical measures (tractor-mounted vacuum collections) (Dara, 2016) .

Within IPM, the microbial, regardless of its biological nature, is just one tool in a system. It should not be a direct replacement for a chemical insecticide. Thus, efficacy less than that of a chemical becomes a satisfactory outcome, because the mortality from a mycoinsecticide is complemented by other measures, all of which lower the insect population below an economic injury level.

It is essential that we, who are developing entomopathogenic fungi, as well as viruses and bacteria, need to do so within the context of IPM *from the outset*, continually considering our candidates microorganisms as one tool within a system.

REFERENCES

- Al-Mazra'awi, M. S., Kevan, P. G., & Shipp, L. 2007: Development of *Beauveria bassiana* dry formulation for vectoring by honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to the flowers of crops for pest control. *Biocontrol Sci. Technol.* 17: 733-741.
- Bioworks Inc. 2015: BotaniGard 22WP label (Canada). [WWW document] URL <http://www.bioworksinc.com/products/botanicgard-22wp-ca/botanicgard-22wp-label-ca-en.pdf> Cited June 1, 2017.
- Dara, S. K. 2016: Arthropod pest management during and at the end of strawberry production season. [WWW document] URL <http://cesantabarbara.ucanr.edu/files/240379.pdf> Cited June 1, 2017.
- Fang, W., Azimzadeh, P., & St. Leger, R. J. 2012: Strain improvement of fungal insecticides for controlling insect pests and vector-borne diseases. *Current Opinion in Microbiology* 15: 232-238.
- Faria, M. R. & Wraight, S. P. 2007: Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control* 43: 237-256.
- Inglis, G. D., Jaronski, S. T. & Wraight, S. P. 2002: Use of spray oils with entomopathogens. In: *Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management* (eds. Beattie, G. A. C. & Watson, D. M.): 302-312. University of Western Sydney, Hawkesbury, Australia.
- Jackson, M. A. & Jaronski, S. T. 2009: Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects. *Mycol. Res.* 113: 842-850.

- Jaronski, S. T. 2007: Soil ecology of the entomopathogenic Ascomycetes: a critical examination of what (we think) we know. In: Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management (eds. Maniana, K. & Ekesi, S.): 91-144. Research SignPosts, Trivandrum India.
- Jaronski, S. T. 2010: Role of fungal ecology in the inundative use of entomopathogenic fungi.
BioControl 55: 159-185.
- Karise, R., Dreyersdorff, G., Jahani, M., Veromann, E., Runno-Paurson, E. Kaart, T., Smagghe, G., & Mand, M. 2016: Reliability of the entomovector technology using Prestop-Mix and *Bombus terrestris* L. as a fungal disease biocontrol method in open field. Nature, Sci. Rep. 6, 31650; doi: 10.1038/srep31650.
- Klein, M. G. & Lacey, L. A. 1999: An attractant trap for autodissemination of entomopathogenic fungi into populations of the Japanese beetle *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Biocontrol Sci. Technol. 9: 151-158.
- Mascarin, G. A. & S. T. Jaronski 2016: The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. World J. Microbiol. Biotechnol. 32:177. DOI 10.1007/s11274-016- 2131-3.
- Meikle, W. 2012: Biocontrol of Varroa mites with *Beauveria bassiana*. U.S. Patent 8,226,938
- Mfuti, D. K., Niassy, S., Subramanian, S., du Plessis, H., Ekesi, S., & Maniana, N. K. 2017:
Lure and infect strategy for application of entomopathogenic fungus for the control of bean flower thrips in cowpea, Biol. Control 107: 70-76.
- Stern, V. M., Smith, R. F., van den Bosch, R., & Hagan, K. S. 1959: The Integrated Control Concept. Hilgardia 29: 81-101.
- Vemmer, M., M. Schumann, W. Beitzel-Heineke, B. W French, S. Vidal & A. V. Patel 2016: Development of a CO₂-releasing coformulation based on starch, *Saccharomyces cerevisiae* and *Beauveria bassiana* attractive towards western corn rootworm larvae. Pest Manag. Sci. 72: 2136-2145.
- Vineland Research and Innovation Centre 2017: The Right Tools: Integrating Biocontrol Systems for Impact. [WWW document] URL <http://vinelandresearch.com/program/right-tools-integrating-biocontrol-systems-impact>, Cited June 28, 2017.
- Wraight, S. P., Ramos, M. E., Avery, P. B., Jaronski, S.T., & Vandenberg, J. D. 2010: Comparative Virulence of *Beauveria bassiana* Isolates against Lepidopteran Pests of Vegetable Crops. J. Invertebr. Pathol. 103(3): 186-199.

Insect pathogens – a key component of biological control and sustainable agriculture

Trevor Jackson

AgResearch, Lincoln Research Centre, Private Bag 4749, Christchurch 8140, New Zealand. E-mail: trevor.jackson@agresearch.co.nz

RESUMEN

Control biológico es una parte integral del manejo de plagas para la agricultura sustentable que tiene como objetivo producir los productos agrícolas sanos de alta calidad en una manera que protege y mejora el medio ambiente. Microbios son un recurso de control biológico y entomopatógenos y antagonistas microbianos pueden ser utilizados contra las plagas y enfermedades. Microbios beneficiosos pueden ser utilizados como bioinoculantes o bioplaguicidas pero su uso exitoso dependerá de la selección de cepas estables y efectivas de los microbios y el desarrollo de eficientes sistemas de producción y estrategias de aplicación basadas en las características de la plaga y la interacción huésped/patógeno. En todos los casos, los controles microbianos deben ser económicos para el usuario y dispuestos a la producción a gran escala para proporcionar alternativas viables a pesticidas químicos. La producción de cultivos celulares de alta densidad es el primer paso en el proceso de desarrollo del producto, y las células deben ser suficientemente robustas para su posterior procesamiento. Después de la producción, las células se formulan para la supervivencia en almacenaje y en una forma para la aplicación. Líquidos concentrados, polvos mojables, gránulos y cebos pueden ser utilizados en el control biológico. El entendimiento del agricultor/aplicador de las características del agente microbiano y su actividad será esencial para el éxito a largo plazo. El uso exitoso de agentes microbianos de control biológico requerirá una fuerte y eficaz colaboración entre investigadores, productores de los microbios y los agricultores usuarios. Una vez establecidos, los sistemas de control biológico apuntalarán el mantenimiento de ambientes seguros y una agricultura sustentable para el futuro.

ABSTRACT

Biological control is an integral part of pest management for a sustainable agriculture that aims to produce high quality, healthy agricultural products in a manner that protects and improves the environment. Biological control involves using natural enemies of pest organisms and insect pathogens, frequently found in dead insects after pest outbreaks, and are a useful resource to be used in biocontrol. Several strategies have been developed for the use of entomopathogenic microbes. For pests invading a new environment, inoculation can be sufficient to start an epizootic of disease that will spread naturally through the pest population. In the case of rhinoceros beetle (*Oryctes rhinoceros*) outbreaks damaging palms on the Pacific Islands, release of a few artificially infected beetles with a pathogenic virus is usually enough to initiate a cycle of disease and suppress the pest¹. Where pest outbreaks occur in new crops or pasture, after biological activity has been disrupted by cultivation, the benefits of biological control can be achieved by application of entomopathogenic microbes against healthy rising insect populations. Control of the New Zealand grass grub (*Costelytra givenii*) by the bacterium *Serratia entomophila* is achieved in this fashion by establishment of the bacterium in the soil which then recycles in the pest population². Where there is little replication of the microbe after application, toxins produced by the microbe can be used as a biopesticide, such as *Bacillus thuringiensis* (Bt), to give high levels of control and limit the pest outbreak³.

The use of entomopathogens in biological control will start with biodiscovery – the search for an effective biocontrol agent. Although many potentially useful entomopathogens have been found among pest insects, their use has been limited by difficulty in cost-effective production and distribution to the sites where they are needed. Successful use of microbial agents will depend on selection of stable, effective strains of microbes and development of production systems and application strategies based on the characteristics of the pest and host/pathogen interaction. In all cases, the microbial control selected must be economical for the user and amenable to large-scale production to provide a viable alternative to chemical pesticides⁴. Production of high density cell cultures is the first step in the product development process, and cells must be robust enough for further processing. After production, cells are formulated for survival in storage and production of an appropriate form for application. Wettable powders, granules and baits are all formulations of microbes that can be used in biological control. Application methods must also take account of the characteristics of the applied agent. Non-sporeforming microbes are often susceptible to ultra-violet light or desiccation and have to be applied in a protected formulation or directly to the soil while those agents with a protective spore can often be stored for long periods without loss of viability. Farmer/applicator understanding of the characteristics of the microbial agent and its activity will be essential for long-term success. Microbial products are often more susceptible to stresses during handling and application than their chemical counterparts and may not have the same speed of activity.

The successful use of microbial agents in biological control will require a strong and effective partnership between researchers, microbial producers and the farmer users. Once biological control systems are established they will underpin maintenance of safe environments and a sustainable agriculture for the future.

REFERENCES

1. Marshall, S.D.G., Moore, A., Vaqalo, M., Noble, A., Jackson, T.A., (2017). A new haplotype of the coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros*, has escaped biological control by *Oryctes rhinoceros* nudivirus and is invading Pacific islands. *Journal of Invertebrate Pathology* (2017),
2. Jackson TA, Berry C, O'Callaghan M. (2017) Chapter 8. Bacteria. In *Ecology of Invertebrate Diseases*. (A. Hajek and D. Shapiro-Ilan Eds) John Wiley & Sons, Pp. 285-324.
3. Jurat-Fuentes, J.L., Jackson, T.A. (2012). Bacterial entomopathogens. In *Insect Pathology*. Vega, F.E. and Kaya, H.K. (Eds). Elsevier pp. 265-349.
4. Jackson, T. A. (2016). Entomopathogenic bacteria: Mass production, formulation, and quality control. In: *Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice*. L. A. Lacey (Ed.), *Elsevier Inc.*: 125-139.

Control biológico clásico de la Escama Algodonosa (*Icerya purchasi*) y otras especies invasoras: una herramienta para la restauración de ecosistemas en las Islas Galápagos

Charlotte E. Causton

Fundación Charles Darwin, Santa Cruz, Islas Galápagos, Ecuador

El archipiélago de Galápagos, declarado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO y Reserva de la Biosfera, es famoso por sus altos niveles de flora y fauna endémica, como resultado de su aislamiento de otras masas de tierra y colonización tardía por los humanos. Siendo un destino turístico muy popular, este archipiélago ha visto un rápido aumento en visitantes y residentes desde la década de 1990, y con esto, las amenazas asociadas con bioinvasiones ha aumentado (Toral et al., 2018). Para aquellas especies introducidas que han tornado invasoras, y están teniendo un alto impacto sobre los ecosistemas del archipiélago, el control biológico clásico ofrece una opción de manejo que es permanente y auto sostenible, de amplia cobertura (incluyendo de áreas difíciles de acceder), y de menos riesgo que otras técnicas de control - si se basa en estudios previos rigurosos. En esta presentación hablaré sobre el único programa de control biológico que se ha realizado en Galápagos hasta la fecha: la liberación de la mariquita Australiana, *Rodolia cardinalis*, para controlar la escama algodonosa, *Icerya purchasi* (Hemiptera: Monophlebidae). Para finalizar hablaré sobre estudios en marcha para evaluar la factibilidad de usar el control biológico contra otros insectos y plantas invasoras en Galápagos.

Control biológico de la escama algodonosa, *Icerya purchasi*

Estudios experimentales de campo en Galápagos, revelaron que *I. purchasi* estaba restringiendo el crecimiento (y posiblemente matando individuos) de muchas especies de plantas nativas y endémicas, incluidas 16 especies de la Lista Roja de la IUCN. Este impacto no se limitó solo a las especies de plantas, sino que también hubo impactos indirectos potenciales o reales en las comunidades que dependían de ellos como refugios o para alimentos (Causton et al., 2017). Con esta información un Comité Técnico (conformado de científicos de la Fundación Charles Darwin y técnicos del Servicio de Parque Nacional Galápagos) concluyó que había suficiente evidencia para demostrar que *I. purchasi* estaba teniendo un impacto significativo en los ecosistemas de Galápagos y que la mejor opción para el manejo a largo plazo era el control biológico clásico utilizando el coccinélido *R. cardinalis*.

Desde 1999 hasta 2002 se realizaron ensayos para determinar si la introducción de esta mariquita podría representar un riesgo para los insectos nativos y endémicos. Estos estudios se llevaron a cabo en una unidad de bioseguridad diseñada especialmente en la Estación Científica Charles Darwin. Además de evaluar el riesgo de *R. cardinalis* para insectos no objetivo, también se llevaron a cabo estudios para eliminar la posibilidad de efectos tóxicos de las mariquitas en aves que podrían alimentarse de ellas. Esto debido a que algunas especies de coccinélidos producen un fluido defensivo que puede ser tóxico para algunos vertebrados si se ingiere. Los resultados de estos estudios y un análisis de riesgo sugirieron que *R. cardinalis* no representaría una amenaza significativa para los insectos no objetivo o para las aves insectívoras (Causton et al., 2017).

Entre 2002 y 2005, *R. cardinalis* adultos y larvas (2206 en total) fueron liberados en 10 islas diferentes en el archipiélago. Se llevó a cabo una campaña intensiva de educación y comunicación y la comunidad de Galápagos participó activamente en el programa de liberación. Esto fue seguido por dos evaluaciones sobre el éxito del programa; uno

directamente después de la liberación y otro siete años más tarde (Causton et al. 2017). Los resultados de estas evaluaciones indicaron que *R. cardinalis* había propagado y estaba presente en muchos hábitats en al menos nueve islas. La evaluación encontró que las poblaciones de *I. purchasi* había sido suprimido a niveles no dañinos en varios hospederos importantes de plantas. El nivel de control, sin embargo, dependía de las especies de plantas, el hábitat, la estación y posiblemente de la presencia de hormigas invasoras en las plantas. Estudios sobre la mariquita indicaron que no atacó a las especies no objetivo, incluso cuando estaban en la misma rama que *I. purchasi*, sugiriendo que es improbable que este programa haya tenido un impacto adverso significativo en la fauna de insectos no objetivo.

Factibilidad del control biológico para otras especies invasoras

Debido al éxito de este proyecto, hoy día el control biológico clásico está siendo evaluado como una herramienta para el manejo de otras especies invasoras que están afectando gravemente los ecosistemas de Galápagos: mora silvestre (*Rubus niveus*), quinina roja (*Cinchona pubescens*), hormiga tropical (*Solenopsis geminata*), y la mosca parásita aviar (*Philornis downsi*). Estos programas se encuentran en diferentes etapas de desarrollo.

Se han encontrado varios agentes potenciales de control biológico en el rango nativo de *Philornis downsi*, una especie que amenaza significativamente la sobrevivencia de los pinzones de Darwin y otros paseriformes en Galápagos. Las larvas de esta mosca se alimentan de sangre de los pichones causando anemia y mortalidad. El enemigo natural más prometedor es la avispa parasitoide *Conura anullifera* y se están realizando estudios en el campo en el Ecuador continental y en la Universidad de Minnesota para evaluar la seguridad de esta y otras especies de parasitoides (Bulgarella et al. 2017).

Las moscas foridos decapitantes de hormigas están siendo evaluadas para su uso contra la hormiga tropical de fuego, *Solenopsis geminata*, una plaga ambiental y agrícola. Este trabajo está siendo realizado por USDA-ARS Gainesville Florida, Fundación Charles Darwin, Universidad de Texas y la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Las moscas del género *Pseudacteon* son enemigos naturales conocidos de *S. geminata* y una especie en particular, *P. bifidus*, se mostró prometedor en estudios de laboratorio porque mostraba una relación muy estrecha con *S. geminata* (Porter et al., 2018), sin embargo, los estudios revelaron que esta especie no es apta para el biotipo de *S. geminata* encontrado en Galápagos. Se están realizando estudios exploratorios para moscas decapitadoras en el Ecuador continental, que se cree que es el área de origen de las hormigas encontradas en Galápagos.

Existen dos estudios en proceso para evaluar el potencial de usar el control biológico para plantas invasoras. Se ha aislado un hongo del rango nativo de la mora, *Rubus niveus*, y actualmente se está probando su potencial como agente de control biológico en los invernaderos de CABI (Reino Unido). Por otro lado, la muerte de la quinina invasiva, *Cinchona pubescens*, en Galápagos, provocó estudios de patógenos. Se han identificado varias especies de hongos en los troncos de los árboles, pero no parece probable que alguno de ellos esté causando la muerte regresiva o tengan potencial como agentes de control biológico. La búsqueda de agentes de control prometedores para estas dos especies invasoras continúa.

AGRADECIMIENTOS

El éxito del programa de control biológico contra *I. purchasi* fue debido a los esfuerzos de un grupo grande de personas (ver Calderón Álvarez et al., 2012 and Hoddle et al.,

2013). Nuestro agradecimiento especial a nuestros compañeros de la Dirección del Parque Nacional Galápagos quienes trabajaron con FCD en el proyecto de control biológico de *Rodolia* y quienes son nuestros socios en los proyectos actualmente en curso. Gracias a G. Heimpel, S. Porter, H. Jäger, C. Ellison por proveer información sobre investigaciones de control biológico en curso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bulgarella M, Quiroga MA, Boulton RA, Ramírez IE, Moon RD, Causton CE, Heimpel GE. 2017. Life Cycle and Host Specificity of the Parasitoid *Conura annulifera* (Hymenoptera: Chalcididae), a Potential Biological Control Agent of *Philornis downsi* (Diptera: Muscidae) in the Galápagos Islands. Accepted. Annals of the Entomological Society of America. 110: 317–328 doi: 10.1093/aesa/saw102
- Causton CE, Calderón Alvaréz C, Hoddle CD, Hoddle MS, Lincango MP, Poulosom TGA, and Van Driesche R. 2017. Improving health of native Galapagos plants by introducing a specialized predator of the invasive cottony cushion scale. In: RG Van Driesche and R. Reardon (eds) Suppressing Over-abundant Invasive Plants and Insects in Natural Areas by Use of their Specialized Natural Enemies. FHTET, USDA Forest Service Morgantown, WV. Pp. 16-22.
- Porter SD, Plowes RM, Causton CE. 2017. The fire ant decapitating fly *Pseudacteon bifidus* (Diptera: Phoridae): host specificity and attraction to potential food items. Florida Entomologist 101:55-60
- Toral-Granda MV, Causton CE, Jäger H, Trueman M, Izurieta JC, Araujo E, et al. 2017. Alien species pathways to the Galapagos Islands, Ecuador. PLoS ONE 12(9): e0184379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184379>

Biological control in Brazil

Bueno, Vanda H. P.

Laboratory of Biological Control, Department of Entomology, Federal University of Lavras, Minas Gerais, Brazil; email: vhpbueno@den.ufla.br

Brazil's megabiodiversity and long history in the use of biocontrol mean that a wide variety of arthropod and microbial natural enemies are available for use in pest and disease management. There are about 21 companies producing arthropod natural enemies, 26 companies producing fungi and viruses and 30 companies producing microbial antagonists, which can outcompete undesirable microorganisms such as common disease causing fungi.

Brazil has an area of around nine million ha cultivated with sugar cane. The most important commercial natural enemy against the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* is the parasitoid *Cotesia flavipes* which parasitizes borer larvae. This large biological control programme involves the annual release of the larval parasitoid to control the sugarcane borer in an area of about three million ha. The parasitoid is released at a rate of 6000 parasitoids/ha. Brazil has several private companies producing *C. flavipes* and also parasitoid production laboratories operating in sugar and alcohol production plants. Data from the Sugarcane Technology Center Coopersucar located in Piracicaba-SP shows significant success in controlling sugarcane borer using *C. flavipes*: from 1980 to 2010 approximately 28 billion *C. flavipes* adults were released on 4.6 million ha at an average cost of US \$ 5 per hectare avoiding the use of 1.38 million liters of insecticides.

A second important natural enemy that is commercialized and used as a biological control agent in several crops is the egg parasitoid *Trichogramma* spp., with a production of 15 to 20 billion individuals per year. This parasitoid is released in an area of approximately 650,000 ha. The main species that are released are *T. galloi* (against sugar cane borer *D. saccharalis* eggs in approximately 550,000 ha of sugarcane). Also *T. pretiosum* is used against *Tuta absoluta* in tomato crops, *Plutella xylostella* in cruciferous plants and *T. atovirilia* for controlling *Spodoptera frugiperda* in maize.

Defoliator caterpillars in *Eucalyptus* forest areas are controlled by predatory stink bugs, primarily by *Podisus nigrispinus* and *Brontocoris tabidus*. Forest companies with a private laboratory located in Minas Gerais state are mass rearing around 20,000 predatory bugs a month and releasing on average 2,000 predators/ha. In Minas Gerais state approximately 3,076,683 predatory adult bugs were released from 1989-2005. Also several other pests in forests are being controlled by the use of biological control agents in Brazil.

The total area under protected cultivation (greenhouses and polytunnels) in Brazil is about 35,000 ha and most of this area is used for the production of ornamentals. However, vegetables crops also play also an important role in greenhouse production. Currently, the predatory mite *Neoseiulus californicus* is used on around 15,000 ha with greenhouse crops and in orchards, to control the spider mite *Tetranychus urticae* in strawberry, rose, gerbera, daisy and chrysanthemum, as well as in peach and apple orchards. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* is used to control fungus gnat larvae *Bradysia matogrossensis* in citrus seedling production and in nurseries on several ornamental plants, such as azalea, anthurium and in mushroom production. In addition, the predatory

bug *Orius insidiosus* is used against thrips in chrysanthemum, potted gerbera, roses, and strawberries.

In general biological control in Brazil has been used by farmers with large plantations, but it is now also used by small and medium scale family farmers. In some cases, these small and medium scale farmers have been working together in co-operatives and through these co-operatives are starting to mass rear natural enemies and distribute them to the farmers who are members of the co-operative. The mass rearing of the predatory mite *Neoseiulus californicus* against the red mite *Panomychus ulmi* are examples of this type of cooperation between apple farmers in the South of Brazil. They have built facilities for the mass rearing of the predatory mite in order to implement augmentative biological control of the apple red mite. Biological control was started in an area of 600 ha of apple orchards in 2001/2002 and increased to 7,200 ha in 2008. Biological control of the red mite showed a saving of US\$ 85 per hectare when compared to conventional chemical control.

Fungal control agents are also being produced, particularly in the sugar and alcohol production sector. Brazil has a major bioethanol industry. Private companies are producing the microbial control agent *Metarhizium anisopliae*, to act against spittlebugs like the leafhopper *Mahanarva posticata* and the froghopper *Mahanarva fimbriolata* that are found in around 5 million hectares of sugar cane. Other microbial control agents used are *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecani* against pests on several crops.

The use of the virus *B. anticarsiae* in Brazil against the soybean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* increased from 1983 to 2004, reaching an area of two million ha of soybean, but by 2011 the area of application had decreased to 300,000 ha, and today (2018) around 700,000 ha are applied with biological control. This drop in the use of biological control was related to the increase in the area cultivated with GMO soybean and also due to the lobbying of the chemical industry in Brazil.

Biological control is also increasingly being used to deal with plant diseases in Brazil. Different species of the antagonistic fungi *Trichoderma* are being used against the disease-causing microorganisms including *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Botrytis*, and *Crinipellis perniciosa* in bean, soybean, cotton, tobacco, strawberry, tomato, onion, garlic, ornamentals and cacao crops over about 5 million hectares. The fungal control agent *T. asperellum* targets soilborne pathogens *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* and *Macrophomina* in soybean, bean, and cotton crops. This fungal control agent is used on seed and soil treatments and can be sprayed by tractor, airplane and central pivot. The cost of biological control is about US\$ 30 dollars/ha with the use of *Trichoderma* while the cost of chemical fungicides is about US\$ 75 dollars/ha. The bacterial control agents *Bacillus subtilis* and *B. lechiformis* are used against the nematodes *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae* in potato and carrots crops. In 2018, 188 tons of microbiological products were commercialized, with 135,847,259 kilos of active ingredients produced in Brazil, with as most important species *Aspergillus flavus*, *Bacillus pumilis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*.

Several other programs of biological control are currently running in Brazil, as the use of the parasitoid *Ageniaspis citricola* to control the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*; the predatory ladybird beetle *Cryptolaemus montrouzieri* against the mealybug pest *Planococcus citri* in citrus orchards; the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*,

against a range of fruit flies species such as *Anastrepha* spp., *Ceratitis capitata* and *Batrocera carambolae*.

There are still enormous possibilities for biological control in Brazil. And, despite of the lobby of chemical industry, lack of more governmental support, lack of natural enemies for a number of pests in several crops, biological control sales are increasing around 20% a year in Brazil. There is no doubt that Brazil is playing and will play a great role in increasing the area of crop land under biological control, both in greenhouses and the field.



Ponencias Orales



Macrocontroladores

Evaluación del controlador biológico *Coenosia attenuata* sobre *Liriomyza* spp. y *Trialeurodes vaporariorum*

Elizabeth Urbano, Juan F. Pozo, Claudia Solano

Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE. Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, Ecuador. E-mail: reurbano@espe.edu.ec.

Palabras clave: *G. paniculata*, Mosca tigre, *S. Lycopersicum*.

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCIÓN

Coenosia attenuata es un controlador biológico considerado un depredador polífago, que se alimenta de diferentes estadios de insectos plaga como: larvas, pupas y adultos, incluidos aquellos voladores como el caso de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*), minador (*Liriomyza* spp) y áfidos (*aphididae*) (Clement, 2001). El objetivo principal del trabajo de investigación fue evaluar la eficiencia de *C. atenuatta* como controlador biológico en dos especies de importancia económica en el Ecuador: *Gypsophila paniculata* para control de *Liriomyza* spp, cultivada al aire libre en la zona del Quinche; y, *Solanum lycopersicum*, para el control de *T. vaporariorum*, bajo invernadero en la zona de Sangolquí.

Para el caso de *G. paniculata* se evaluó a *Liriomyza* spp., considerada una plaga de importancia en los cultivos ya que su manejo representa un costo alto en los sistemas de producción agrícola (Lopez, Carmona, Trumper & Huarte, 2015). Los métodos de control químico causan resistencia, afectan a la fauna nativa del lugar, incluyendo enemigos naturales que potencialmente pueden controlar las poblaciones de insectos plaga que afectan los cultivos. Salvoy y Valladares (2007), indican que *Liriomyza* spp. es una plaga de importancia económica alrededor del mundo.

En Ecuador, *Liriomyza* spp. y *T. vaporariorum*, son insectos plaga muy persistentes en diferentes zonas climáticas reportándose en altitudes hasta los 2740 m.s.n.m. (Hacienda El Prado IASA I) y presentes en diversidad de especies cultivadas, tanto a la intemperie como en áreas protegidas por invernaderos como es el caso de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para *G. paniculata*, se diseñó el experimento en dos fases, la primera a nivel de laboratorio que permitió establecer de forma controlada el número de individuos de *C. atenuatta* respecto del número de insectos plagas a ser controlados, para lo cual se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 5 tratamientos y 6 repeticiones. Los tratamientos fueron los siguientes: T1: 0 *Coenosia* + 5 *Liriomyza*; T2: 1 *Coenosia* + 5 *Liriomyza*; T3: 2 *Coenosia* + 5 *Liriomyza*; T4: 4 *Coenosia* + 5 *Liriomyza* y T5: 8 *Coenosia* + 5 *Liriomyza*.

La fase de experimento prevé la validación en campo de los resultados obtenidos en laboratorio, para lo que se utilizó un (DCA) con 4 tratamientos y 4 repeticiones, en donde: T0: evaluación de *C. attenuata*, presente ya en la finca con un promedio de 4 *Coenosia*/planta, T1: Testigo absoluto, T2: 2,08 *Coenosia*/planta, obtenida *T. vaporariorum* en laboratorio, T3: Químico (Rotación de insecticidas). En esta fase se midió la incidencia de la plaga durante el periodo vegetativo del cultivo desde la 4^{ta} a la

9^{na} semana, cuando la planta es más susceptible al ataque de *Liriomyza* spp. Al término de las 22 semanas del ciclo de cultivo se recopiló información sobre la calidad exportable de tallos/tratamiento.

Para el caso de la especie *S. lycopersicum*, se procede a implementar únicamente la segunda fase del experimento, en donde se evalúa el control de mosca blanca, *T. vaporariorum*, con la introducción del controlador biológico, en condiciones bajo invernadero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado de la primera fase del experimento realizada en laboratorio, reporta que se requiere de la liberación en promedio de 2,08 *Coenosia attenuata* /planta, para tener una eficiencia del 80% de control de *Liriomyza* spp. Para el caso de *S. Lycopersicum* la eficiencia fue del 41,37%, que considerando que el controlador biológico *Coenosia attenuata* se introdujo a un invernadero localizado en la Zona de Sangolquí, desde una zona agroecológica diferente, resulta ser una eficiencia interesante.

En la evaluación en campo el mejor tratamiento en cuanto a la variable tallos exportables corresponde al uso de *Coenosia attenuata*, seguido por el control químico (que es negativo usarlo como único mecanismo de intervención, debido a los reportes de perjuicio al ambiente y a los individuos que manipulan dichos productos). El manejo del experimento en campo, tiene la dificultad en el seguimiento, teniendo en cuenta la movilidad de los insectos depredadores y plagas, para lo cual se hizo imprescindible adecuar las parcelas con tul (tela con un tejido muy fino de seda, algodón o fibra, usado en velos de novia), a fin de tener un mayor control de la presencia de insectos controladores y plaga en los tratamientos.

Durante el desarrollo de las investigaciones y analizando la viabilidad de aplicación de *C. attenuata*, se detecta una brecha importante que debe ser abordada por los técnicos y comprendida por los inversionistas, relacionada con la limitación en cuanto al cambio radical de la tecnología de uso de químicos con relación a la aplicación de controladores biológicos, ya que el paso a una producción más limpia es un proceso que debe ser planificado en forma paulatina, y considerando las implicaciones que tiene en el caso de productos de exportación, como las especies ornamentales.

El segundo experimento en campo corresponde a la evaluación del control de mosca blanca, *T. vaporariorum* en *S. lycopersicum*, introduciendo la cantidad de *Coenosia attenuata* determinada en laboratorio, en donde se observa una menor eficiencia en el porcentaje de control, por lo que es fundamental continuar con investigaciones que permitan mejorar los procesos para alcanzar mayores niveles de control. Cabe destacar que cuando no existe suficiente alimentación, el controlador biológico tiene comportamiento de canibalismo, por lo que es fundamental investigar con mayor profundidad en sistemas para proveer suficiente cantidad de alimento de buena calidad para el controlador biológico.

CONCLUSIONES

Coenosia attenuata es un controlador biológico eficaz y sustentable, social y ambientalmente para el manejo de *Liriomyza* spp. y *T. vaporariorum* en los cultivos de *G. paniculata* y *S. lycopersicum* respectivamente. Para llegar a una sustentabilidad económica se requiere realizar una incorporación paulatina del controlador biológico que implica liberaciones controladas del mismo a nivel de campo. Dada la importancia e implicaciones ambientales y sociales, es fundamental continuar en el desarrollo de

metodologías de crianza comercial de controladores biológicos, a fin de liberar poblaciones en cantidades suficientes, que reporten niveles óptimos de control similares o superiores a los obtenidos en las investigaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clement, L. (2001). *Plagas y Enfermedades de los Cultivos de Flores Estrategias biológicas*. Bogota, Colombia: Ball Publishing y Ediciones hortitecnia Ltda.
- Lopez, R., Carmona, D., Trumper, E., & Huarte, M. (2015). *Comportamiento de la actividad alimentaria y de oviposición de liriomyza huidobrensis (blanchard) (diptera: agromyzidae), en variedades de solanum tuberosum l.* Recuperado el 10 de Septiembre de 2018, de <http://ojs.papaslatinas.org/index.php/rev-alap/article/view/222>
- Salvoy, A.; Valladares, G. R. (2007). *Introducción los parasitoides son insectos de complejas y fascinantes biología, cuyas larvas se alimentan de otros insectos, a los que causan la muerte para completar su desarrollo. Aunque pasan inadvertidos por su pequeño tamaño.* Recuperado el 11 de Septiembre de 2018, de Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. https://www.researchgate.net/publication/28213135_Parasitoides_de_minadores_de_hojas_y_manejo_de_plagas.

Reproducción de *Coenosia attenuata* para liberación en campo como controlador biológico

Juan Pozo Albán, Elizabeth Urbano Salazar, Claudia Solano Jaramillo

Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE. Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, Ecuador. E-mail: jfpozo3@espe.edu.ec

Palabras clave: Crianza, Sustrato y Alimentación.

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCIÓN

La metodología de producción de *Coenosia attenuata* es limitada, en vista de que es un controlador biológico, poco estudiado en el Ecuador y que logra impedir la acción destructiva de plagas que afectan a los cultivos de exportación y de consumo nacional. Una de las limitantes en su reproducción es la provisión de alimento de buena calidad que permita producir y liberar poblaciones que mantengan por debajo del umbral económico el ataque de las plagas y que se obtenga producción con calidad de exportación. El objetivo del trabajo fue recolectar información y experiencias relacionadas con la reproducción y alimentación del controlador biológico, y aplicarlas en campo, a fin de proveer de información válida y bajo condiciones reales de producción, a los floricultores con miras a la implementación y mantenimiento de programas de reproducción y liberación de *C. attenuata* en fincas como parte del manejo integrado de plagas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajos realizados en la Universidad Técnica de Lisboa (Fazenda Nunes, 2011), indican que las condiciones ambientales de cría ideales para *C. attenuata* es 23°C a 25 °C, 2500 lx ó 232,26 fc, 60% a 75% de HR y con un fotoperiodo de 14L: 10D. De igual forma, Martins (2011) y Martins, et al. (2015) indican que se debe realizar un acondicionamiento de la sala de cría para obtener individuos de *C. attenuata*, para lo que se debe mantener una temperatura media diaria de 23.0 ± 3.2 °C con una amplitud media diaria de 3.9 ± 0.2 °C, HR promedio de $65 \pm 10\%$ y fotoperiodo de 12L: 12D. Como sustrato de crianza se utilizó: tierra orgánica, fibra de coco y capas de tierra orgánica + fibra de coco; todos estos sustratos mezclados con heno previamente inoculado con *Pleurotus ostreatus*, para propagar en él larvas del mosco del mantillo o *Sciaridaes*, como fuente de alimento; mientras que, para el estado de adulto se utilizó *D. melanogaster* y *Sciaridaes*.

Tomando como referencia estos parámetros, en esta investigación se adecuó un sitio para mantener condiciones climáticas y de sustrato similares a las reportadas por los investigadores mencionados: automatización del sistema de control de temperatura y de conservación de la misma mediante el aislamiento de las puertas con espuma flex, implementación de nebulización para mantener las condiciones de HR, e instalación de una lámina de plástico transparente en el techo para mejorar la calidad y cantidad de luz en el interior de la sala de cría. Bajo estas condiciones climatológicas se obtuvo resultados similares a los reportados por Martins (2011), que fue obtener adultos de *C. attenuata* en un promedio entre 26 y 27 días, con una eficiencia del 52.9% de emergencia de adultos.

La cría de *Coenosia attenuata* se realizó en 22,5 m², en donde se ubicaron jaulas de madera de 30 x 30 x 50 cm., recubierta con una tela tipo “velo de novia”, a fin de retener los insectos, adicionalmente se ubicaron envases plásticos con un volumen de 1500 cm³,

de 15 x 20 x 5 cm, en donde se colocó el sustrato donde las hembras de *Coenosia attenuata* depositaron los huevos, dicho proceso fue adaptado con las experiencias reportadas por Martins, et al. (2012).

El sustrato dentro del proceso de la crianza de *C. attenuata* consistió en 50% fibra de café y 50% del sustrato compuesto por 60% turba + 40% zeolita, con lo que se logró obtener un material con capacidad de retención de humedad y características porosas adecuadas para la reproducción del controlador biológico, adicionando el alimento constituido en el caso de la investigación por larvas y adultos de *Drosophila melanogaster*, y *Liriomyza* spp.

Para la alimentación de *Coenosia attenuata*, se desarrolló la metodología de crianza de *Drosophila melanogaster*, que consistió en preparar 500 g de macerado de *Musa paradisiaca* (banano), aproximadamente 400 cm³ cada 4 días dejándolo por un periodo de 12 horas a la intemperie para que las hembras depositen sus huevos, estos servirán de nutrimento en estado de larva como adulto para *Coenosia attenuata*. De igual manera se implementó la cría de individuos adultos de *Liriomyza* spp., con fines de ser suplementado como alimento recolectándolos y propagándolos en micro invernaderos en donde se colocó plantas de *Vicia faba*, con el fin de que sean infestadas y tener constantemente generaciones nuevas para la alimentación del controlador biológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo cumplió con los objetivos propuestos de recolectar información y experiencias relacionadas con la reproducción y alimentación de *C. attenuata* para ser usado como controlador biológico, encontrándose que es importante diversificar la dieta alimenticia del controlador biológico con alimento como: *Drosophila melanogaster*, y *Liriomyza* spp, ya que se incrementa la reproducción, se inhibe el canibalismo que es habitual en *C. attenuata* cuando existe diversificación de alimento y alimento en cantidad suficiente, caso contrario el canibalismo se reporta en 47 %, adicionalmente se reporta una mayor vida útil del mismo en 17 días , se comprobó que se puede alimentar y reproducir el controlador bajo las condiciones climáticas probadas en el experimento y respaldada por los autores mencionados y aplicarlas en campo existiendo un bajo nivel de mortalidad en el proceso de traslado de la zona de crianza hacia el campo, sin embargo se recomienda profundizar en las investigaciones que involucre diferentes pisos climáticos y plagas a ser controladas, a fin de generar una metodología consolidada y de fácil implementación a nivel de fincas, de manera que los floricultores puedan implementar y mantener programas de reproducción y liberación controlada de *C. attenuata* como parte del manejo integrado de plagas.

CONCLUSIONES

Implementar sistemas de crianza del controlador biológico implica tener una área adecuaciones para control de temperatura, humedad relativa y luminosidad reportada en la investigación, adicionalmente se requiere personal capacitado para mantener un programa permanente de liberaciones al campo. Bajo estas condiciones de temperatura y con diversificación de alimento como larvas de *D. melanogaster* y *Sciaridae*s Se logra mantener un nivel de producción de controladores biológicos que permite implementar el sistema en fincas, con un control de hasta el 90%

La aplicación de programas integrados con uso de controladores biológicos retribuyen en la sustentabilidad de los cultivos de exportación, los precios de venta de los productos son mayores cuando existen programas de producción amigable con el ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Martins, J. (2011). Recuperado el 10 de Septiembre de 2018, de https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4057/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_JoM_C.attenuata_Definitiva.pdf
- Martins, J. (2011). *Coenosia attenuata Stein: Desenvolvimento de metodologias de criação e avaliação de taxas de predação sobre Diglyphus isaea (Walker)*. Recuperado el 10 de Septiembre de 2018, de https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4057/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_JoM_C.attenuata_Definitiva.pdf
- Fazenda Nunes, R. (2011). *Predação por mosca-tigre, Coenosia attenuata Stein*. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4149/1/TESE_raquel_corrigida-EF.pdf
- Martins, J., Domingos, C., Nunes, R., Garcia, A., Ramos, C., Mateus, C., & Figueiredo, E. (2012). *COENOSIA ATTENUATA (DIPTERA: MUSCIDAE): UM PREDADOR EM ESTUDO PARA UTILIZAÇÃO*. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5747/1/REP-RCA-Figueiredo%2c%20E.Coenosia-v35n2a23.pdf>
- Martins, J., Mateus, C., Ramos, A., & Figueiredo, E. (15 de Mayo de 2015). *An optimized method for mass rearing the tiger-fly, Coenosia attenuata*. Recuperado el 11 de Septiembre de 2018, de <https://www.eje.cz/pdfs/eje/2015/03/10.pdf>

Determinación del hábito parasítico de *Diaeretiella rapae* sobre el áfido *Brevicoryne brassicae* en diferentes plantas hospederas

Andrea N. Zamorano

Museo QCAZ-Sección de Invertebrados. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
E-mail: andrezamoranolopez@gmail.com

Palabras clave: Brassicaceae, interacción, parasitismo.

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de productos alimenticios orgánicos ha generado el interés por implementar nuevas estrategias para mitigar el perjuicio que causan las plagas en los cultivos. El control biológico con parasitoides surge como una alternativa viable.

El incremento de cultivos de col, brócoli y otras Brassicaceas de consumo en Ecuador; el rápido aumento de las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* (áfido de la col) en estos cultivos, y la creciente proyección de exportación de productos como el brócoli (MIPRO, 2012), justifican la importancia de la implementación de nuevas estrategias para minimizar las pérdidas económicas en cultivos, debidas a daños directos provocados por sus plagas.

La estrategia más usada contra las plagas es el control con químicos (Terán, 2011), con insecticidas como Confidor de Bayer® o Phyrisect de Euroagro S. A., para controlar áfidos, entre otros insectos plaga. Dada la creciente popularidad en la demanda de productos orgánicos (sin químicos añadidos) en mercados internacionales y nacionales, sin mencionar los posibles problemas de salud de los agricultores que se exponen a los agroquímicos (Anglada *et al.*, 2007), el control biológico puede representar una opción factible, segura y ecológica.

Los áfidos se reproducen por partenogénesis, lo que resulta en colonias clonales de varios individuos en poco tiempo (Terán, 2011). Tienden a alimentarse del floema de tejidos jóvenes (Costello y Altieri, 1995) impidiendo su desarrollo completo o hasta la muerte de la plántula. Aunque también pueden alimentarse de los fluidos de otras estructuras como las hojas, tallos, inflorescencias, hasta raíces de plantas adultas (Devi y Singh, 2007) causando un amarillamiento en hojas y la planta en general, lo que disminuye la productividad y el valor en el mercado del cultivo (Zhang y Hassan, 2003). Esta plaga, además, se ha considerado como un importante vector de varias enfermedades transmitidas por virus a las plantas (Bayhan *et al.*, 2007).

El desempeño del endoparásitoide *Diaeretiella rapae* como controlador del áfido *B. brassicae* depende de varios factores como la temperatura y la humedad (Fernández y Nentwig, 1997; Amini *et al.*, 2012). Además, la calidad del insecto plaga estaría directamente relacionada a la fecundidad, desarrollo, mortalidad, tamaño, “sex-ratio” y longevidad de sus parasitoides (Bayhan *et al.*, 2007). La planta, al afectar directamente al áfido, por su calidad nutricional e inclusive las características de sus hojas (grosor, pubescencia), también afecta indirectamente al parasitoide (Karami *et al.*, 2018).

Este estudio pretendió analizar el desempeño biológico de *D. rapae* al analizar ciertos rasgos de su fisiología, cuando parasita a áfidos alimentados de col, rábano, mostaza y nabo. Lo que podría evidenciar una posible influencia de la planta sobre el desempeño de los controladores biológicos —considerando el antecedente de que los áfidos

Brevicoryne, en efecto, varían fisiológicamente en dichas plantas Brassicaceas— (Terán, 2011). Además, se buscó aportar al conocimiento de *D. rapae* como herramienta para el control biológico de la plaga agrícola del pulgón ceniciento en algunas especies de Brassicaceas que crecen en la sierra ecuatoriana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se sometió a parasitación a áfidos criados en las cuatro especies de plantas mencionadas para comprobar los posibles cambios fisiológicos de las avispas eclosionadas. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de parasitismo (% *P*), longevidad (*L*), fecundidad diferencial (*FD*) y potencial, “sex-ratio”, peso seco y proporción machos:hembras, en los parasitoides. Además, se analizó la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de áfidos (*RM*). Los mismos se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) mediante un diseño de bloques completos al azar (DBCA) y un diseño completamente al azar (DCA), usando el programa estadístico SPSS[®] 18.0. Se ejecutó 10 repeticiones para cada tratamiento (rábano, col, mostaza y nabo, como control). Se calculó, para cada variable, el coeficiente de variación CV. Se utilizó la prueba de Friedman y transformación angular de datos para corroborar la variación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De todas las variables analizadas, sólo la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de áfidos (*RM*) ($p=0.000^{**}$); la fecundidad diferencial ($p=0.008^{**}$) y la longevidad ($p=0.008^{**}$) presentaron significación estadística.

La *RM* fue menor en rábano y mayor en nabo. El rábano tiene hojas grandes, pero abundantes tricomas, lo que complicaría su alimentación. Los áfidos de rábano tendieron a localizarse en las venaciones, exponiéndose a la microavispa. La sola presencia del parasitoide también puede generar un aumento en la mortalidad en los áfidos, mismos que pueden responder dejándose caer o desarrollando sus formas aladas (Oliver *et al.*, 2012).

La mostaza alcanzó el mayor % *P* con 39,69 %, y la col, el menor con 17,68 %. Amini *et al.* (2012) indica un % *P* de 89,7% para col y mostaza; 1,4 % en brócoli. Estas diferencias pudieron deberse a los componentes de la hoja, su morfología (Bayhan *et al.*, 2007) o a la complejidad estructural de la planta, puesto que comprometerían una resistencia en el forrajeo de las avispas en busca de los áfidos (Fernández y Nentwig, 1997). En la mostaza, las avispas encontraban a los áfidos y los parasitaban a los pocos minutos de entrar al frasco. En cambio, en la col, los áfidos tendían a agruparse en la yema apical y sus hojas enroscadas, en una especie de refugio. Además, el parasitoide, al forrajear, adquiere experiencia para responder a semioquímicos provenientes de la planta infestada, inducidos por el daño que le causan los áfidos (Bushra *et al.*, 2017), con lo que aumentaría el % *P*. Esto podría explicar la ausencia de diferencias entre tratamientos.

La *FD* (avispa eclosionada) fue mayor en nabo (13 %), y menor en el rábano (6,5 %). Tylianakis (2002) indica que la *FD* aumentó en *Aphidius rhopalosiphii* cuando se le proveyó fuentes de recurso alternas como plantas con flores. El nabo en el experimento presentó floración, pudiendo ser un mejor ambiente. Las bacterias simbiotas secundarias de los áfidos también impiden el desarrollo del parasitoide, lo que genera una castración en el áfido, pero permite su supervivencia (Le Ralec *et al.*, 2011; Oliver *et al.*, 2012). Además, Kant *et al.* (2011) sugiere que el superparasitismo puede conducir a una reducción en *FD*, al dividirse los recursos del áfido a varios huevos de avispa.

Las avispas criadas en mostaza vivieron más (16,14 días) y las del rábano, menos (8,6 días). La longevidad en estos parasitoides está influenciada, entre otros factores determinantes, por la calidad nutricional de la planta y la del áfido, además de toxinas secuestradas por el áfido (Bayhan *et al.*, 2007). En un sentido general, es usual que los individuos con altas tasas de desarrollo (menor *TD*) y de reproducción tengan una *L* más baja. Cada individuo adquiere una cantidad limitada de recursos tales como agua, nutrientes y energía que deberá dividir entre compuestos o estructuras con diferentes funciones (Batista, 2006). Este pudo haber sido el caso en el nabo, que albergó avispas con un menor *TD* y mayor *FD*, pero a su vez, son las que tienen menor longevidad.

La presencia de tricomas en las hojas de nabo, mostaza y rábano representarían un obstáculo para el desplazamiento de las avispas (mas no para los áfidos) (Bayoumy *et al.*, 2014). Por esta razón, es probable que las hembras tengan que gastar más energía para poder movilizarse entre los tricomas, por lo que su consumo metabólico aceleraría, así como su muerte (Chacón-Castro y López, 2010). Lo que se corroboró con los resultados muestran que mostaza y col fueron las plantas con avispas de mayor longevidad, y el rábano y el nabo las de menor longevidad.

A pesar de que ninguna de las plantas presentó un ambiente totalmente favorable para potenciar todas las variables analizadas, la mostaza, al tener avispas más longevas y con un alto % *P*, podría representar un ambiente más favorable para la crianza de *Diaeretiella rapae*. Los resultados tanto de *L* como de *TD* tienen su importancia metodológica y práctica ya que con estos se podría establecer protocolos de crianza, trasportación, manipulación de pupas o adultos para investigación o comercialización.

CONCLUSIONES

Se concluyó que *Diaeretiella*, en general, no presenta una influencia marcada en su fisiología o desempeño como controlador al parasitar áfidos criados en nabo, col, mostaza y rábano.

Este estudio aportó con conocimientos sobre la biología de *Diaeretiella* para el desarrollo del control biológico en el país, como una estrategia alternativa y ecológica de mitigación de plagas de cultivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amini, B., Madadi, H., Desneux, N. y Lotfalizadeh, H. A. 2012. Impact of Irrigation Systems on Seasonal Occurrence of *Brevicoryne brassicae* and Its Parasitism by *Diaeretiella rapae* on Canola. *J. Entomol. Res. Soc.* 14(2): 15-26.
- Anglada, M., Pereyra, C., Toledo, C., Pozzolo, O. y Herrera, M. 2007. Aplicación de Agroquímicos: Riesgos para los Trabajadores Agrarios. Proyecto de extensión "Uso Eficiente de Fitosanitarios". Universidad Nacional de Entre Ríos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Informe Técnico 2: 1-2.
- Batista, W. B. 2006. Dinámica de poblaciones, Capítulo 2 en M. van Esso (ed.), Ecología, Enseñanza con un Enfoque Novedoso, Editorial Facultad de Agronomía y Editorial Novedades Educativas, Buenos Aires, Argentina, pp. 29- 47.

- Bayhan, S. O., Ulusoy, M. R. y Bayhan, E. 2007. Is the parasitism rate of *Diaeretiella rapae* influenced when *Brevicoryne brassicae* feeds on *Brassica* plants? *Phytoparasitica* 32(2): 146-149.
- Bayoumy, M., Osman, M. y Michaud, J. 2014. Host Plant Mediates Foraging Behavior and Mutual Interference Among Adult *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) Preying on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Environmental Entomology* 43(5): 1309–1318.
- Bushra, S., Tariq, M., Naeem, M., Ashfaq, M., Bodlah, I. y Ali, M. 2017. Effect of Semiochemicals and Plant Extracts on Performance of Aphid Parasitoid, *Diaeretiella rapae*. *Pakistan J. Zool* 49(2): 615-621.
- Chacón-Castro, Y. y López, S. N. 2010. Biología de *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoide del complejo *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), en condiciones de laboratorio. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 69(1-2): 45-56.
- Costello, M. y Altieri, M. 1995. Abundance, growth rate and parasitism of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on broccoli grown in living mulches. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 52: 187-196.
- Devi, P. B. y Singh, T. K. 2007. Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Entomological Research.* 37: 81-85.
- Fernández, C. y Nentwig, W. 1997. Quality control of the parasitoid *Aphidius colemani* (Hym., Aphidiidae) used for biological control in greenhouses. *J. Appl. Ent.* 121: 447-456.
- Kant, R., Minor, M. A., Trewick, S. A. y Sandanayaca, W. R. M. 2011. Host selection for self-superparasitism by *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiidae). *New Zealand Plant Protection* 64: 37-43.
- Karami, A., Fathipour, Y., Asghar Talebi, A. y V.P.Reddy, G. 2018. Parasitism capacity and searching efficiency of *Diaeretiella rapae* parasitizing *Brevicoryne brassicae* on susceptible and resistant canola cultivars. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 21(4): 1095-1101.
- Le Ralec A., Ribulé, A., Barragán, A. y Outreman, Y. 2011. Host range limitation caused by incomplete host regulation in an aphid parasitoid. *Journal of Insect Physiology* 2619: 1-9.
- MIPRO, 2012. MIPRO apuntala exportación de brócoli a Europa (en línea). [www.comercioexterior.com.ec](http://comercioexterior.com.ec).
<http://comercioexterior.com.ec/qs/content/mipro-apuntala-exportaci%C3%B3n-de-br%C3%B3coli-europa> (Consulta el 6 de noviembre de 2012).
- Oliver, K. M., Noge, K., Huang, E. M., Campos, J. M. Becerra, J. X. y Hunter, M. S. 2012. Parasitic wasps responses to symbiont-based defense in aphids. *BioMedCentral Biology* 10 (11): 1-10.

- Terán, P. G. 2011. Influencia de la planta hospedera sobre la morfología y algunos aspectos fisiológicos del áfido ceniciento de la col *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Tylianakis, J. M. 2002. Ecological enhancement of an aphid parasitoid. Tesis de Masterado, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand.
- Zhang, W. Q. y Hassan, S. A. 2003. Use of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntoch) to control the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). J. Appl. Ent. 127: 522-526.

Control de la araña roja (*Tetranychus urticae* Koch) con *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* en rosas

Francisco J Báez, Diego A Vizcaíno, Johanna E Escobar

SEMIDOR CIA. LTDA. E-mail: franciscobaez86@hotmail.com

Palabras clave: bacteria, ácaros, compatibilidad

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCION

Entre los factores limitantes en la producción de rosas está el acaro *Tetranychus urticae*, como estrategia de control de esta plaga, se utilizan productos químicos que en ciertos casos son ineficientes y pueden generar resistencia (Larrea *et al.* 2015). Este ácaro succiona la savia de las células vegetales, provocando distorsiones y decoloraciones en las hojas (Ceniflores, 2008); sin embargo, cuando la densidad poblacional está en 15 ácaros/hoja, existe un incremento en la biomasa por producción de hojas y reducción considerable de tallos florales (Rojas, *et al.* 2011).

Las endosporas bacterianas de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*, contienen cristales de las proteínas llamadas delta-endotoxina y β -exotoxina. Después de la ingestión por los ácaros, se produce una disfunción intestinal debido a que las toxinas generan poros en la membrana celular produciendo desequilibrio osmótico y reduciendo la tasa de alimentación. La proteína β -exotoxina inhibe la síntesis de ARN compitiendo con ATP por sitios de unión, afectando la muda y causando efectos teratológicos en dosis subletales (Espinnase, *et al.* 2002). La mortalidad masiva del ácaro sucede entre los 3 y 7 días desde su ingestión, dosis subletales inhiben la alimentación, rompen los períodos de metamorfosis, disminuyen la prolificidad femenina y la viabilidad de la próxima generación (Sibbiopharm, 2017).

De esta manera, el propósito de este trabajo fue comparar el uso de un producto biológico a base de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* frente a la rotación normal de acaricidas utilizados en dos fincas florícolas, como pruebas complementarias en laboratorio se realizaron estudios de ciclo de vida del ácaro, ensayos de compatibilidad a diferentes dispersantes y viabilidad de la bacteria a distintos tipos de agua.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un análisis de calidad del producto a base de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* utilizando la técnica de diluciones seriadas y determinar su concentración en UFC g⁻¹. La finca florícola A estuvo ubicada en el cantón Cayambe a 2757 msnm y la finca B a 2877 msnm, ubicada en Tabacundo del cantón Pedro Moncayo; ambas en la provincia de Pichincha – Ecuador.

Los tratamientos evaluados fueron: testigo convencional (rotación de productos químicos) y biológico (producto bacteriano). Para el efecto, se seleccionaron 20 camas por cada tratamiento. Las variedades seleccionadas fueron Shukrani (Finca A) y Pink O'hara (Finca B). Se etiquetaron 5 plantas al azar por tratamiento y se muestrearon hojas de los tres tercios de cada planta. Se realizaron contajes de todos los estadios visibles en el foliolo apical, según metodología propuesta por Acosta (2000).

En la finca A se aplicaron dosis del producto biológico de 4 g L⁻¹, 2 g L⁻¹, 2 g L⁻¹ y 2 g L⁻¹ cada 11 días; se utilizó el coadyuvante a base de Extracto de *Menta piperina* y *Stacchys*

sylverrata (0.20 cc l⁻¹); en tanto que en finca B se realizaron tres aplicaciones a dosis de 5 g L⁻¹, 3 g L⁻¹ y 2 g L⁻¹ cada 8 días y se adicionó el coadyuvante (Oxido nonil fenol etileno 0.30 cc l⁻¹). Se efectuaron cuatro monitoreos, un inicial antes de la implementación, dos monitoreos antes de la segunda y tercera aplicación, y un final después de 15 días de la última aplicación. Los datos se analizaron utilizando el software estadístico InfoStat versión 2018, se realizó un ADEVA en Diseño Completamente al Azar (DCA) con 5 observaciones considerando poblaciones iniciales y finales, estadios y su distribución en la planta seleccionada en cada finca evaluada.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del ciclo de vida del ácaro *T. urticae*, en condiciones controladas de 21 ±2°C y humedad relativa entre 40 – 60 % fue de: huevo (8 - 11 días), larva (4 – 6 días), protoninfa (4 – 11 días), deutoninfa (5 – 9 días) y adulto inmaduro (1 – 7 días). El tiempo medio del ciclo de vida desde huevo adulto inmaduro fue de 32 – 40 días.

Según prueba de Tukey 5%, tabla 1, en finca A se observó que a pesar de que los dos tratamientos iniciaron con similar población de ácaros (Biológico = 6.50 ácaros foliolo⁻¹ y Testigo = 6.40 ácaros foliolo⁻¹), estas se redujeron significativamente después de 55 días de tratamiento con la bacteria (0.17 ácaros foliolo⁻¹), en contraste con testigo que presentó un incremento (8.92 ácaros foliolo⁻¹), es decir los acaricidas utilizados no fueron eficientes. Por otra parte, *B. thurigiensis* var. *thurigiensis* al actuar por ingestión elimina estadios móviles a partir de la primera y segunda aplicación, y tiene control sobre larvas recién eclosionadas con las dos últimas aplicaciones.

El estadio de huevo fue el más numeroso al inicio del ensayo (Biológico = 17.33 huevos foliolo⁻¹ y testigo = 16.07 huevos foliolo⁻¹), sin embargo presentó una reducción significativa en el tratamiento biológico (2.27 huevos foliolo⁻¹) en contraste con testigo que se incrementó (25.20 huevos foliolo⁻¹), esto fue debido al control de estados maduros en las dos primeras aplicaciones. Se registró presencia de todos los estadios en cada tercio de las plantas seleccionadas al inicio del ensayo; reduciéndose significativamente en los tres tercios del tratamiento biológico, en contraste con el tratamiento testigo que presentó un incremento en el tercio bajo (25.10 ácaros foliolo⁻¹).

En la finca B, se reportó una población inicial superior en el tratamiento biológico (69.87 ácaros foliolo⁻¹) en comparación con el testigo (21.40 ácaros foliolo⁻¹); después de 39 días las poblaciones se redujeron significativamente (Biológico= 2.07 ácaros foliolo⁻¹ y testigo= 5.00 ácaros foliolo⁻¹), es decir los tratamientos fueron efectivos, en el caso de la bacteria las dos primeras aplicaciones eliminaron estados móviles y la tercera tuvo efecto sobre larvas recién eclosionadas. El estadio de huevo fue el más numeroso en el muestreo inicial (Biológico= 138.33 huevos foliolo⁻¹), presentando al final una reducción significativa (2.27 huevos foliolo⁻¹), debido a la eliminación de estadios móviles (1.27 ninfas foliolo⁻¹ y 2.67 adultos foliolo⁻¹). Se registró mayor presencia de los ácaros en el tercio medio de las plantas seleccionadas (123.13 ácaros foliolo⁻¹), reduciéndose significativamente en el tratamiento biológico (3.80 ácaros foliolo⁻¹).

Pruebas complementarias

El producto biológico presentó una concentración mínima de 2.0 x 10¹¹ UFC g⁻¹. coadyuvantes como (aquil aril poliglico éter (0.5 cc l⁻¹), silicio modificado (0.6 cc l⁻¹), heptametiltrisiloxano (0.15 cc l⁻¹), trisiloxano 0.20 cc l⁻¹), (eter fenol poliglicolico 0.50 cc l⁻¹), (alquil areno sulfanato 0.30 cc l⁻¹) y (oxido nonil fenol etileno 0.30 cc l⁻¹); presentaron efecto bactericida. Por otra parte, polieter polimetilsiloxano 0.15 cc l⁻¹, extracto de *Menta*

piperina y *Stacchys sylverrata* 0.50 cc l⁻¹ y tetrasoloxano 0.15 cc l⁻¹, tuvieron efecto bacterioestático. Las pruebas de efecto de diferentes tipos de agua, determinaron que niveles de pH comprendidos entre 5.5 y 7.5, conductividad eléctrica entre 0.22 μ S – 1.19 μ S, niveles de dureza entre 72 – 270 ppm, cloro entre 0.16 – 1.23 ppm y milivoltios entre 280 – 614 Mv, son considerados óptimos para la bacteria durante su aplicación.

Tabla 1. Prueba de Tukey 5% para individuos por foliolo de *T. urticae* durante la aplicación de *B. thurigiensis* var. *thurigiensis* en dos fincas florícolas de la provincia de Pichincha. Oyambarillo, Quito, Pichincha, Ecuador. 2018.

		FINCA A				FINCA B			
		BIOLÓGICO		TESTIGO		BIOLÓGICO		TESTIGO	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
		6.50 B	0.17 B	6.40 B	8.92 A	69.87 A	2.07 B	21.40 B	5.00 B
Estadios	Huevo	17.33 B	0.00 D	16.07 C	25.20 A	138.33 A	2.27 B	37.80 B	9.67 B
	Ninfa	1.77 D	0.33 D	3.37 D	2.40 D	53.47 B	1.27 B	14.60 B	1.40 B
	Adulto	5.13 D	0.00 D	2.80 D	5.67 D	17.80 B	2.67 B	11.80 B	3.93 B
Tercio	Bajo	8.40 C	0.33 C	15.17 B	25.10 A	62.87 B	2.40 B	8.73 B	13.67 B
	Medio	10.80 C	0.00 C	3.83 C	4.30 C	129.13 A	3.80 B	52.27 B	1.33 B
	Alto	5.03 C	0.00 C	3.23 C	3.87 C	17.60 B	0.00 B	3.20 B	0.00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

CONCLUSIONES

La bacteria de *B. thurigiensis* var. *thurigiensis* mostró alto nivel de eficiencia para el control del ácaro *T. urticae*, en comparación con productos químicos utilizados en rotación normal de las dos fincas florícolas. Ciertos coadyuvantes presentaron efecto bactericida o bacteriostático sobre las colonias bacterianas, permitiendo definir compatibilidad con el producto biológico. Parámetros del agua como pH, conductividad eléctrica, dureza y niveles de cloro, deben considerarse antes de la aplicación de la bacteria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, A. 2000. Escrito sobre lo que seguramente usted ya ha oído de los famosos ácaros *Tetranychus* spp. Bogotá: Novartis.
- Centro de Innovación de la Floricultura Colombiana (CENIFLORES), 2008. Manejo Integrado de los Ácaros en Ornamentales. Bogotá, Colombia. 83 p.
- Espinnase, S., Gohar, M., Chaufaux, J., Buisson, C., Perchat, S., Sanchis, V. 2002. Correspondence of High Levels of Beta-Exotoxin I and the presence of *cryI B* in *Bacillus thurigiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(9): 4182-4186.

- Larrea, I., Falconí, C., Arcos, A. 2015. Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. con actividad contra *Tetranychus urticae* Koch en cultivos comerciales de rosas. *Revista Colombiana Biotecnología*. 17(2): 140-148.
- Lecadet, M. 1970. Bacillus thuringiensis toxins: The proteinaceous crystal. *Microbial toxins*. Monti T, S. Kadus S, Ajl S (eds) (5): 437-471.
- Rojas, F., Torres, P., Rodríguez, D., Cantor, F. 2011. Efecto de tres densidades de *Tetranychus urticae* (Acari : Tetranychidae) sobre el crecimiento de plantas de rosa (en línea). Disponible en: <http://biblioteca.uniminuto.edu/ojs/index.php/Inventum/article/viewFile/383/380> . (Consulta el 05 de Septiembre del 2018). Quito, Ecuador. 6 p.
- Sibbiopharm Ltd, 2017. Bitoxybacillin TM, Biological Insecticide. Disponible en: <http://en.sibbio.ru/catalog/crop/bitoksibatsilin/> (Consulta el 06 de Septiembre del 2018). Novosibirsk, Rusia.

Liberación óptima de enemigos naturales para control de *Liriomyza huidobrensis* en *Gypsophila* sp.

Julia K. Prado, Alex Anrango, María J. Romero, Miguel A. Gómez,

Carrera de Agropecuaria, Universidad Técnica del Norte. E-mail:
jdimbaquingo@utn.edu.ec

Palabras clave: *Diglyphus*, *Coenosia*, aspiradora

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCIÓN

De la producción total florícola ecuatoriana, el 77% representan las rosas en distintas variedades y el 23% restante lo conforman las flores de verano y una de las más importantes la *Gypsophila* sp. representa el 55% de la producción mundial. El minador (*Liriomyza huidobrensis*) es un insecto que ocasiona pérdidas económicas en los cultivos de ornamentales e intercepciones en los puertos de exportación (AGROCALIDAD, 2010). Las exigencias del mercado internacional de las últimas décadas se enfoca en la búsqueda de alternativas de manejo que incluye la implementación del control biológico como parte del manejo integrado (Minkenberg y Van Lenteren, 1986).

Los agentes de control biológico, *Diglyphus isaea* y *Coenosia attenuata* Stein, han mostrado un eficiente control sobre minador en *Gypsophila* sp. (Téllez y Tapia 2006, Musundire et al. 2012). Estudios indican la efectividad de *D. isaea* en donde se encuentra hasta un 95% de parasitismo en minador bajo un adecuado manejo del enemigo natural (Peña, 1988). Uguine et al. (2010), mencionan que las larvas de *C. attenuata*, al igual que los adultos son polípagos, los intentos de criarlos en una variedad de dietas se han traducido en muy diferentes grados de éxito.

En la actualidad en las fincas florícolas se ha implementado la captura de minador y la liberación de enemigos naturales por medio de las aspiradoras industriales, como parte de un manejo integrado. El problema radica en la no efectiva liberación de *D. isaea* y *C. attenuata*, debido a que se aspiran todos los insectos, para luego depositarlos en cilindros para su posterior liberación. Durante este proceso, el tamaño de malla puede ocasionar la liberación no solo de los parasitoides sino también de la plaga y producir mortalidad de *Coenosia*. La presente investigación busca optimizar el método de liberación de parasitoides, utilizando diferentes tamaños de mallas considerando los tiempos de liberación de los enemigos naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en una Finca Florícola ubicada en Cotacachi y comprende dos fases: La primera fase se efectuó en laboratorio y se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y dos réplicas, en donde se dispuso de tres tipos de mallas (Tabla 1) colocadas en los extremos de un cilindro que consiste en un tubo PVC de 4 pulgadas de 20 cm de largo. El cilindro está colocado dentro de una cámara de 1m de largo, 0.50 m de ancho y 0.50 de alto. El objetivo del cilindro es capturar el mayor número de minadores y permitir la liberación de la avispa parasitoide hacia la cámara cubierta con tul.

Se colectaron las muestras de insectos en los invernaderos por medio de las aspiradoras industriales que consta de un motor de 2 HP, un tubo de manga y una malla de recolección. Posteriormente esta muestra se introduce en las cámaras cilindros, cubriendo

cuidadosamente los extremos con láminas plásticas transparentes para evitar su escape hasta trasladarlas hacia la zona de propagación y colocar el cilindro en el interior de las cámaras grandes para su evaluación para cada nivel y repetición.

Tabla 1. Caracterización de los tipos de mallas evaluadas en laboratorio

Nivel	Tipo de malla	Área del orificio (mm ²)	Número de orificios /cm ²
N1	Blanca gruesa	1.00	96
N2	Blanca delgada	0.96	104
N3	Nylon beige	0.65	154

A partir de los resultados de laboratorio, se seleccionó la malla color beige con orificios de 0.65 mm² de diámetro y se colocaron en los extremos de los cilindros, los mismos que se ubicaron en los invernaderos. Los tratamientos para esta fase fueron distribuidos en invernaderos con plantas pequeñas de *Gypsophila* sp. se distribuyeron en tres tratamientos: cilindro horizontal, cilindro vertical y el invernadero testigo en donde no se colocan cilindros de liberación. Se evaluó con frecuencia quincenal el número de minadores y parasitoides por medio de placas acrílicas en campo. Los análisis estadísticos se realizaron empleando Modelos Lineales Generales y Mixtos en el programa Infostat versión 2015 (Di Rienzo et al. 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que para el cilindro y la cámara grande no existe diferencia en la liberación de *D. isaea* entre los tipos de mallas, el porcentaje alcanza aproximadamente 90%; sin embargo, para la captura de minadores en el cilindro, la malla de 0.65 mm² presentó mayor número de minadores con un porcentaje de 71.44, comparado con 51 y 27% en las mallas de 0.96 y 1 mm², respectivamente ($p < 0.0029$). Kehrlí et al. (2005) señalan que se puede ajustar el área del orificio de liberación según el tamaño del insecto benéfico, cuyo fin es aumentar la población de enemigos naturales locales y provenientes de los alrededores.

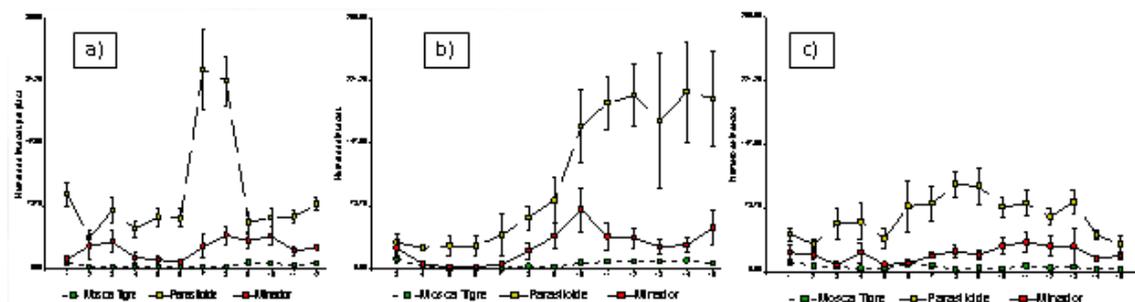


Figura 1. Dinámica poblacional en placas acrílicas de *D. isaea*, *Liriomyza huidobrensis* y *Coenosia attenuata* en los invernaderos con: a) cilindro vertical, b) cilindro horizontal y c) sin cilindro.

Los resultados en campo utilizando la malla de 0.65 mm² en los cilindros mostraron interacción entre semana y forma de ubicación del cilindro ($p = 0.0001$) para la variable población de insectos. En el invernadero donde se encuentra el cilindro vertical, los parasitoides alcanzan hasta 235 parasitoides por placa (Fig. 1a); mientras que, en el invernadero con cilindro horizontal el número de parasitoides se mantienen a lo largo del

tiempo en 200 individuos por placa (Fig. 1b). Por otro lado, en el invernadero sin cilindro para liberación, se obtuvo hasta 100 parasitoides por placa (Fig. 1c).

CONCLUSIONES

Los resultados no muestran diferencias estadísticas en la liberación de parasitoides entre los tres tamaños de orificio de dimensiones (1.00 mm², 0.96 mm² y 0.65 mm²) en laboratorio; sin embargo, se presenta una mayor captura de minadores utilizando mallas con orificios de 0.65 mm² de diámetro. Utilizando este tipo de mallas se observó mayor liberación del parasitoide *D. isaea* en campo mediante el monitoreo en placas acrílicas. Para la mosca tigre no se registraron poblaciones significativas. La mosca tigre se libera después de 48 horas de colocar en los cilindros las muestras de los insectos aspirados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD). (2010). *Requisitos fitosanitarios y declaraciones adicionales oficiales para plantas y productos vegetales que se exportan de Ecuador*.
- Kehrli, P., Lechmann, M., y Bacher S. (2005). Mass-emergence devices: a biocontrol technique for conservation and augmentation of parasitoids. *Biological Control* 32: 191-199
- Minkenbergh, O. y Van Lenteren, J.C. (1986). *The leafminers Liriomyza Brioniae and L. trifolii (Diptera: Agromyzidae), Their parasites and host plants*. Department of Entomology, Agricultural University Wageningen Pappers, The Netherlands 86-2.
- Musundire, R., Chabi-Olaye, A., Salifu, D. y Kerstin Kruger. (2012). Host plant-related parasitism and host feeding activities of *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza sativae*, and *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of Economic Entomology*, 105(1), 161-168.
- Peña, M.A. (1998). Primeras experiencias de lucha biológica contra *Liriomyza trifolii* (Burg.) (Diptera: Agromyzidae) con *Diglyphus isaea* (Walk) (Hymenoptera: Eulophidae) en las Islas Canarias. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 14, 439-445.
- Rodríguez, M.P, Sánchez, M.M., Navarro, M. y Aparicio, V. 2003. *Aphidius colemani*
- Téllez, M. y Tapia, G. (2006). Acción depredadora de “*Coenosia attenuata*” Stein (Diptera: Muscidae) sobre los otros enemigos naturales en condiciones de laboratorio. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 32(4), 491-498.
- Ugine, T., Sensenbach, E., Sanderson, J., y Wraight, S. (2010). Biology and feeding requirements of larval hunter flies *Coenosia attenuata* (Diptera: Muscidae) reared on larvae of the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Journal of economic entomology*, 103(4), 1149-58.

Uso de sustratos para la cría y reproducción de *Coenosia attenuata*

Alex E. Anrango, Julia K. Prado, María J. Romero, Miguel A. Gómez, Ima Sánchez,
Ricardo Félix

Carrera de Agropecuaria, Universidad Técnica del Norte. E-mail:
aeanrangos@utn.edu.ec

Palabras clave: mosca tigre, depredación.

Área temática: Macrocontroladores.

INTRODUCCIÓN

La mosca tigre *Coenosia attenuata* (Díptera: Muscidae), es una predadora polífaga que se alimenta de adultos de insectos de entre los cuales se encuentran adultos de mosca blanca, minadores y esciáridos, plagas de gran problemática en semilleros hortícolas y ornamentales (Bautista et al. 2017, Téllez y Tapia 2007). Los adultos capturan y depredan presas que vuelan, mientras que las larvas se desarrollan en suelos húmedos, alimentándose principalmente de larvas (Bautista et al. 2017), son utilizadas en programas de control biológico en diferentes cultivos, incluyendo el cultivo de flores (Pohl et al., 2012).

En la cría de mosca tigre se considera la alimentación de las larvas y adultos, con una variedad de plagas, debido a que ambos estadios son considerados caníbales (Hoebeke et al. 2003), disponer de la cantidad suficiente de presas, demanda mucho tiempo y dedicación. En la mayoría de cría en masa se utiliza como presa, larvas del díptero fungus gnats o mosca negra *Bradysia difformis* y adultos de minador de la hoja *Liriomyza* sp. (Martins et al. 2015; Ugine et al. 2010).

En Ecuador existen pocos estudios sobre metodologías establecidas para la cría de esta especie en laboratorio o invernadero, sin embargo, en numerosos países se está realizando cría y liberación de mosca tigre en programas de control biológico aumentativo en los agrosistemas (Nicholls, 2008; Couri y Salas, 2010). Varios estudios sobre su metodología de cría y comportamiento de alimentación, indican que se deben cumplir ciertos parámetros ambientales y nutricionales (Mateus, 2012; Bonsignore, 2016), además de conocer los sustratos ideales para la ovoposición, y que beneficien en el desarrollo de larvas, lo que ocasiona aún más difícil el establecimiento (Pinho et al. 2008). El presente estudio tiene como objetivo evaluar el sustrato óptimo para la cría y reproducción de mosca tigre para iniciar e incentivar la conservación y la aplicación del control biológico y evitar el uso de productos químicos para el control de insectos plaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en una Finca Florícola en el sector Chavezpamba, cantón Quito. Para la evaluación se utilizaron 48 cajas con esqueleto de acero forrados con malla anti-áfidos distribuidas en un diseño en bloques completos al azar, en donde se colocaron cinco kilogramos de sustrato, 12 cajas con fibra de palma, 12 con fibra de palma más estiércol vacuno y 12 con humus más suelo y 12 con estiércol de vacuno. En las primeras 12 cajas se colocaron 20 hembras adultas de mosca tigre capturadas con aspiradores durante tres días, y se colocaban 15 machos en cada caja.

Las observaciones se iniciaron desde la ovoposición cada tres días, durante 30 días. Para el conteo de individuos se colectó una muestra de un kilogramo de cada caja para evaluar la presencia de larvas o pupas con una lupa estereoscópica 30x. Si están presentes en el sustrato, se realiza el traslado de la gaveta con el sustrato al área de cajas para larvas o pupas. Los análisis estadísticos para análisis de varianza se realizaron empleando Modelos Lineales Generales y Mixtos en el programa Infostat versión 2015 (Di Rienzo et al. 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura promedio en el invernadero varió en rangos de $19\pm 5^{\circ}\text{C}$ y 30 ± 5 entre las 8:00-18:00 horas. Mientras que, en los sustratos los rangos de $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ y 70 % Humedad relativa (HR) para eclosión del huevo, $25^{\circ}\text{C}\pm 5$, 70 % HR desarrollo de larva y pupa; y para eclosión de pupa $30^{\circ}\text{C}\pm 5$ y 70 %HR.

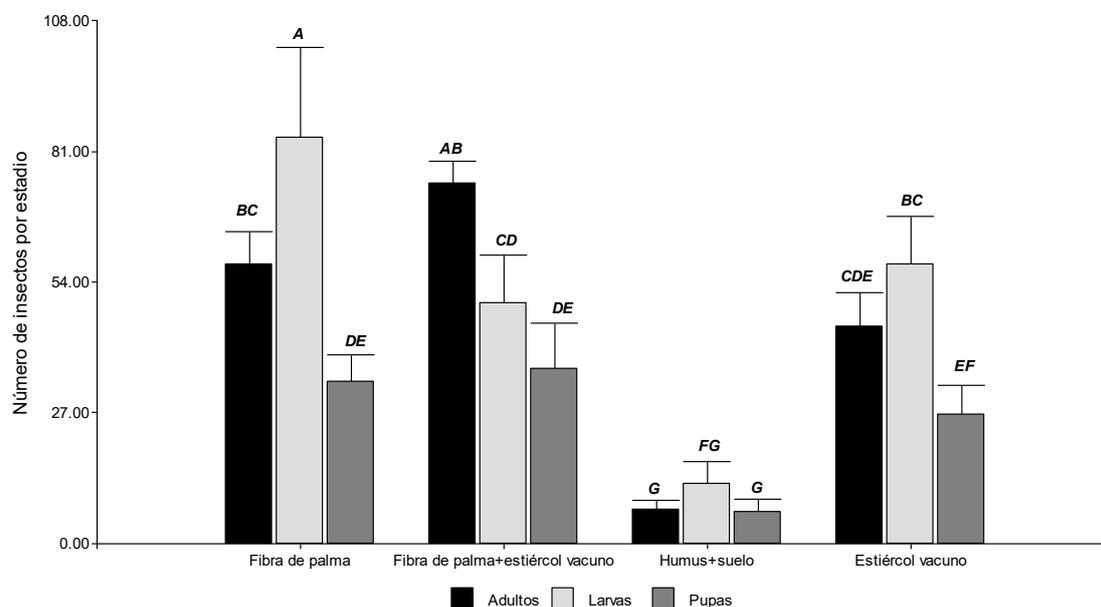


Figura 1. Número de insectos por estadio en los sustratos en evaluación: fibra de palma, fibra de palma+estiércol vacuno, humus+suelo y estiércol vacuno.

Los resultados mostraron una diferencia significativa entre el sustrato y los estadios de la mosca tigre, observando emergencia de larvas, pupas y adultos en todos los sustratos ($p=0.0017$). Se encontró más larvas en el sustrato con fibra de palma en comparación a los otros tratamientos; el número de adultos emergidos fue mayor en la fibra de palma+estiércol vacuno con respecto a humus más suelo y estiércol vacuno; sin embargo, fueron similares a la fibra de palma (Fig. 1). Se presentaron mayor número de pupas en los sustratos que incluyen fibra de palma y estiércol vacuno. Por otro lado, en los sustratos de fibra de palma y el que incluye estiércol se obtuvo 90% de eclosión de los huevos; mientras que, en el de humus más suelo alcanzó 15%. A los seis días de postura de huevos emergen las larvas, de larva a pupa presentó una duración de 11 días en promedio y de pupa a adulto alrededor de 12 días; completando su ciclo biológico en aproximadamente 29 días. Estudios similares indican que el ciclo biológico de la mosca tigre muestra una duración de 27 días a 25°C (Kühne y Heller, 2010).

CONCLUSIONES

En general los sustratos que incluyen fibra de palma y estiércol vacuno presentaron mayor cantidad de individuos de mosca tigre, así como el porcentaje más alto de eclosión de huevos. Uno de los parámetros importantes a considerar es la cantidad de presa o alimento, por lo que puede presentarse canibalismo entre los adultos por la agresiva acción depredadora de la mosca, por lo que disponer de las presas para evitar este tipo de comportamiento es fundamental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bautista, N., Illescas, C.P. y García, C.D.J. (2017). First report of “hunter-fly” *Coenosia attenuata* (Diptera:Muscidae) in Mexico, *Florida Entomologist*, 100(1), 174-175.
- Bonsignore, C.P. (2016). Environmental factors affecting the behavior of *Coenosia attenuata*, a predator of *Trialeurodes vaporariorum* in tomato greenhouses. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 158(1), 87-96.
- Couri, M.S. y Salas, C. (2010). First record of *Coenosia attenuata* Stein (Diptera:Muscidae) from Chile, with biological notes. *Revista Brasileira de Entomologia*, 54-55(1), 144-145.
- Hoebeke, E.R., Sensenbach, E.J., Sanderson, J.P. y Wraight, S.P. (2003). First report of *Coenosia attenuata* Stein (Diptera:Muscidae), an Old World “hunterfly” in North America. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 105(3), 769-775.
- Kühne, S. y Heller, K. (2010). *Sciarid fly larvae in growing media. Biology occurrence, substrate and environmental effects and biological control measures*. Peat in Horticulture-Life in growing media by G Schmilewski, International Peat Society, Amsterdam, 95-102
- Martins, J., Mateus, C., Ramos, A.C. y Figueiredo, E. (2015). An optimized method for mass rearing the tiger-fly, *Coenosia attenuata* (Diptera:Muscidae). *European Journal of Entomology*, 112(3), 1-7.
- Mateus, C. (2012). Bioecology and behavior of *Coenosia attenuata* in greenhouse vegetable crops in the Oeste region, Portugal. *Bulletin of Insectology*, 65(2), 257-263.
- Nicholls, C. (2008). *Control biológico de insectos, un enfoque agroecológico*. Ciencia y Tecnología, Universidad de Antioquia.
- Pinho, V., Mateus, C., Rebelo, M.T. y Kühne, S. (2008). Estudo da eficácia de *Coenosia attenuata* (Diptera:Muscidae) como agente de luta biológica relativamente a *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera:Aleyrodidae) em hortícolas de estufa. *Boletim de Sanidad Vegetal, Plagas*, 35(2),
- Pohl, D., Kühne, S., Karaca, I. y Moll, E. (2012). Review of *Coenosia attenuata* Stein and its first record as a predator of important greenhouse pests in Turkey. *Phytoparasitica*, 40(1), 63-68.
- Téllez, M. y Tapia, G. (2007). *Compatibilidad Coenosia attenuata con diversas materias activas y otros enemigos naturales*. XXXVII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura Almería, 931-938.

Ugine, T., Sensenbach, E., Sanderson, J. y Wright, S. (2010). Biology and feeding requirements of larval hunter flies *Coenosia attenuata* (Diptera:Muscidae) reared on larvae of the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera:Sciaridae). *Journal of Economic Entomology*, 103(4):1149-58.



Microbiológicos

Manejo de enfermedades fúngicas mediante el uso de microorganismos y cationes en cultivo de brócoli

Gustavo A. Moreno

Agroindustria La Argentina. E-mail:mogaguad71@gmail.com

Palabras clave: Fertilización, Crucíferas, *Trichoderma* sp.

Área temática: Microbiología.

INTRODUCCION

El Brócoli (*Brassica oleracea* var *italica*) a decir de la Asociación Ecuatoriana de Productores de Frutas y Legumbres (APROFEL), está considerado el principal cultivo de exportación en la Sierra Central ecuatoriana luego de flores, dada su importancia económica, el manejo sostenible en el tiempo es el principal problema a resolver. Tratándose de un monocultivo intensivo, hongos como *Plasmodiophora brassicae*, *Alternaria* sp., *Cercospora* sp. y *Botrytis* sp. causan enfermedades que llegan a reducir más de un 30% el rendimiento exportable.

Pocas empresas apuestan a una transformación de los sistemas de producción, como son uso de riego por goteo, incorporación de microorganismos, fertilizaciones puntuales; lo que ha provocado o bien un deterioro de los volúmenes o un incremento en los costos de producción, así como un daño al medioambiente en el cual se desarrolla la actividad.

Bajo la premisa de un cultivo libre de pesticidas hace 18 años, se inició la explotación de brócoli en Salcedo Cotopaxi, llegándose a determinar que el manejo de bio-pesticidas involucra más que un cambio en el uso de agro-químicos, sino que plantea otra visión en labores culturales, abonado, fertilización, riego, monitoreos fenológico y sanitario, aplicaciones sanitarias puntuales, manejo de ecosistemas aledaños al cultivo y respeto al ambiente circundante.

Se expone el trabajo realizado para conseguir una producción en volumen y calidad exportables con el menor impacto sobre el ambiente, mediante el uso de microorganismos, fertilización y labores culturales.

METODOLOGIA

Una primera etapa consistió en aislar cepas de *Trichoderma* sp. y *Beauveria* sp. nativas del suelo de cultivo, realizándose pruebas in vitro de eficiencia sobre los hongos *Cercospora* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp., las cepas fueron conservadas por liofilización, este trabajo se efectuó en conjunto con técnicos del Instituto de Investigaciones Agro Pecuarias (INIAP).

Se elaboraron cuadros a detalle del desarrollo fenológico del cultivo, esta información se usó para pruebas de correlación que, determinaron las características que definen el rendimiento. Este trabajo se llevo a cabo durante un año con mediciones diarias.

Se realizaron análisis por ciclo de cultivo del suelo y hojas de las plantas con mejores características fenológicas, para obtener parámetros propios comparativos a futuro, así mismo se determinó los requerimientos mínimos por elemento nutricional a los que el cultivo llega a rendimiento de 21 ton ha⁻¹, con estos se elaboró la tabla de óptimos nutricionales para la variedad en la zona de cultivo.

Se monitoreo semanalmente el estado sanitario de enfermedades y plagas, señalando su incidencia, severidad, ubicación y estado de desarrollo de los insectos. Esta información se relacionó con datos de temperatura (Grados Día).

Se elaboro el calendario de aplicación, atado al desarrollo de los individuos plaga lo que determino los momentos de aplicación de microorganismos o insecticidas sintéticos más oportunos para el control.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se encontró que existe una correlación de 0,9 para producción versus diámetro de tallo y de 0,92 para producción versus largo de tallo, siendo las dos únicas variables determinantes en los rendimientos finales, lo que ayudo a seleccionar las mejores plantas fenotípicamente.

Incorporación de materia orgánica, en forma de compost a razón de 3 ton ha⁻¹ por ciclo de 100 días, fue necesaria para la supervivencia de los microorganismos en el suelo. Los microorganismos fueron incorporados al suelo usando el sistema de riego por goteo a partir del día 42 de cultivo. *Trichoderma* sp. logró una supervivencia del 80% en suelo hasta por 20 días por lo que se re inoculo cada 7 días de manera independiente al fertilizante, a razón de 1 kg ha⁻¹ en concentración de 2,9 x 10⁹ UFC g⁻¹ lo que demostró un control de 90% para enfermedades del suelo (*Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*). La lamina de riego diaria usada fue de 2,3 mm. misma que responde al requerimiento del cultivo, con un Kc 1,2 para la etapa final.

Siendo un monocultivo de exportación, no se pudo pensar en asociación con vegetales por tanto se manejó el ecosistema circundante al cultivo, lo que involucro la elección de plantas de borde, dando prioridad a las de floración, (cholan, chilca, molle, manzanilla, tilo) así como el respeto a sotobosques de especies nativas, los que atraen y resguardan un mayor número de insectos y aves, a diferencia de bosques de eucalipto, pino o ciprés. En general se observo que mantener ecosistemas atractivos para enemigos naturales y zonas húmedas, atraen mayor número de insectos (libélulas, crisopas, coleópteros), pájaros y murciélagos. Un sotobosque continuo fue importante para favorecer el libre movimiento de predadores y parasitoides por todo el predio, lo que incremento el control natural.

Aplicaciones foliares de *Trichoderma* sp. a dosis de 5 kg ha⁻¹ en concentración de 2,9 x 10⁹ UFC g⁻¹ dieron un control de 70% para enfermedades fúngicas foliares (*Alternaria* sp., *Cercospora* sp.) y de 50 % para *Botrytis* sp. Para *Beauveria* sp. aplicaciones foliares de 5kg ha⁻¹ en concentración de 2,4 UFC x 10⁹ g⁻¹ según monitoreo de plagas chupadoras (*Brevicorine brassicae*) dieron un control superior al 70%. Estas se efectuaron suspendiendo el producto en 550 l ha⁻¹ de agua, a una dureza menor de 100 ppm y adicionando un coadyuvante no iónico, encontrándose mayor efectividad en aplicaciones a horario nocturno.

La falta de categorización de cepas de *Beauveria* sp., impide su uso en el control exitoso de lepidóptera. La cepa usada presenta una eficiencia de 8% en control de *Plutella xylostela*.

El uso de microorganismos para el control sanitario, tuvo mayor impacto cuando se incluyó un manejo de fertilización correspondiendo a curvas de extracción, relaciones catiónicas ideales e incorporación de cationes como cofactores enzimáticos para ayudar a la defensa de la planta. Se encontró que aplicaciones de sulfato de manganeso (Mn) a razón de 5 kg ha⁻¹, ayudan en el control de cercospora y alternaria, de sulfato de zinc (Zn)

a razón de 3 kg ha⁻¹, en control de alternaría, bicarbonato de sodio (HCO₃) a razón de 6 kg ha⁻¹ en control de plasmodiophora, de sulfato de calcio (S) a razón de 1500 kg ha⁻¹ al suelo en control de bacterias foliares, aplicaciones de ácido bórico (B) superiores a 5 kg ha⁻¹ estimularon la aparición de botritis en inflorescencia.

CONCLUSIONES

Cultivos exportables pueden ser manejados de manera tradicional con prácticas que favorezcan la transformación hacia orgánicos con resultados satisfactorios.

El uso de *Trichoderma* sp. y *Beauveria* sp. tiene efectos positivos sobre el control de enfermedades y plagas dentro del cultivo de brócoli.

Aplicación foliar de cationes de manganeso, zinc, magnesio, azufre favorecen las defensas de la planta de brócoli contra enfermedades fúngicas, ayudando a un manejo eficaz cuando se trata del uso de microorganismos.

Biocontrol para sistemas de agricultura sustentable, Ecuador

William Viera¹, Trevor Jackson²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Av. Eloy Alfaro N30-350 y Amazonas, Quito, Ecuador. E-mail: william.viera@iniap.gob.ec

²AgResearch, 1365 Springs Rd, Lincoln 7674, Christchurch, Nueva Zelanda.

Palabras clave: control biológico, formulado, microorganismos benéficos.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una tendencia por desarrollar investigación y tecnologías en alternativas de control biológico para su aplicación en la agricultura. Por esta razón, el INIAP, IICA y AgResearch ejecutan el Proyecto “Biocontrol for Sustainable Farming Systems, Ecuador” con el objetivo de generar tecnologías aplicadas al sector agrícola Ecuatoriano. Este artículo presenta una revisión de los principales logros alcanzados en los distintos cultivos en los que se ha investigado con agentes benéficos.

El control biológico es un tópico que ha ido tomando importancia en los últimos años, especialmente con el enfoque global de reducir el uso de agroquímicos utilizados en la agricultura. Actualmente, se utilizan diversos organismos (hongos, bacterias, virus y parasitoides) como alternativas para el control de plagas de importancia económica (Strange y Scott, 2005).

La generación de alternativas de control biológico no es simple, su éxito requiere de especialistas altamente entrenados en investigación sobre organismos antagonistas o enemigos naturales y de agricultores bien informados sobre las metodologías de aplicación (Van Driesche y Bellows, 2001).

En el Ecuador, la investigación en el área de control biológico se ha ido incrementando paulatinamente, existiendo algunos estudios relacionados a esta temática en diversos cultivos (Falconí, 2014; Noboa et al., 2017). Estos resultados han permitido identificar enemigos naturales, así como determinar su eficacia y métodos de aplicación con la finalidad de generar tecnologías de utilidad para el agricultor ecuatoriano.

En este artículo se menciona los aspectos relevantes del Proyecto “Biocontrol for Sustainable Farming Systems, Ecuador” el cual es financiado por MFAT-Nueva Zelanda, y ejecutado por el Instituto Nacional de Investigaciones (INIAP) en colaboración con el Instituto Interamericano de Colaboración para la Agricultura (IICA) y con el asesoramiento de AgResearch.

Conformación del laboratorio de control biológico

En el año 2009 se inicia la colaboración interinstitucional entre AgResearch y el INIAP para establecer el Laboratorio de Control Biológico en la Estación Experimental Santa Catalina, el cual implementó las metodologías de evaluación de control de calidad transferidas por los técnicos de AgResearch. Los análisis de control de calidad que se realizan en este Laboratorio son: 1) Microbiológico que evalúa la viabilidad, concentración y pureza del bioinsumo; 2) se evalúa las características físico-químicas del producto y 3) la actividad biológica del microorganismo. Por otro lado, este Laboratorio ha sido el punto focal para establecer una Red de Técnicos en Control Biológico, que está

conformada por técnicos de laboratorio, asistentes y gerentes de empresas privadas, así como de funcionarios gubernamentales del Ministerio de Agricultura (INIAP, 2017).

En el Laboratorio se han desarrollado bioinsumos, principalmente con hongos antagonistas y entomopatógenos para llevar a cabo ensayos de campo, determinando la eficacia del control biológico en diferentes cultivos como brócoli, papa, mora y banano.

Actualmente, se investiga en la elaboración de prototipos de diferentes formulaciones (gránulos cubiertos, gránulos solubles, polvos mojables y concentrado emulsionable) utilizando hongos antagonistas que tienen aplicabilidad en la agricultura (INIAP, 2017).

Investigación realizada en brócoli (*Brassica oleracea*)

El brócoli constituye uno de los cultivos de exportación de mayor aceptación a nivel internacional. Se realizó un estudio para determinar la sobrevivencia de *Trichoderma* en el sustrato de plántulas de brócoli, tratadas con fumigaciones (productos químicos) que utilizan las empresas productoras de este vegetal. El peso en fresco de la plántula fue mayor en los tratamientos con el hongo en comparación con los tratamientos con fumigación y sin aplicación. Se encontró compatibilidad del hongo *Trichoderma* con los siguientes pesticidas: Hymexazol, Propamocarb, Betaciflutrin, Metolaclor, Lambdacihalotrina, Lambdacihalotrina + Tiametoxam, Radian, Clorpirifos, Dimetoato, Benzoato de emamectina, Acetamiprid. Por otro lado se encontró incompatibilidad con: Thyram, PCNB, Captan, Carboxin + Captan, Carbendazim, Iprodione, Pyraclostrobin, Clorpirifos, Clorotalonil, Ciprodinil + Fludioxonil. Estos resultados indicaron que *Trichoderma* puede ser incluido en sistemas de producción intensivo de plántulas de brócoli (Báez et al., 2017).

Investigación realizada en el rubro papa (*Solanum tuberosum*)

El cultivo de papa es de gran importancia para los agricultores de la Sierra Ecuatoriana, principalmente en zonas de 2200 a 3600 msnm (INIAP, 2008). En este cultivo se evaluó la eficiencia de un bioformulado de *Beauveria bassiana* para el control de gusano blanco (*Premnontrypes vorax*). Se implementó un ensayo en el Cantón Guano (Provincia de Chimborazo), en el cual se aplicó un formulado granulada a base de arcilla y un portador orgánico (arroz) para el hongo entomopatógeno. Se utilizó plantas trampa con cebos de los bioformulados. El formulado con arcilla obtuvo porcentajes bajos (hasta 20%) de daño de tubérculos, razón por la cual se recomienda su incorporación en los programas de manejo de esta plaga (Guapi, 2012).

Investigación realizada en aguacate (*Persea americana*)

El aguacate es un cultivo con potencial tanto para el mercado local como para su exportación (Viera et al., 2016). Se evaluó el efecto de la inoculación de *Trichoderma* en el sustrato de plántulas de aguacate cultivar Criollo. Una vez realizados los análisis de absorción de nutrientes por parte de la planta, se encontró que las plantas tratadas presentaron niveles más altos de macronutrientes, principalmente fósforo y calcio (Sotomayor et al, 2018), siendo estos dos componentes esenciales para el crecimiento de la planta y generación de células de la pared celular; resultados que corroborarían que este hongo benéfico tiene funcionalidad como promotor de crecimiento vegetal además de su función antagonista contra patógenos de suelo.

Investigaciones realizadas en el rubro mora (*Rubus glaucus*)

La mora es el frutal de mayor relevancia en la Provincia de Tungurahua, debido a que los productores pueden tener buena rentabilidad en superficies pequeñas (Jácome et al., 2016). Por la importancia de este rubro, se validó dos componentes tecnológicos: a) limpio (utilización moderada de productos sintéticos y fertilización química) y b) orgánico (uso de abonos y productos biológicos), ambos con la aplicación de *Trichoderma*, en el cantón Cevallos (Provincia de Tungurahua). El manejo limpio con *Trichoderma* obtuvo un rendimiento superior (14.8 t ha⁻¹) en relación al control (14.8 t ha⁻¹) (Espín, 2012).

Por otro lado, se identificó al agente causal de la marchitez descendente (*Ilyonectria torresensis*) (Iturralde et al., 2017), enfermedad que se ha propagado en las zonas de cultivo de Tungurahua y Bolívar. Conociendo el patógeno, se realizó un estudio para determinar alternativas de control contra este patógeno, encontrándose que Carbendazim (químico) y productos alternativos como el extracto de mirtáceas mostraron el menor porcentaje de la enfermedad a nivel de raíces y cuello de la planta, en ensayos llevados a cabo en invernadero (Tello et al., 2018). Sin embargo, en pruebas *in vitro*, se ha logrado determinar una acción antagonista de *Trichoderma* frente a este hongo patógeno (INIAP, 2017).

Además, se evaluó el efecto de la aplicación de *Trichoderma* sobre la productividad del cultivo, encontrándose efecto significativo aumentando el rendimiento del cultivo y el peso de fruto de mora, observándose un incremento del 20% de la producción (Vásquez et al., 2015; Viera et al., 2018). Finalmente, se ha determinado que con la inoculación periódica de *Trichoderma* al suelo, se logra el establecimiento del hongo y alcanzar niveles poblacionales altos en la rizósfera del cultivo (Torrens et al., 2017).

Investigaciones realizadas en banano orgánico (*Musa acuminata*)

El banano es un cultivo extensivo en el Litoral Ecuatoriano, que se cultiva a altitudes de 0 a 300 msnm (INIAP, 2008). Actualmente, el precio del banano orgánico supera al convencional, razón por la cual es fundamental generar tecnologías biológicas para este cultivo. Se estableció un ensayo para evaluar el efecto de la inoculación de microorganismos (*Trichoderma asperellum*, *Purpureocillium lilacinum* y *Arthrobotrys* sp.) sobre las poblaciones de nematodos. Aunque no hubo diferencias significativas en las poblaciones de nematodos encontradas, se pudo observar un incremento en el número de raíces sanas (parámetro relacionado con la productividad del cultivo) en las plantas tratadas con *T. asperellum*. Además, la aplicación del hongo no afectó a los nematodos de vida libre, lo cuales son fundamentales para la salud del suelo (Navia et al., 2017).

El thrips *Chaetanaphothrips signipennis* es una plaga que causa pérdidas económicas a los pequeños y medianos productores de banano y plátano orgánico de exportación debido a que produce la denominada “mancha roja”. Se evaluaron hongos benéficos (*B. bassiana*, *P. lilacinum* y *T. asperellum*) para el control de esta plaga, encontrándose que pese a que redujeron el daño por mancha roja, causaron un moteado en la fruta porque fueron aplicados directamente al racimo (Delgado et al., 2017a). Además, se han evaluado productos aceptados en la agricultura orgánica, encontrándose que el menor porcentaje de dedos de banano afectados con mancha roja se obtiene con la aplicación de piretrina y *Saccharopolyspora spinosa*, reduciendo la incidencia de 90% a 8% (Delgado et al., 2017b).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Báez, F., W. Viera, M. Noboa, T. Jackson, y G. Espinosa, G. 2017. Experiencias de aplicación del hongo *Trichoderma* sp. en plántulas de brócoli. Memorias del Tercer Simposio en Fitopatología, Control Biológico e Interacciones Planta-Patógeno. Quito, Ecuador. pp. 18.
- Delgado, A., R. Hall, D. Navia, W. Viera, y T. Jackson. 2017a. Efecto de hongos benéficos sobre las poblaciones de *Chaetanaphothrips signipennis* en el cultivo de plátano. Memorias del LIX Convención Nacional de Entomología. Trujillo, Perú. s.p.
- Delgado, A., R. Hall, D. Navia, W. Viera, F. Báez, M. Arias, y T. Jackson. 2017b. Evaluation of pyrethrum, extract of *Saccharopolyspora spinosa*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the control of *Chaetanaphothrips signipennis*, a pest of banana. Proceedings of the 50th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. San Diego, USA. pp. 78-79.
- Espín, M. 2012. Validación de los componentes tecnológicos limpio y orgánico, con y sin *Trichoderma* para el manejo del cultivo de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en el Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua. Facultad de Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 174 p.
- Falconí, C. 2014. Control biológico de enfermedades de plantas en Ecuador. pp. 219-247. *En*: Bettiol, W., Rivera, M., Mondino, P., Montealegre, J., Colmenárez, Y. (eds.). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Universidad de la República, Montevideo. 402 p.
- Guapi, A. 2012. Evaluación de la eficacia del bioformulado de *Beauveria bassiana*, y tipos de aplicación para el control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), en dos localidades de la provincia de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 131 p.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). 2008. Guía técnica de cultivos. INIAP, Quito. s.p.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). 2017. Informe anual del Proyecto Biocontrol for Sustainable Farming Systems, Ecuador. Quito: INIAP. 11 p.
- Iturralde, P., C. Tello, L. Ayala, D. Martínez, N. Proaño, W. Viera, y F. Flores. 2017. Primer reporte de *Ilyonectria torresensis* en el Ecuador como el agente causal de la enfermedad pie negro en mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.). Memorias del Tercer Simposio en Fitopatología, Control Biológico e Interacciones Planta-Patógeno. Quito, Ecuador. pp. 40.
- Jácome, R., G. Ayala, A. Martínez, P. Viteri, W. Vásquez, y A. Sotomayor. 2016. Caracterización del sistema de producción, zonas de producción y tipificación de productores del Ecuador. pp. 27-36. *En*: D. Galarza, S. Garcés, J. Velásquez, V. Sánchez, J. Zambrano (Eds.). El cultivo de la mora en el Ecuador. INIAP, Quito. 173 p.

- Navia, D., A. Delgado, W. Viera, F. Báez, y T. Jackson. 2017. Application of bio-products in Ecuadorian agriculture: case banana. Conference Proceedings of Bio-products for Sustainable Agriculture. Quito, Ecuador. pp. S7.
- Noboa, M., A. Díaz, W. Vásquez, y W. Viera. 2017. Parasitoids of *Neoleucinodes elegantalis* Gueneé (Lepidoptera: Crambidae) in Ecuador. *Idesia*. 35(2): 49-54.
- Sotomayor, A., A. Gonzáles, J. Kang, A. Villavicencio, y W. Viera. 2018. Uso de microorganismos para la propagación en vivero de patrones de aguacate (*Persea americana* Mill.) cultivar “Criollo”. Memorias del primer Congreso Mexicano de Aguacate. Uruapan, México. s.p.
- Strange, R., Scott, P. 2005. Plant diseases: a treat of global food security. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43(1): 83-116.
- Tello, C., C. Oña, M. Jarrín, y W. Viera. 2018. Eficacia de fungicidas para el manejo de marchitez (*Ilyonectria torresensis*) en mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.). Memorias del Primer Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Agropecuaria. Quito, Ecuador. pp. 104-106.
- Torrens, G., F. Báez, A. Martínez, R. Jácome, y T. Jackson. 2017. Fluctuación poblacional de *Trichoderma* spp. en suelo de plantación de mora (*Rubus glaucus*) en la Provincia de Tungurahua. En: Memorias del Tercer Simposio en Fitopatología, Control Biológico e Interacciones Planta-Patógeno. Quito, Ecuador. pp. 61.
- Van Driesche, R., y T. Bellows. 2001. Biological control. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts. 538 p.
- Vásquez, W., T. Jackson, W. Viera, P. Viteri y M. Villares. 2015. Integrated Andean blackberry (*Rubus glaucus*) crop management using beneficial microorganisms by small farmers in the Ecuadorian Andes. Proceedings of International Plant Protection Congress. Berlin, Alemania. pp. 458.
- Viera, A., A. Sotomayor, y W. Viera. 2016. Potencial del cultivo de aguacate (*Persea americana* Miller) en Ecuador como alternativa de comercialización en el mercado local e internacional. *Rev. Cient. Tecnol. UPSE*. 3(3): 1-9.
- Viera, W., M. Noboa, A. Martínez, R. Jácome, M. Medina, y T. Jackson. 2018. Aplicación de *Trichoderma* para mejorar el rendimiento y peso de fruto de mora. Memorias del Segundo Congreso de la Mora. Tisaleo, Ecuador. s.p.

Evaluación de la inducción de resistencia sistémica y capacidad antifúngica producidos por cepas ecuatorianas de *Trichoderma*

Javier Muñoz¹, Alexandra Bermúdez¹, Darío Ramírez¹, Antonio Leon-Reyes^{1,2,3,4}

¹ Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos, Ingeniería en Agronomía, Colegio de Ciencias e Ingenierías, Universidad San Francisco de Quito, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

² Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales COCIBA Universidad San Francisco de Quito USFQ, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

³ Instituto de Investigaciones Biológicas y Ambientales BIÓSFERA, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales COCIBA Universidad San Francisco de Quito USFQ, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

⁴ Environmental Sciences, Biology Department, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599

Universidad San Francisco de Quito (aleon@usfq.edu.ec)

Palabras claves: Biocontrolador, Efectividad, *Trichoderma*.

Área temática: Microbiológico.

INTRODUCCION

Trichoderma se caracteriza por ser cosmopolita, distribuida en diversos hábitats como materia orgánica en descomposición o muerta y además puede ser endófito (Mulaw et al., 2013 y Klapac et al., 2018). Por otro lado, produce metabolitos que son usados como biocontroladores, inductores de resistencia sistémica y localizada, y promotores de crecimiento de las plantas (Samuels et al., 2015 y Klapac et al., 2018). Dentro del género *Trichoderma/Hypocrea* existen 171 especies y las de estado asexual son *Acremonium*, *Gliocadium*, *Trichoderma* y *Verticillium* (Pratap et al., 2017). *Trichoderma* está dividida en 5 secciones, los cuales son Longibrahmatum, Saturnisporum, Pachybasium, Hypocreanum, *Trichoderma* y Lone lineage (Harman, 2006).

Dada la gran variabilidad dentro del género *Trichoderma* y su diversa capacidad metabólica (Samuels et al., 2015), las cepas de *Trichoderma* son ampliamente distribuidas en diferentes tipos de suelo, especialmente en aquellos ricos en materia orgánica (Druzhinina et al., 2018). Sin embargo, su alta biodiversidad causa que sus mecanismos de acción sean más eficientes para control de fitopatógenos que otros, dependiendo de la cepa de *Trichoderma* (Qiong et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es identificar a nivel molecular las cepas de *Trichoderma* aisladas y determinar su capacidad antifúngica y su potencial efecto para inducir resistencia sistémica en *Arabidopsis thaliana* para el control de *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp., optimizando las aplicaciones de *Trichoderma*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectó 15g de suelo a una profundidad de 10 a 15 cm en cinco fincas ubicadas cada una en una provincia de la sierra ecuatoriana: Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo y Loja (Permiso Contrato Marco MAE-DNB-CM-2016-0046). Se utilizó la técnica de concentración de conidios y medios de cultivos selectivos para *Trichoderma* (Harman, 2006). Se evaluó las características morfológicas empleando las claves propuestas por Bissett (1991).

Se identificó las especies de *Trichoderma* aisladas mediante el análisis de las secuencias de las regiones ITS del ADN ribosomal 5.8S, empleando los primers de las regiones ITS1 e ITS4 (Qiong et al., 2017 y Drummond et al., 2012).

Se cuantificó el porcentaje de crecimiento radial del patógeno para determinar la capacidad antifúngica de las cepas de *Trichoderma*, Se utilizó cultivos duales frente a *Fusarium* spp. y ensayos de antibiosis frente a *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. (Qiong et al., 2017)

Para determinar la inducción de resistencia, se cuantificó la severidad de las lesiones producidas en ocho hojas de *Arabidopsis thaliana pad-3* al ser infectadas con 5 uL de concentrado de esporas de *Alternaria* spp. Las raíces fueron previamente inoculadas con una concentración de conidias de las cepas *Trichoderma* aisladas de $1,07 \times 10^6$ CFU por gramo de sustrato.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aisló e identificó usando técnicas avanzadas de ADN 33 cepas que corresponden a dos especies del genero *Trichoderma*: *T. harzianum* (*Th*) y *T. asperellum* (*Ta*).

Frente a *Fusarium oxysporum*, las cepas *Ta P3A_02*, *Th P4B_01*, *Th C4B_01*, *Th T3C_01* y *Ta S5C_01* presentaron un porcentaje de inhibición radial entre el 55 y 66 %, 27 cepas presentaron entre el 30 y 50 % a excepción de la cepa *Ta C5A_01* que no presentó efecto inhibitorio. Por otro lado, los metabolitos producidos por las cepas *Th C4B_01*, *Ta T3C_01*, *Th C3C_01*, *Th L2B_01* y *Ta T2A_01* presentaron un porcentaje de inhibición radial comprendido entre 47 y 59 %, 21 cepas presentaron entre el 10 y 35 %; y siete cepas no presentaron ningún efecto sobre el crecimiento del patógeno.

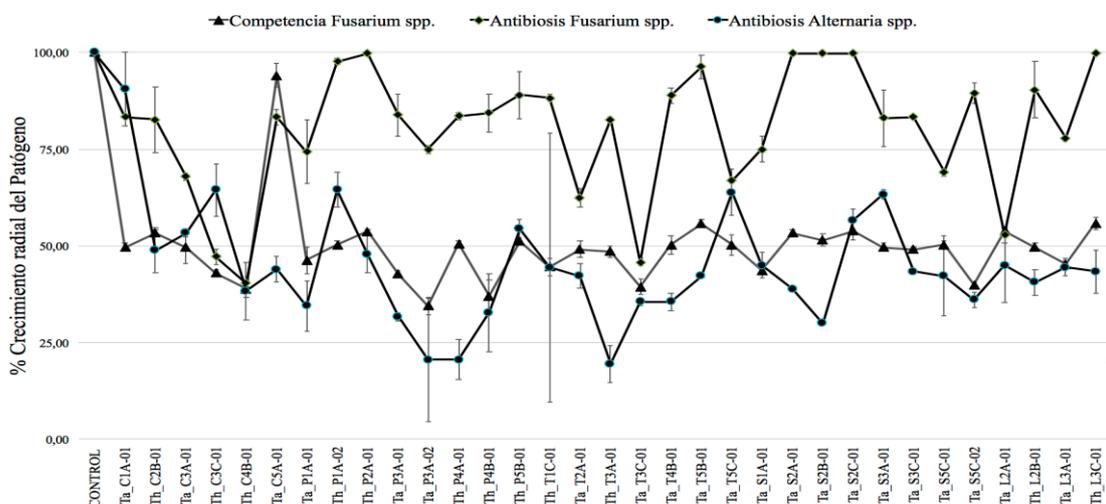


Figura 1.- Diferentes niveles de inhibición de las cepas de *Trichoderma harzianum* (*Th*) y *Trichoderma asperellum* (*Ta*) aisladas frente a *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp., con cultivos duales y antibiosis.

Frente *Alternaria* spp., los metabolitos producidos por las cepas: *Th P4A - 01*, *Ta P3A - 02* y *Th T3A - 01* presentaron una inhibición radial del patógeno, entre 70% y 74,7%. Los metabolitos de las demás cepas presentaron inhibición entre el 64.2 y 27.3%. La cepa *Ta C1A - 01* no produce ninguna sustancia antifúngica contra *Alternaria* spp. ya que no presentó ningún efecto inhibitorio en su crecimiento

La mayor resistencia sistémica de *Arabidopsis thaliana pad-3* contra *Alternaria* spp. se presentó en plantas tratadas con soluciones de esporas de las cepas *Ta T4B_01*, *Th C3C_01*, *Ta T3C_01*, *Th T3A_01* y *Ta S2C_01*, disminuyendo la severidad de la enfermedad comparado con el control.

La variabilidad que se muestra entre los nucleótidos de la región del ADN ribosomal 5.8S, características morfológicas y los diferentes niveles de inhibición e inducción de resistencia dentro de los grupos de *T. asperellum* y *T. harzianum*, se infiere que se aislaron varias subespecies pertenecientes a estas especies.

CONCLUSIÓN

Las cepas de *Trichoderma* a pesar de pertenecer a la misma especie, presentan diferencias tanto fenotípicas como genotípicas, esto se ve reflejado en su capacidad individual como biocontrolador de *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp., y los mecanismos por los cuales actúa.

Tanto la capacidad de producir metabolitos antifúngicos como la de inducir una resistencia sistémica en la planta, son mecanismos muy importantes a la hora de escoger una cepa de *Trichoderma* que sea una biocontroladora efectiva en el campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69:2357–2372.
2. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D & Rambaut A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.
3. Druzhinina IS., Plessis IL., Atanasova L., Yarden O., Jacobs K. (2018). The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. *Mycology*, 10(3):559-583.
4. Harman G. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. The American Phytopathological Society. 96: 190-194.
5. Mulaw T., Druzhinina I., Kubicek C., Atanasova L. (2013). Novel endophytic *Trichoderma* spp. Isolated from Healthy *Coffea Arabica* roots are capable of controlling coffee tracheomycosis. *Diversity*.
6. Pratap B., y Kumar V., (2017). *Molecular Markers in Mycology. Diagnostics and Marker Developments*. National University of Ireland Galway. Ireland
7. Samuels G., Hebbard P. (2015). *The Trichoderma manual. Their identification and application in agriculture*. St Paul, MN: American Phytopathological Society Press.
8. Qiong W., Ruiyan S., Mi N., Jia Y., Yaqian L., Chuanjin Y., Kai D., Jianhong R., Jie C. (2017), Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy, *Plos One*, 25(9):1264-71
9. Kłapeć T., Cholewa G., Cholewa A., Dutkiewicz J., Wójcik-Fatla A., (2018). Fungal diversity of root vegetables and soil rhizosphere collected from organic and conventional farms in Eastern Poland. *Agricultural Environment* ;25(2):374-381.

Biocontrol de la Bacteriosis en naranjilla utilizando Bacteriófagos

M. Flores¹, W. Viera², M. Torres¹, L. Ayala^{1&}

¹ Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Laboratorio de Inmunología y Virología, Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, PO BOX 171-5-231B, Sangolquí, Ecuador.

² Programa de Fruticultura, Granja Experimental Tumbaco, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

&Corresponding Author: L. Ayala.

Tel: + (593) 02-3989400, Ext: 2115

E-mail: liayala@espe.edu.ec

Palabras clave: Bioensayo, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*, Pudrición.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

La naranjilla es un cultivo nativo muy susceptible a plagas. Para reducir la incidencia de patógenos del suelo, se ha implementado el uso de injertos de naranjilla sobre patrones de solanáceas silvestres como *Solanum hirtum*. Esta especie ha mostrado ser resistente a problemas radiculares causados por *Fusarium oxysporum* y *Meloidogine incognita* (Revelo et al., 2010; Navarrete et al., 2018). Sin embargo, a pesar del éxito obtenido, el patrón no presenta resistencia al ataque de bacterias que producen el marchitamiento de la planta.

No existe un control químico específico recomendado para la bacteriosis en naranjilla, pero se han utilizado bactericidas químicos a base de cobre y antibióticos como gentamicina, los cuales no han generado un control completo, por lo que actualmente se recomienda eliminar y quemar las plantas enfermas, y no volver a sembrar en el sitio donde se presentó la enfermedad (Fiallos, 2000; Revelo et al., 2010; Sundin et al., 2016). Actualmente se impulsa el descubrimiento e investigación de nuevas estrategias de control biológico mediante el uso de bacteriófagos, obteniéndose resultados prometedores para el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias patógenas, incluyendo aquellas con resistencia a antibióticos (Doss et al., 2017).

Los objetivos de esta investigación fueron identificar el agente causal de la bacteriosis observada en plantas de naranjilla (*Solanum quitoense*) injertadas sobre *Solanum hirtum* y aislar bacteriófagos para el biocontrol de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

La bacteria patógena se aisló a partir de plantas de naranjilla injertadas en *Solanum hirtum* con síntomas de pudrición y marchitamiento. La patogenicidad de la bacteria se comprobó con los postulados de Koch sobre *Solanum hirtum* y sobre naranjilla. Para su identificación se realizaron pruebas bioquímicas y moleculares.

Los bacteriófagos fueron aislados de muestras de suelo de plantaciones de naranjilla en la provincia de Napo, estos fueron caracterizados y cuantificados por medio de ensayos en doble capa; y su actividad lítica se comprobó con la prueba de la gota (Spot test).

Para el biocontrol se seleccionaron hojas de plantas de naranjilla. Las hojas fueron mantenidas con algodón empapado en solución Hoagland, atado a la punta del peciolo, y recubierto con parafilm. La inoculación se realizó sobre lesiones puntuales, en la superficie de las hojas donde se aplicó 5 μ L de *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (10^8 UFC/mL) y 5 μ L de fago (10^8 UFP/mL). Los tratamientos consistieron en aplicaciones de bacteria y fago en diferentes combinaciones al mismo tiempo y/o con intervalos de un día. La evaluación se realizó después de tres días de la inoculación midiendo el tamaño de la lesión en milímetros (mm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La bacteria aislada, caracterizada por postulados de Koch y pruebas bioquímicas fue identificada como *Pectobacterium* sp. Según Fiallos (2000) y Hauben et al. (2015) la marchitez y maceramiento de tejido descritos, y observados en este estudio, son síntomas que corresponden a la pudrición bacteriana producida por *Pectobacterium* sp.

Para identificar la especie y sub-especie de la bacteria se realizaron PCRs con primers específicos para el gen inositol 2-deshidrogenasa, de la bacteria *Pectobacterium carotovorum*, y con los primers Br1F/L1r, específicos para la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. Se obtuvieron productos de amplificación de aproximadamente 312 y 322 pares de bases respectivamente, lo que concuerda con lo reportado en las investigaciones de Mohammed & Selman (2013) y Duarte et al. (2004). Para corroborar lo obtenido en las pruebas de PCR, se realizó una secuenciación del fragmento 16S del ARN ribosomal de la bacteria. La búsqueda de homologías en BLAST dio como resultado la identificación de la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* con una identidad del 99%.

Después del aislamiento de bacteriófagos contra *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* se realizó un Spot test que confirmó su actividad lítica. En este test se observó claramente la falta de crecimiento de bacterias en donde se colocó la gota de fago formándose zonas de lisis transparentes debido a la inhibición del crecimiento bacteriano. Viazis et al. (2011) consideran que las zonas de lisis son un indicador de la presencia y eficacia del fago.

En el ensayo de biocontrol, el tamaño de la lesión fue menor en todos los tratamientos donde se aplicó bacteria y bacteriófago sobre hojas de naranjilla, en comparación con el control positivo donde se aplicó solamente bacteria. Estos resultados confirmaron la actividad lítica del fago in vivo. Según Buttimer et al. (2017), los bacteriófagos tienen la capacidad de reconocer la bacteria y lisarla causando la muerte.

Los mejores tratamientos para el control de la bacteria fueron aplicación de fago y después de un día bacteria; así como fago y bacteria aplicados al mismo tiempo. En esos dos tratamientos se observaron lesiones significativamente menores al control de bacteria sin fago con una reducción de la infección del 66.28% y 73.91% respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Civerolo & Kiel (1969) con *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* en hojas de durazno y por Verma, Dake, & Singh (1994) cuando aplicaron *X. campestris* pv. *malvacearum* aovew sobre hojas de algodón.

CONCLUSIONES

En este trabajo se aisló el agente causal de la bacteriosis en plantas de naranjilla y se lo identificó como *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. Los bacteriófagos aislados presentaron la capacidad de lisar a la bacteria patógena *in vitro* y en las pruebas *in vivo* realizadas en hoja desprendida. Se demostró que los fagos funcionan para el

biocontrol de *P. carotovorum subsp. brasiliense* reduciendo el tamaño de la lesión de los síntomas producidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buttimer, C., McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C., O'Mahony, J., and Coffey, A. 2017. Bacteriophages and bacterial plant diseases. *Frontiers in Microbiology*, 8(JAN), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00034>
- Civerolo, E., and Kiel, H. 1969. Inhibition of bacterial spot of peach foliage by *Xanthomonas pruni* bacteriophage. *Phytopathology*, 59, 1966–1967.
- Doss, J., Culbertson, K., Hahn, D., Camacho, J., and Berekzi, N. 2017. A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. *Viruses*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/v9030050>
- Duarte, V., De Boer, S. H., Ward, L. J., and De Oliveira, A. M. R. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 535-545. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02173.x>
- Fiallos, J. 2000. Naranjilla. Híbrido Interespecífico de alto rendimiento. Recuperado 12 de junio de 2017, a partir de http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Naranjilla_INIAP_PALORA_Híbrido_interespecifico_de_alto_renimiento..pdf
- Hauben, L., Gijsegem, F. Van, and Swings, J. 2015. Pectobacterium. En *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1-24). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01158>
- Jurado, J. C., Pérez, L. J., Lagos, T. C., y Benavides, C. A. 2013. *Solanum quitoense* Lam . ON PATTERNS OF *Solanum* spp ., 30(1), 54-64.
- Mohammed, M. J., and Selman, E. D. 2013. Detection of local *Erwinia* Isolates Causing Diseases in Potato by Using DNA Amplification by Polymerase Chain Reaction Technique (PCR). *Journal of Al-Nahrain University Science*, 16(224), 224-229.
- Navarrete, X., Ron, L., Viteri, P., y Viera, W. 2018. Parasitism of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) chitwood in five wild Solanaceae species. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 71(1): 8367-8373. <http://dx.doi.org/10.15446/rfna.v71n1.67122>.
- Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., Valcerde, F., León, J., y Gallegos P. 2010. *Manual del Cultivo Ecológico de la Naranjilla*. Quito: INIAP.
- Sundin, G. W., Castiblanco, L. F., Yuan, X., Zeng, Q., and Yang, C.-H. 2016. Bacterial disease management: challenges, experience, innovation and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 17(9), 1506-1518. <https://doi.org/10.1111/mpp.12436>
- Verma, J., Dake, G., and Singh, R. 1994. *Interaction between bacteriophages, Xanthomonas campestris pv. malvacearum and Gossypium hirsutum*. *Indian Phytopathology (India)*. Indian Phytopathological Society. Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IN9500104>
- Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J., Brabban, A. D., and Diez-Gonzalez, F. 2011. Isolation

and characterization of lytic bacteriophages against enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 110(5), 1323-1331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04989.x>

Utilización de controladores biológicos como método de control de plagas en Galápagos

Patricio A. Vega¹, Carlos Masaquiza¹, Victoria Morales²

1 Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos

2 Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. E-mail:
patricio.vega@abgalapagos.gob.ec

Palabras clave: Análisis, Microbiología, Molecular

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

En base al muestreo realizado por MAGAP en 2013 y 2015, en conjunto con ABG, se pudo determinar la presencia de *Hemileia vastatrix* (roya del café) y de *Hypothenemus hampei* (broca de café) respectivamente. Galápagos al obtener la denominación de origen, por las características organolépticas de su café, es de gran importancia tomar medidas de control para la reducción y mitigación de los efectos que causan las plagas antes mencionadas.

La ABG en conjunto con otras instituciones tanto públicas como privadas pretender implementar nuevas herramientas amigables con el ambiente para el control de los patógenos que afectan principalmente la caficultura, basados en la utilización de controladores naturales (hongos entomopatógenos) con el fin de reducir el uso de sustancias químicas empleadas para el control de plagas. Teniendo en cuenta que la presencia de posibles cepas de "*Beauveria bassiana*" y "*Lecanicillium lecanii*" en las principales islas pobladas, la ABG ha desarrollado proyectos para la identificación de estas especies además de confirmar a nivel molecular la plaga objetivo que se quiere controlar.

Debido a lo antes mencionado, se encuentra en ejecución dos tesis; la primera para detección de microorganismos asociados a la rizosfera del café (Proyecto A) y la segunda enfocada a la identificación de posibles cepas que pueden ser utilizadas como controladores biológicos aisladas de frutos con presencia de brocas infestadas de hongos (Proyecto B).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó colecta manual de los frutos que presentaban presencia de broca infestada de hongo utilizando pinzas, guantes, fundas ziploc, etiquetas y tableros de registro. Mientras que en el laboratorio se utilizó cajas Petri, medio de cultivo PDA, mechero, asa de siembra y petrifilm para sellar las cajas inoculadas, estas fueron rotuladas con la identificación respectiva del predio y dueño.

Se realizó un muestreo de suelo proveniente de la rizosfera y frutos de café, al azar, con un patrón de recorrido en forma de Zig-Zag de tres y cinco fincas respectivamente, ubicadas en diferentes altitudes y características topográficas, clima y de composición. Se aisló e identificó las cepas en base a sus características macroscópicas, microscópicas y morfométricas, mediante la técnica de siembra directa. Las cepas obtenidas del área de estudio fueron caracterizadas mediante la utilización de herramientas moleculares utilizando la secuenciación de la región ITS a partir de los primers ITS 1 e ITS 4. El ADN de las cepas fue extraído mediante el método CTAB metodología propuesta por Kim et

al. 1992 modificada por Lee 2000 y Argoti, 2007, siendo un método adecuado para extraer ADN de hongos filamentosos (Argotti, 2016; Cobos Cando, 2010; Ronquillo, 2008).

RESULTADOS

Con respecto al proyecto de identificación de hongos asociados a la rizósfera del café, se identificó un total de 28 cepas en base a sus características macroscópicas, microscópicas y morfométricas, luego de purificar los aislamientos a partir de suelo de la rizósfera mediante la técnica de siembra directa (Tabla 1). Se puede mencionar que la mayor presencia de cepas identificadas en los aislamientos corresponde a los géneros *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

Tabla 1. Información y resultados de los sitios muestreados Proyecto A

Código del lote muestreado	Sector	m.s.n.m	Superficie del lote /ha	Número de cepas aisladas
ER	Bellavista	151	2,78	9
MM	El Carmen	257	6.47	9
TK	El Camote	403	2.62	10
Total				28

Por otra parte, en el proyecto de identificación de microorganismos presentes en el grano del café se identificó un total de 28 cepas en base a sus características macroscópicas, microscópicas y morfométricas, luego de purificar los aislamientos a partir de siembra directa de aquellos frutos en los que se observó presencia de hongos. Se puede mencionar que la mayor presencia de cepas identificadas en los aislamientos corresponde a los géneros *Beauveria*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Lecanicillium* y *Penicillium*.

En ambos proyectos el análisis de productos de PCR (secuenciación) se encuentra en fase final y se proyecta publicar los resultados a finales del 2018.

Tabla 2. Información y resultados de los sitios muestreados Proyecto B

Código del lote muestreado	Sector	m.s.n.m	Superficie del lote /ha	Número de cepas aisladas
FC	Los Guayabillos	198	2.39	8
R	El Camote	254	1.75	5
TK	El Camote	399	2.62	4
RV	El Camote	454	3.80	6
Total				28

CONCLUSIONES

Mediante el uso de técnicas microbiológicas y moleculares se aisló un total de 28 muestras correspondientes al proyecto A de aislamiento e identificación de microorganismos asociados a la rizósfera de la planta de café, además se realizó un análisis de suelos a cada finca muestreada (tres) en los cuales se pudo observar altas concentraciones de materia

orgánica en suelos caracterizados como ligeramente ácidos y moderadas concentraciones de macronutrientes, cabe recalcar que la identificación a nivel de especie se la realizará utilizando herramientas moleculares de secuenciación de productos de PCR.

Por otro lado, se aisló un total de 28 cepas correspondientes al proyecto B de identificación de microorganismos asociados al grano de café en el cual se observa la presencia de posibles hongos entomopatógenos, los cuales serán confirmados mediante secuenciación de productos de PCR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argotti, V.E.E. 2016. Funciones fisiológicas de la detoxificación del óxido nítrico en *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*: El papel de las flavohemoglobinas. Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca, Salamanca.
- Cobos Cando, G.M. 2010. Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de sigatoka negra (*Aracercospora fijiensis* M.) en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de laboratorio. Informe del proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agropecuaria, SANTO DOMINGO/ESPE-IASA II/2010, Santo Domingo.
- Ronquillo, N.M.P. 2008. Uso de control químico y biológico en el campo para el combate de la pudrición de flecha en el cultivo de palmito en la zona de Santo Domingo. Informe del proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agropecuario, SANTO DOMINGO/ESPE-IASA II/2008, Santo Domingo.

Efecto inhibitorio *in vitro* de actinomicetos del Ecuador sobre *Phytophthora infestans*

Daniela J Villamarín^{1,2}, Alma R Koch¹, María S Benítez³

¹Departamento de Ciencias de la Vida, Universidad de las Fuerzas Armadas, ²Carrera de Turismo Histórico Cultural, Universidad Central del Ecuador, ³Department of Entomology and Plant Pathology, Oklahoma State University.
(daniela_vq7@yahoo.com)

Palabras clave: compuestos bioactivos, control biológico, policétidos sintetasas.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

Los fitopatógenos son parte de las grandes preocupaciones a nivel mundial, ya que son causantes de la disminución en la productividad de los cultivos (Nguyen et al., 2018), el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) no es la excepción y *Phytophthora infestans* es el patógeno más devastador, causante del tizón tardío (Hussain et al., 2015). Para el Ecuador, la papa es uno de los principales cultivos transitorios según reportan en la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, realizada en el 2016, llegando a producirse 397,521 toneladas, siendo las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi y Chimborazo las de mayor producción. Para el manejo de este fitopatógeno, se han estudiado soluciones con diferentes enfoques dentro de la agricultura, las cuales se basan en el uso de agentes químicos (Mouffet et al., 2018). En la actualidad el control biológico es una opción ambientalmente amigable, dentro de este hay una gran variedad de especies de insectos y microorganismos que han sido estudiados, de estos, los actinomicetos presentan potencial ya que poseen una gran cantidad de genes que codifican numerosos metabolitos bioactivos (Choi et al., 2015). Los actinomicetos representan una de las clases de bacterias más importantes, ya que sobre el 80% de todos los antibióticos conocidos, se han aislado de estos (Ganesan et al., 2016). La síntesis de un número considerable de compuestos bioactivos producidos por los microorganismos, incluidos los actinomicetos, se dan por los mecanismos enzimáticos multifuncionales intracelulares que son las policétidos sintetasas (PKS) y las péptidas sintetasas no ribosómicas (NRPS). El objetivo del trabajo fue aislar actinomicetos nativos de suelos papeiros con la finalidad de encontrar cepas que sean capaces de inhibir el crecimiento de *P. infestans* a través de la acción de sus metabolitos secundarios y pueda usarse como control biológico, además correlacionar la actividad inhibitoria con la presencia del gen que codifica para el complejo enzimático PKS-I.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de la muestra

Tabla 1. Sitios de muestreo.

Provincia	Cantón-parroquia	Altitud (m.s.n.m)	Edad cultivo (meses)	Variedad de papa
Carchi	Montufar-Piartal	2949	4	Gabriela
Pichincha	Mejía-Cutuclagua	3550	6	Gabriela
Chimborazo	Riobamba-San Juan	3500	3	Leona negra
Loja	Saraguro-Tenta	2615	6	Chaucha

Las muestras se obtuvieron de campos paperos de cuatro provincias del Ecuador (Tabla 1). El muestreo se realizó a una profundidad de 15 a 20 cm. Se recolectaron 8 submuestras de 1 kg de suelo y se colocaron en bolsas plásticas estériles.

Aislamiento de los actinomicetos

Se realizó a partir de 1 g de cada submuestra, se colocó 9 mL de agua destilada estéril, realizando diluciones seriadas de 10^{-3} , 10^{-4} , y 10^{-5} . De cada una de las diluciones, se tomó 1 mL, se colocó en una caja de Petri y se añadió en el medio agar extracto de levadura suplementado con glicerol (Brown, 2007). Las cajas se incubaron a 27°C durante 14 días. Luego de la incubación, se aislaron colonias con características morfológicas macroscópicas propias para los actinomicetos (colonias polvosas y secas, con coloración del sustrato), además se utilizó tinción Gram.

Phytophthora infestans

La cepa (INIAP 95) se obtuvo de la colección del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, descrita como nativa de cultivos de papa, tipo reproductivo A1.

Pruebas de inhibición *in vitro*

Se utilizó la técnica dual (Venner et al., 2009) donde se enfrentó a condiciones controladas de temperatura (20°C) a cada cepa de los actinomicetos con *P. infestans* en cajas de Petri en medio glicerol extracto de levadura. El actinomiceto y el patógeno fueron colocados en la caja al mismo tiempo y los resultados se evaluaron a los 22 días de incubación. Se clasificó la inhibición en cinco categorías, siendo la 1, la que presentó el mayor porcentaje de inhibición y la 5, la que no presentó inhibición. El experimento se realizó por triplicado.

Extracción de ADN y amplificación del gen PKS-I

Se empleó el protocolo de extracción de ADN de bacterias y hongos tomado de Weising et al. (1995) con modificaciones. Se analizaron las cepas de las categorías 1 y 5. La amplificación se realizó mediante una reacción de cadena de la polimerasa (PCR) usando un par de primers diseñados por Ayuso y Genilloud (2005), K1F (5' TSA AGT CSA ACA TCG GBC A 3') y M6R (5'CGC AGG TTS CSG TAC CAG TA3'). Se utilizaron controles positivos para el gen PKS I [ADN de las cepas de *Streptomyces coelicolor* (Colección del John Innes Institute) y *Streptomyces avermitilis* ATCC 31267 (Departamento de Microbiología de la Universidad de Sao Pablo)]. Los productos de la PCR fueron visualizados con una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio (10 mg mL^{-1}). Se colocó 4 uL del producto de la PCR con Blue Juice 5X INVITROGEN®, incluyendo como control 5 uL del marcador de peso molecular Low DNA Mass Ladder INVITROGEN®. Se observaron bandas en un rango de 1200 bp que corresponde al gen PKS-I (Ayuso y Genilloud, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron 530 colonias de actinomicetos de las cuatro provincias, de estas 204 fueron morfológicamente diferentes y se distribuyeron: 66 – Carchi, 40 – Pichincha, 51 – Chimborazo y 47 – Loja. De las colonias evaluadas el 27% (55) correspondieron a la categoría 1. Estos resultados concuerdan con los trabajos realizados por Nguyen et al. (2018) y Lozoya (2006) donde demostraron la importancia de los actinomicetos como antagonistas de hongos y oomicetos fitopatógenos. En las muestras de la provincia de

Chimborazo se obtuvo el mayor número de cepas categoría 1 (15). En la Tabla 2 se muestran los resultados para cada provincia.

Tabla 2. Número de actinomicetos por provincia y por categoría de inhibición

Categoría	Carchi	Pichincha	Chimborazo	Loja	Total
1	13	13	15	14	55
2	9	5	6	4	24
3	17	5	16	8	46
4	7	13	10	15	45
5	20	4	4	6	34
Total	66	40	51	47	204

El 93% de las muestras de actinomicetos categoría 1 amplificaron para el gen PKS-I. Para los 34 actinomicetos categoría 5 probados, ninguno amplificó para el gen PKS-I. Esto concuerda con los resultados del trabajo de Sthapit et al. (2004) donde la presencia de este gen está relacionada con la producción de compuestos bioactivos.

CONCLUSIONES

Las cepas de actinomicetos categoría 1 produjeron compuestos bioactivos que inhibieron el crecimiento de *P. infestans*. Estos compuestos están relacionados con la presencia del gen PKS I. El uso de los compuestos bioactivos de actinomicetos tiene un alto potencial para su uso como control biológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso-Sacido, A. & Genilloud, O. 2005. New PCR primers for the screening of NRPS and PKS-I systems in actinomycetes: detection and distribution of these biosynthetic gene sequences in major taxonomic groups. *Microbial ecology*, 49(1), 10-24.
- Choi, S., Kim, H., Lee, H., Kim, P. & Kim, E. 2015. Genome mining of rare actinomycetes and cryptic pathway awakening. *Process Biochemistry*, 50(8), 1184-1193.
- Ganesan, P., Reegan, A., David, R., Gandhi, M., Paulraj, M., Al-Dhabi, N. & Ignacimuthu, S. 2017. Antimicrobial activity of some actinomycetes from Western Ghats of Tamil Nadu, India. *Alexandria journal of medicine*, 53(2), 101-110.
- Hussain, T., Singh, B. & Anwar, F. 2015. Development of specific marker for PCR diagnostic of late blight of potato caused by *Phytophthora infestans* using RAPD based SCAR methodology. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Hwang, K., Kim, H., Charusanti, P., Palsson, B. & Lee, S. 2014. Systems biology and biotechnology of *Streptomyces* species for the production of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 32(2), 255-268.
- Kouadri, F., Al-Aboudi, A. & Khyami-Horani, H. 2014. Antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. isolated from the gulf of Aqaba-Jordan and screening for NRPS, PKS-I, and PKS-II genes. *African Journal of Biotechnology*, 13(34).

- Nguyen, P., Strub, C., Durand, N., Alter, P., Fontana, A. & Schorr-Galindo, S. 2018. Biocontrol of *Fusarium verticillioides* using organic amendments and their actinomycete isolates. *Biological Control*, 118, 55-66.
- Sthapit, B., Oh, T., Lamichhane, R., Liou, K., Lee, H., Kim, C. & Sohng, J. 2004. Neocarzinostatin naphthoate synthase: an unique iterative type I PKS from neocarzinostatin producer *Streptomyces carzinostaticus*. *FEBS letters*, 566(1-3), 201-206.

Evaluación del consorcio *Trichoderma spp.* - *Bacillus spp.* como biocontroladores de *Fusarium oxysporum* causante de la marchitez vascular en *Physalis peruviana* (uvilla) en Ecuador

Alexander D. Silva^{1*}, Jeniffer M. Yáñez¹

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador – PUCE, Escuela de Ciencias Biológicas. Quito, Ecuador. * Autor de correspondencia: adsilva1992@hotmail.com

Palabras clave: Biocontrol, antagonismo, compatibilidad, consorcio.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN:

La uvilla (*Physalis peruviana*) en la actualidad, es una importante fuente de ingresos de muchas familias ecuatorianas. La demanda internacional del fruto de la planta de uvilla ha provocado que el cultivo se incremente a nivel nacional (PROECUADOR, 2017). El marchitamiento vascular en *P. peruviana* producido por el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* (*Fox*) es uno de los principales problemas fitosanitarios en cultivos de solanáceas (Fischer, Almanza y Miranda, 2014). Para el control del patógeno se utilizan fungicidas sin resultados satisfactorios como es el caso del Benzomil. El uso excesivo de estos agroquímicos provoca resistencia del patógeno a los mismos (Giulliana et al., 2008). Este estudio propuso aislar e identificar morfológica y molecularmente a *Trichoderma spp.* y *Bacillus spp.*, para evaluar su capacidad antagonista y utilizarlos juntos como alternativa biológica ligada al control de *Fox* en ensayos a nivel de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se obtuvieron muestras de 12 zonas productoras de uvilla pertenecientes a cuatro provincias de la Sierra ecuatoriana. De un total de 252 muestras de suelo recolectadas y procesadas, se consiguieron 25 aislados de hongos *Trichoderma spp.* y 36 de bacterias *Bacillus spp.* Todos los géneros fueron identificados morfológicamente por características macro y microscópicas. El hongo fitopatógeno también fue obtenido de las mismas zonas muestreadas para biocontroladores. Para la identificación molecular, se extrajo el ADN de los aislados, se amplificó el mismo mediante la reacción PCR, utilizando los *primers* ITS 1 y 4 para hongos, y para bacterias los *primers* PA forward y PH reverse dirigidos al gen 16S rRNA. El antagonismo de *Bacillus* contra *Fox* fue evaluado en medio PDA y se escogieron las diez mejores cepas bacterianas antagonistas para ensayos de compatibilidad. Las cepas fueron identificadas molecularmente como *B. subtilis* y *B. cereus*. La misma prueba fue aplicada a las cepas de *Trichoderma* y se eligieron siete aislados de diferentes especies con inhibición superior al 50%. Los biocontroladores seleccionados fueron probados conjuntamente *in vitro* en medio PDA, para establecer su coexistencia. Se consideró como compatibilidad, el crecimiento conjunto sin halos de inhibición. Los microorganismos compatibles fueron enfrentados a *Fox* en una solución de agua destilada en medio PDA y se observó su crecimiento e inhibición por 11 días (Tejera, Heydrich y Rojas, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

B. cereus presentó compatibilidad con *Trichoderma* mientras que *B. subtilis* no. Con estos resultados, se seleccionaron 14 combinaciones de *Trichoderma* - *Bacillus* como potenciales controladores biológicos del fitopatógeno. Cabe recalcar que la acción biocontroladora fue diversa, inclusive con las cepas obtenidas de las mismas zonas de

cultivo, debido a que la capacidad antagonista del género *Trichoderma* no depende de la especie, pero sí de la cepa específica y de su lugar de extracción (Hoyos et al., 2008).

Todas las combinaciones obtuvieron porcentajes de inhibición superiores a los individuales señalando una acción eficiente y combinada de los compuestos activos bacterianos y fúngicos de ambos antagonistas (Yobo, 2005). *T. tomentosum* (MH729900) y *T. gamsii* (MH729907) acompañados de *B. cereus* (MH729915) fueron las mejores combinaciones.

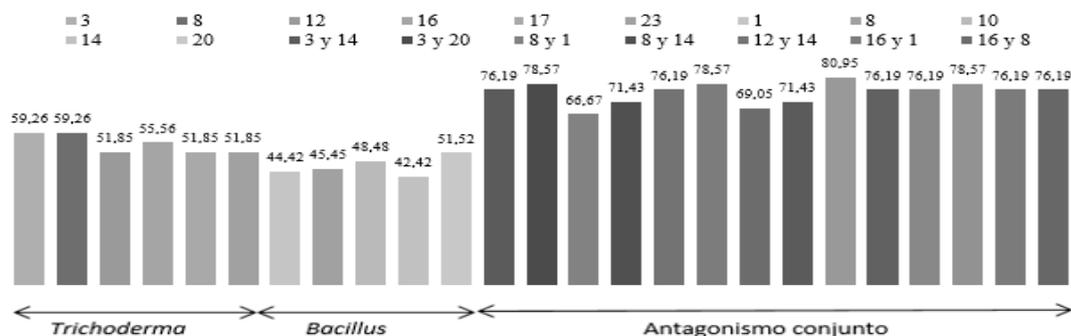


Figura 1. Comparación entre el porcentaje de inhibición micelial invidual y conjunto de las cepas compatibles.

CONCLUSIONES:

La acción conjunta de los microorganismos obtenidos de las mismas zonas de origen del fitopatógeno, produjo el incremento de la acción biocontroladora, pronosticando así el éxito de estas pruebas a nivel de planta, tanto de forma individual como en consorcio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Fischer, G., Almanza, P., & Miranda, D. 2014. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1). Recuperado de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452014000100003
- Giulliana, L., Reque, R., Sánchez, F., Campos, L., Krugg, J., & Ríos, M. (2008). Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista REBIOL*, 28 (2). Recuperado de http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=47&tmpl=component&format=raw&Itemid=62
- Hoyos, L., Duque, G., & Orduz, S. (2008). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(1), 76-86. Recuperado de <http://www.soccolhort.com/revista/pdf/magazin/Vol2/vol.2%20no.1/ Vol.2.No.1.Art.7.pdf>
- PROEcuador. 2017. *Incrementa la exportación de uvilla deshidratada hacia Alemania en un 160%*. Recuperado de <http://www.proecuador.gob.ec/2017/01/31/incrementa-la-exportacion-de-uvilla-deshidratada-hacia-alemania-en-un-160/>
- Tejera, B., Heydrich, M., & Rojas, M. 2012. Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de protección Vegetal*, 2(27). Recuperado de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000200008

Yobo, K. 2005. Biological control and plant growth promotion by selected *Trichoderma* and *Bacillus* species. Escuela de ciencias ambientales aplicadas. Pietermaritzburg, Sudáfrica. 190 p.



Control de calidad

Control de calidad de formulaciones biológicas

Ana, K. Pincay¹, Cynthia, E. Perdomo², Francisco Báez¹, Jayanthi Swaminathan³, Laura Villamizar³, Stefan Jaronski⁴, William Viera¹, Trevor Jackson³,

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Sector Cutuglagua, km 1½, Mejía, Pichincha, Ecuador, CP: EC170353.

² Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura IICA. Av. 12 de octubre, Quito, Pichincha, Ecuador

³ AgResearch, 1365 Springs Rd, Lincoln 7674, Nueva Zelanda

⁴ Agricultural Research Service, Department of Agriculture USDA, Estados Unidos.

*Autor para correspondencia: anapincay3475@gmail.com

Palabras clave: Microorganismo benéficos, viabilidad, concentración, pureza.

Área temática: Control de calidad.

RESUMEN

El uso de formulaciones biológicas pretende disminuir la aplicación de agroquímicos en los cultivos, mitigando el impacto ambiental y disminuyendo los costos de producción. Sin embargo, los beneficios que ofrecen los microorganismos, solo se logran con un adecuado control de calidad en el proceso de elaboración de bioformulados, el cual verifica la concentración, viabilidad y efectividad del ingrediente activo durante la vida útil del producto. Puesto que si el control de calidad es inadecuado, la contaminación del producto final es inevitable; debiendo reconocer que los procedimientos de control de calidad pueden ser más complejos y tecnológicamente más exigentes que los propios de producción (Jenkins y Grzywacz, 2003).

El control de calidad de un bioformulado puede ser dividido en dos instancias importantes: la primera considera el control durante la producción, para asegurar que las operaciones unitarias estén controladas, con el mínimo porcentaje de riesgos y variabilidad. La segunda corresponde al control del producto final, el cual asegura que bioformulado que es empacado y comercializado cumple con los estándares declarados en su registro. Los objetivos más relevantes del control de calidad de las bioformulaciones son: corroborar las especificaciones establecidas por el fabricante, mantener consistencia entre lotes de producción y asegurar la aceptación del producto final (Ravensberg, 2011).

Con el fin de realizar un adecuado control de calidad de productos biológicos, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), AgResearch - Nueva Zelanda y el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) - Ecuador, han venido trabajando en la elaboración de protocolos y directrices para el control de calidad de bioformulaciones, con procedimientos esenciales para realizar un buen control de calidad del producto terminado; buscando el equilibrio entre el uso de tecnología moderna y los recursos limitados en los países en vías de desarrollo.

Los análisis de calidad empleados son:

- Microbiológico: en el que se evalúa la viabilidad del producto determinada por la concentración de células por gramo o mililitro, el número de unidades formadoras de colonia (UFC)/g o ml, el porcentaje de germinación de los conidios. la pureza del producto para conocer si existe algún contaminante que afecte la estabilidad

del microorganismo y las pruebas del nivel de eficiencia del proceso de formulación (Marín y Bustillo, 2016).

- Físicoquímico: en el que se evalúa las características físicoquímicas de producto, las pruebas dependen del tipo del material base que contenga el ingrediente activo. Las más relevantes son la actividad de agua, porcentaje de humedad, valor de pH entre otras (Hidalgo, 2014). Las metodologías desarrolladas en el Laboratorio de Control Biológico de la Estación Experimental Santa Catalina han sido adaptadas del Consejo Analítico de Pesticidas Internacional Colaborativo (CIPAC); metodología que hace referencia a productos químicos, considerando que los productos a base de microorganismos no cuentan con una normativa establecida para su control en el país.
- Actividad biológica: se evalúa la actividad antagonista, o insecticida que posee el microorganismo (Bautista, et al. 2014).

Durante estos años de cooperación internacional, se ha dictado talleres para difundir las metodologías del control de calidad de productos biológicos a técnicos de empresas públicas y privadas. A partir de los cuales, se creó la Red de Técnicos en Control Biológico, la misma que está conformada por 42 personas, entre las que se encuentran técnicos laboratoristas, asistentes de laboratorio y gerentes de empresas privadas. El 67% del total de personas en la red corresponden a empresas gubernamentales o está estrechamente ligada al Ministerio de Agricultura (MAG), y el 33% restante corresponden a empresas privadas que se encargan de la producción y comercialización de productos biológicos en el país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bautista, L; Cardona, J; Soto, A; Velez, P. 2014. Actividad entomopatógena de tres hongos sobre *Hortensia similis* (Hemiptera:Cicadellidae) y *Collaria scenica* (Hemiptera:Miridae) en sistemas silvopastoriles. Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural 18 (1): 188-196.
- Hidalgo, C. 2014. Especificaciones de plaguicidas y equivalencia. Costa Rica. Obtenido de <https://www.croplifela.org/PDF/documentos/Libro-Equivalencias-Plaguicidas.pdf>
- Jenkins, N; Grzywacz, D. 2003. "Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures". En: Van Lenteren, J. (Ed.). Towards the standardization of quality control of fungal and viral biological control agents. Silwood Park: CABI Bioscience.
- Marín, P. y Bustillo, Á. 2016. Pruebas Microbiológicas y Físico - Químicas para el control de calidad de hongos entomopatógenos. Control, 1–18.
- Ravensberg, W. 2011. A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods. Progress in Biological Control. Chapter 4 10: 129 – 170



Control biológico para la conservación de la biodiversidad

¿Afectan el manejo del cafetal y la heterogeneidad del paisaje la diversidad de biocontroladores y el control biológico de la broca?: caso de paisaje cafetero en el sur occidente Colombiano

Selene Escobar-Ramirez^{1*}, Ingo Grass¹, Inge Armbrecht² & Teja Tschardt¹

¹Universidad de Göttingen & ²Universidad del Valle. Email: sescoba@uni-goettingen.de

Palabras clave: *Hypothenemus hampei*, enemigos naturales, complejidad de hábitat.

Area temática: Control biológico para la conservación de la biodiversidad.

INTRODUCCIÓN

La broca (*Hypothenemus hampei*) afecta directamente el peso y la calidad de los frutos del café y es considerada la principal plaga económica de este cultivo en el mundo (Oliveira et al. 2013, Infante et al., 2014; Vega et al., 2015). Dentro de la estrategia de Manejo Integrado de la broca, el control biológico ha recibido gran atención (Jaramillo et al. 2006, Aristizábal et al. 2016). Sin embargo, a pesar de la creciente literatura sobre los importantes efectos del paisaje sobre la diversidad de biocontroladores y el servicio ecosistémico de biocontrol en agroecosistemas (Bianchi et al. 2006, Tschardt et al. 2007, Gámez et al. 2012), aún no sabemos si *i*) la heterogeneidad del paisaje cafetero afecta los patrones de diversidad de los biocontroladores de la broca, y si *ii*) los factores a escala local y del paisaje afectan las tasas de ataque a los frutos.

MÉTODOS

En paisajes cafeteros de Cauca, y considerando un conocido agente de biocontrol de broca (las hormigas) (Perfecto et al. 2014, Morris et al. 2018), evaluamos la respuesta de la alfa y beta diversidad de hormigas asociadas al follaje del café, en respuesta a factores de manejo del cultivo a escala local (e.j. café de sol vs. café de sombra en relación al bosque), y factores a escala del paisaje (e.j. porcentaje de bosque rodeando el cafetal). Para ello, se realizó un análisis de partición aditiva de riqueza de especies (Lande, 1996, Clough et al. 2007). En segundo lugar, evaluamos la respuesta de las tasas de ataque a frutos, en respuesta a la presencia de hormigas, junto con las prácticas de manejo a escala local y de paisaje. Se corrieron modelos lineales de efectos mixtos y se empleó el criterio de información AIC para la selección de modelos que mejor explicaran la variable de respuesta (Burnham and Anderson, 1998).

RESULTADOS

Para la primera parte, el recambio de especies de hormigas entre parcelas se redujo con la intensidad de manejo, pasando de 15 especies entre fragmentos de bosque, a 11 entre cafetales de sol. A escala de paisaje, el porcentaje de bosque rodeando el cafetal no afectó la diversidad de hormigas, ni el recambio de especies. Para la segunda parte, encontramos que cuando las hormigas eran excluidas de las ramas de café, hubo un aumento relativo significativo del 17% en las tasas de ataque a los frutos. Factores locales, como un mayor número de ramitas en suelo y la ausencia de sombra, se relacionaron con menores tasas de infestación de broca. A escala de paisaje, mayores tasas de ataque de broca se relacionaron con mayores secciones perimetrales de cafetal lindando con otros cultivos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se demostró que i) la presencia de hormigas, ii) la diversidad de hormigas, y ii) factores de manejo locales y del paisaje, interactúan y explican los ataques de broca. Paisajes cafeteros dominados por cafetales de sol, amenazan la diversidad de biocontroladores nativos de la broca. El control biológico de broca, debe incorporar un enfoque de Control Biológico por Conservación (Gurr et al. 2000, Barbosa 2003, Tschardt et al. 2007, Begg et al. 2017) orientado a aumentar la abundancia y eficacia de biocontroladores a escala local y del paisaje cafetero, a través de promover prácticas agrícolas que incrementen la riqueza y abundancia de biocontroladores a escala de la finca, así como la preservación de hábitats forestales que permitan un alto recambio de biocontroladores a través del paisaje cafetero.

REFERENCIAS

- Aristizábal, L.F., Bustillo, A.E., Arthurs, S.P., 2016. Integrated pest management of coffee berry borer: Strategies from latin america that could be useful for coffee farmers in Hawaii. *Insects* 7, 11–14. <https://doi.org/10.3390/insects7010006>
- Barbosa, P., 2003. Conservation biological control. Academic Press, San Diego, USA.
- Begg, G.S., Cook, S.M., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., Lövei, G.L., Mansion-Vaquie, A., Pell, J.K., Petit, S., Quesada, N., Ricci, B., Wratten, S.D., Birch, A.N.E., 2017. A functional overview of conservation biological control. *Crop Prot.* 97, 145–158. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2016.11.008>
- Bianchi, F.J.J. a, Booij, C.J.H., Tschardt, T., 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proc. Biol. Sci.* 273, 1715–1727.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 1998. Model Selection and Multimodel Inference. A Practical Information-Theoretic Approach. Springer, Berlin, Germany.
- Clough, Y. et al. (2007) “Alpha and beta diversity of arthropods and plants in organically and conventionally managed wheat fields,” *Journal of Applied Ecology*. Blackwell Publishing Ltd, 44(4), pp. 804–812. doi: 10.1111/j.1365-2664.2007.01294.x.
- Gámez-Virués, S., Jonsson, M., Ekbohm, B., 2012. The ecology and utility of local and landscape scale effects in pest management., in: Gurr, G.M., Wratten, S.D., Snyder, W.E. (Eds.), *Biodiversity and Insect Pests: Key Issues for Sustainable Management*. Wiley Blackwell, Oxford., pp. 106–120.
- Gurr, G.M., Wratten, S.D., Barbosa, P., 2000. Success in Conservation Biological Control of Arthropods, in: *Biological Control: Measures of Success*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 105–132. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4014-0_4
- Jaramillo, J., Borgemeister, C., Baker, P., 2006. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. *Bull. Entomol. Res.* 96, 223–233. <https://doi.org/10.1079/BER2006434>
- Lande, R. (1996) “Statistics and partitioning of species diversity, and similarity among multiple communities,” *Oikos*, 76(1), pp. 5–13.

- Tscharntke, T., Bommarco, R., Clough, Y., Crist, T.O., Kleijn, D., Rand, T.A., Tylianakis, J.M., Van Nouhuys, S., Vidal, S., 2007. Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. *Biol. Control* 43, 294–309. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.006>
- Vega, F.E., Infante, F., Johnson, A.J., 2015. The genus *Hypothenemus*, with emphasis on *H. hampei*, the Coffee Berry Borer, in: Vega, F.E., Hofstetter, R.W. (Eds.), *Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. Elsevier/Academic Press, London, pp. 427–494. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00011-3>

Búsqueda de controladores biológicos de la mora (*Rubus niveus*) en la isla San Cristobal - Galápagos.

Noelia N. Barriga^{1,3*}, Tia Decker^{2,5}, Darío X. Ramírez^{1,3}, Andrés E. León-Reyes⁴, Valerie Dong², Catherine Worley², Carlos Ruales¹, Antonio León-Reyes^{1,2,3,4,5}

¹Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos, Ingeniería en Agronomía, Colegio de Ciencias e Ingenierías, Universidad San Francisco de Quito, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

²Galapagos Science Center (GSC), Universidad San Francisco de Quito, San Cristóbal-Ecuador.

³Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales COCIBA Universidad San Francisco de Quito USFQ, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

⁴Instituto de Investigaciones Biológicas y Ambientales BIÓSFERA, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales COCIBA, Universidad San Francisco de Quito, Campus Cumbayá, Quito, Ecuador.

⁵Environmental Sciences, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599

*nnbarriga@usfq.edu.ec

Palabras clave: Fitopatógenos, *Rubus niveus*.

Área temática: Control biológico para la conservación de la biodiversidad.

INTRODUCCIÓN

Desde que las Islas Galápagos fueron descubiertas, se han introducido muchas especies de plantas y animales al archipiélago. Algunas especies se han convertido en invasoras, donde la mora (*Rubus niveus*) es la más importante. Ésta fue introducida en la época de los 80 (Landázuri, 2010) debido a las necesidades alimenticias de la isla (Valdivieso, 2014), y ha invadido la mayoría de las partes húmedas estimando que cubre más de 35.000 hectáreas (Rentería *et al*, 2012). Se la considera una amenaza debido a que es un arbusto perenne trepadora, alcanzando los 5 metros de altura lo cual ocasiona una barrera impenetrable para el hombre, tiene un ciclo de vida corto, tallos suaves y espinosos y sus semillas pueden permanecer viables en el suelo hasta 10 años, características que le ayudan a su dispersión y a competir con otras especies en espacio y nutrientes (Fundación Darwin, 2015). En la actualidad, el control se lo realiza con la erradicación manual y aplicación de herbicidas, pero su rápido crecimiento y diseminación de semillas hacen que estos métodos sean caros y, en última instancia, no sean exitosos (Rentería *et al*, 2012 & Center for Agricultural Bioscience International, 2016).

Se ha propuesto otro método, el control biológico, que ha sido utilizado en todo el mundo para suprimir especies invasoras no nativas, incluyendo Galápagos. Este método utiliza organismos vivos como insectos/patógenos para reducir el problema. La selección del agente usado para el control biológico debe colonizar a las especies invasoras o de destino reduciendo su impacto y puede ser bacterias, hongos y levaduras (Calvo, 2014), los cuales inhibirán el crecimiento de la planta (Nichols *et al*, 2015) o la tendrán bajo control, manteniendo costos bajos. Esto no sólo reducirá el costo de la gestión de los agricultores y el Parque Nacional Galápagos, sino que podría recuperar la vegetación nativa y su fauna asociada. Debido a estos antecedentes, el presente estudio se ha propuesto como objetivo aislar y caracterizar hongos fitopatógenos, provenientes de moras enfermas en la Isla San

Cristóbal, para usarlos como biocontrol contra ésta, e identificarlos de manera microscópica y molecular para conocer sobre el modo de vida de éstos evaluando con bioensayos su grado de infección en moras sanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

Las muestras fueron recolectadas en 50 puntos diferentes de la Isla San Cristóbal (Permiso Contrato Marco MAE-DNB-CM-2016-0041-M-0001). Se tomaron muestras sanas y enfermas en fundas y se guardaron en un cooler para ser trasladadas al laboratorio de Microbiología del Galapagos Science Center (USFQ)

Aislamiento y purificación de patógenos

Se tomaron las muestras enfermas (hojas, tallo, fruto) y se sembraron en cajas Petri con medios de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) para el aislamiento de hongos. Después de observar el crecimiento de los hongos durante 7 días, se aislaron a cajas Petri individuales para lograr la purificación de cada microorganismo.

Identificación microscópica y molecular

Para la identificación microscópica se usó el método de la cinta scotch más azul de metileno y el microscopio OLYMPUS CX22 con un aumento de 100X. Por otra parte, para la identificación molecular se extrajo el ADN con el kit Fungal DNA mini kit (OMEGA) y se usó marcadores de ADN la región ITS para la amplificación del segmento (PCR). Estos fueron enviados a la empresa MACROGEN para su posterior secuenciamiento.

Pruebas de patogenicidad (Bioensayos)

Se colocó 5µl de cada hongo con PDB en hojas de mora sanas con 7 folíolos, las cuales fueron colocadas en cámaras húmedas para ver el grado de infección durante 7 días, el cual fue medido por milímetros. Se repitió este procedimiento 4 veces por cada hongo aplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron muestras enfermas en la isla San Cristóbal que presentaban diferentes síntomas tanto en hojas, tallos y frutos, de las cuales se logró aislar un total de 470 hongos (Fig. 1). A partir de estos hongos, se los separó por diferencia fenológica, obteniendo un total de 161 hongos que fueron usados para las pruebas de patogenicidad. A partir de este procedimiento se logró identificar 38 posibles candidatos, donde 3 hongos logran dañar a la hoja completa (Fig. 2). Se ha identificado hasta el momento, de manera morfológica y molecular, los siguientes: *Fusarium proliferatum*, *Fusarium fujikuroi*, *Pestalotiosis versicolor*, *Colletotrichum gloeosporoides*, *Colletotrichum acutatum*, *Acremonium kiliense*, *Colletotrichum kahawae*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium rofsii*.

La búsqueda bibliográfica indica que son hongos generalistas y que tienen varios hospederos, por lo cual no hemos encontrado un hongo específico para la mora, por tal razón se siguen haciendo aislamientos para encontrar un candidato como control biológico contra la mora en las Islas Galápagos.

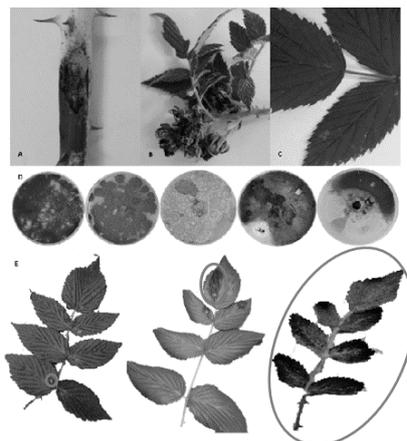


Fig. 1. Muestras de *Rubus niveus* que presentan daño A) en tallo, B) en fruto y C) en hoja. D) Aislamientos de hongos provenientes de muestras en medio de cultivo (Potato Dextrose Agar, PDA). E) Pruebas de patogenicidad (se indica la lesión en círculos).

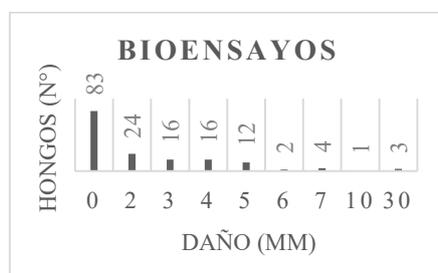


Fig. 2. Bioensayos o ensayos de patogenicidad. Nivel de infección de 161 hongos. Daño representado en expansión de la lesión en mm.

CONCLUSIONES

De la presente investigación se llegó a concluir que en las islas Galápagos existe una gran diversidad de hongos, ya que se logró aislar 470 hongos a partir de una sola especie de planta (*Rubus niveus*), lo cual no se observa en el continente, identificando así, hasta el momento, 5 géneros patógenos (*Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Acremonium* sp., *Penicillium* sp.), donde 3 hongos lograron infectar toda la planta. Todos los hongos identificados son reportados como hongos patógenos de algunos cultivos, los que les hace muy generalistas y no específicos de la mora.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calvo, J. 2014. Control biológico del moho gris en cultivo de mora: uso de hongos antagonistas para el control biológico. Editorial Académica Española. Barcelona.
- Center of Agricultural Bioscience International. 2016. Invasive Species Compendium: *Rubus niveus* (Mysore Raspberry).
- Fundación Darwin. 2015. *Rubus niveus*. Galapagos species checklist.
- Landázuri, O. 2010. La 'mora' *Rubus niveus*, algunos datos importantes sobre la especie en el contexto de la problemática de control y erradicación de la especie. Ecuador.

- Nichols, V., Verhulst, N., Cox, R., Govaerts, B. 2015. Agricultura de conservación y manejo de malezas. México. Centro Internacional de Mejoramiento de maíz y trigo.
- Rentería JL, Gardener MR, Panetta FD, Atkinson R, Crawley MJ. 2012. Possible Impacts of the Invasive Plant *Rubus niveus* on the Native Vegetation of the Scalesia Forest in the Galapagos Islands.
- Valdivieso, J. 2014. Creación de un modelo estándar de capacidad de gestión eficiente para áreas protegidas: estudio de caso de varias zonas del mundo. Barcelona.

Caracterización molecular de la diversidad fúngica de los bosques Llucud y Palictahua: Potencialidades en control biológico

Norma S. Erazo¹; Juan C. Manzano¹; Blanca D. Patiño¹

¹ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. E-mail: juan.manzano@esPOCH.edu.ec

Palabras clave: Biodiversidad, Microbiota, Plaguicidas.

Área temática: Control biológico para la conservación de la biodiversidad.

INTRODUCCIÓN

El control de las plagas y enfermedades que causan pérdidas en la producción de los cultivos agrícolas, depende en gran medida de la aplicación de plaguicidas químicos. El uso indiscriminado de estos productos ocasiona graves problemas de contaminación ambiental, afectaciones en la salud humana e incremento en la resistencia de estos organismos patógenos (Ibarra et al., 2006). La falta de opciones biológicas de control al alcance de los agricultores, deriva en una nociva dependencia hacia estas moléculas importadas, acrecentando aún más la problemática de la agricultura en el país.

La utilización de microorganismos nativos en el control biológico de plagas y enfermedades es una alternativa muy atractiva. Afortunadamente y enmarcándose hacia una producción sustentable se cuentan con grandes reservorios de diversidad microbiana en nuestro país. Los bosques nativos Andinos Llucud y Palictahua, se destacan como ecosistemas montanos únicos en la región sierra, caracterizados por su gran diversidad florística arbórea, con índices de Simpson de 0,85 y 0,91 respectivamente (Caranqui et al., 2014).

Al estimarse que, alrededor del 99% de microorganismos que habitan un suelo no son cultivables, el uso de herramientas moleculares como la secuenciación de próxima generación (NGS), adquiere gran relevancia para tener mayor accesibilidad a los recursos genéticos contenidos en un suelo (Cadena et al., 2016).

El objetivo de esta investigación fue caracterizar la diversidad fúngica de los bosques nativos Andinos Llucud y Palictahua de la provincia de Chimborazo, mediante el análisis de la región ITS, para el posterior establecimiento de sus potencialidades en el control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

La caracterización molecular se realizó mediante la técnica Illumina Sequencing by Synthesis, de muestras compuestas tomadas del horizonte A (rizósfera) de cada bosque, en un área experimental de 1 hectárea, cuyos resultados se presentaron en software Krona, en extensión de archivo HTML, al cual se puede acceder a través del siguiente enlace: <https://drive.google.com/open?id=1jJ6C20T43ZHtQRqSM-JdflprVOtfuMj>.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad Microbiana Fúngica del bosque Llucud y Palictahua

Se identificaron 56 especies de hongos en Palictahua y 38 en Llucud, presentándose en ambos bosques un total de 6 hongos con importantes potencialidades para su uso en el control biológico, dentro de las cuales se encontraron: *Brachyphoris oviparasitica* (nematófago), *Simplicillium* (entomopatógeno y micoparásito), *Hamamotoa lignophila* (levadura con actividad Killer) en Llucud, y *Metarhizium robertsii* (entomopatógeno),

Brachyphoris oviparasitica (nematófago) y *Paraphaeosphaeria parmeliae* (micoparásito) en Palictahua.

También existió una gran variedad de promotores de crecimiento de las plantas (PGPR por sus siglas en inglés), hongos micorrízicos y hongos con variedad de aplicaciones biotecnológicas, industriales, ecológicas, alimenticias e incluso médicas entre las que destacan: *Serendipita herbamans*, *Claroideoglosum luteum*, *Glomus macrocarpum*, *Pezoloma ericae*, *Trichoderma*, *Acaulospora cavernata*, *Ambispora fennica*, *Claroideoglosum luteum*, *Diversispora spurca*, *Rhizophagus proliferus*, *Rhizopogon subbadius*, *Amanita vernicoccora*, *Caloplaca cancarixiticola*, *Mortierella rishiksha*, *M. epigama*, *M. humilis*, *Pezicula heterochroma*, *Saitozyma*, *Tuber turmericum*, entre otras.

Por otra parte, entre algunas de las especies patógenas se hallaron: *Arthrographis kalrae*, *Claviceps tenuispora*, *Curvularia americana*, *Coleophoma proteae*, *Deniquelata barringtoniae*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Neocoleroa metrosideri*, *Exophiala pisciphila*, *Gromochytrium mamkaevae*, *Histoplasma capsulatum*, *Malassezia nana*, *Plectosphaerella populi*, *Rousoella solani*.

Finalmente, dentro de las especies sin uso definido actualmente estuvieron: *Apiotrichum porosum*, *Apodus deciduus*, *Chirleja buckii*, *Clavaria californica*, *Clitocybe cokeri*, *Conioscypha minutispora*, *Chlorociboria macrospora*, *Dictyosporium alatum*, *Entoloma mastoideum*, *Microcera rubra*, *Ramariopsis flavescens*, *Reniforma strues*, *Thelonectria trachosa*, *Tomentella agbassaensis*, *Tricharina praecox*, entre otras.

CONCLUSIONES

La caracterización molecular de la diversidad fúngica de los bosques nativos Andinos Llucud y Palictahua, permitió dilucidar la verdadera importancia de estas formaciones naturales. Palictahua presentó mayor diversidad de hongos que Llucud, sin embargo es importante cuidar ambos bosques, por la gran riqueza microbiana autóctona de cada formación ecosistémica, con potencialidades para incorporarse a programas de control biológico de plagas agrícolas y un sinnúmero de aplicaciones en varios campos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cadena, J. et al. (2016). Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. *AGROproductividad*, 9(2):70-83.
- Caranqui, J. et al. (2014). Avances en la diversidad y composición florística en los páramos y bosques de la provincia de Chimborazo. ESPOCH, GADP Chimborazo. 76 p.
- Ibarra, J. et al. (2006). Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. *Rev Latinoam Microbiol.* 48(2):113-120.



**Normativa,
legislación e
impacto socioeconómico**

Normativa para el ingreso de controladores biológicos

Viviana M Duque

1 Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos. E-mail: viviana.duque@abgalapagos.gob.ec

Palabras Calve: Instructivo, Normativa, Uso.

Área temática: Normativa, legislación e impacto socioeconómico.

INTRODUCCIÓN

Se puede mencionar que, hasta el momento, no existen técnicas para mitigar efectivamente la amenaza de la mosca parásita, *Philornis downsi*, la cual afecta directamente y en forma seria la sobrevivencia de las aves terrestres de Galápagos. A pesar de los considerables esfuerzos de investigación y experimentos en el laboratorio y en el campo, existen aún brechas sustanciales en el entendimiento de la biología y ecología de *P. downsi*, lo cual ha impedido el desarrollo de métodos para su control. Otro ejemplo de esto es la mosca negra (*Ocraceum simullium*) que afecta a los productores de San Cristóbal y hasta el momento no existe un método de control efectivo.

La Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG) en conjunto con otras instituciones se encuentran desarrollando estrategias para buscar mecanismos de control de varias especies introducidas, los cuales fueron expuestos en el año 2012 en un taller internacional organizado por la Dirección del Parque Nacional Galápagos (DPNG) y la Fundación Charles Darwin (FCD). Los participantes del taller concluyeron que el desarrollo de herramientas efectivas de manejo dependerá del esfuerzo conjunto y coordinado entre expertos de diferentes partes del mundo y el apoyo de instituciones tanto públicas como privadas, quienes se encuentran trabajando en diversas áreas de la biología, control y manejo de insectos, y ornitología. Las actividades de investigación y sus prioridades están delineadas en un plan estratégico de investigación (Plan de Acción de *Philornis downsi*) liderado por la FCD; sin embargo, la ABG como institución encargada de la bioseguridad en las islas Galápagos se encuentra realizando la normativa que regule y controle el ingreso de agentes de control biológicos y otros organismos benéficos a las islas.

Debido a lo antes mencionado, se está trabajando en una propuesta de procedimiento de ingreso de nuevos agentes de control biológico para tener un nivel de bioseguridad para realizar un programa de control y erradicación de especies introducidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La Propuesta se encuentra enmarcada en normas internacionales, nacionales además de la experiencia de varios actores como el INIAP, MAG, DPNG, FCD y ABG.

Para obtener esta propuesta se ha realizado 4 reuniones técnicas en cuales se consolidó todos los aportes para generar un documento que regule y control el ingreso de agentes de control biológicos.

RESULTADOS

La propuesta se encuentra desarrollada con lineamientos de regulación y control como: ámbito, objeto, responsabilidades de los involucrados, conformación de un comité técnico, requisitos de los expedientes técnicos (Análisis de Riesgos, Programa de

Erradicación y Plan de contingencia) para ser evaluados, tiempos de análisis de los expedientes técnicos, manejo, cuarentena, inspección y liberación.

Esta propuesta tiene un marco de bioseguridad que contribuye a minimizar el riesgo por impacto no deseado a especies no blanco.

Se considera que el documento final se encuentra para informar al Directorio de la ABG a finales de este año.

CONCLUSIONES

Se espera tener una normativa que contribuya con el trabajo de regulación y control del ingreso de agentes de control biológico y otros organismos benéficos; que permitan contener o erradicar especies introducidas que están afectando a los ecosistemas de las islas Galápagos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.2015. Directrices para la exportación, el envío, la importación y liberación de agentes de control biológico y otros organismos benéficos.

Reglamento de Control Total de Especies Introducidas de la Provincia de Galápagos – RCTEI



Pósters

Determinación de la actividad antagonista de *Pleurotus ostreatus* sobre *Globodera pallida* en condiciones de laboratorio

María B. Arteaga¹, Carlos A. Soria¹, María E. Ordoñez¹, Pablo J. Llumiquinga²

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador, ² Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

Palabras clave: Control Biológico, Hongos Nematófagos, Nematodos Fitoparásitos.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

Globodera pallida es un nematodo que causa reducción en el desarrollo de las raíces, la producción de tubérculos y el crecimiento de las plantas. Su principal hospedero es la papa y en Ecuador genera pérdidas del 30% del rendimiento del cultivo (Revelo, 2003).

Pleurotus ostreatus, es un hongo nematófago que puede parasitar directamente a los nemátodos a través de sus hifas, y/o secretar metabolitos y enzimas con efectos que comprometen su viabilidad en una o más etapas (Regaieg et al., 2010)

El control de nemátodos en los cultivos es más complicado que el de otras plagas, debido a que éstos habitan en el suelo y atacan a las raíces de las plantas (Huang et al., 2015). Debido a la necesidad de contar con una estrategia de manejo integrado de nematodos que sea amigable con la agricultura sostenible y con la salud humana, los objetivos de esta investigación fueron: determinar la acción del micelio y del filtrado de *P. ostreatus* sobre larvas J2 de *G. pallida*; y, establecer si existen diferencias significativas entre la actividad nematocida y nematostática del micelio y el filtrado de *P. ostreatus*, sobre larvas J2 de *G. pallida*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron nematodos de *G. pallida* en forma de quistes, siguiendo el método de extracción con Elutriador de Fenwick descrito por Van Bezooijen (2006). Estos fueron expuestos a extracto de raíz de papa para inducir la eclosión de larvas J2, según la metodología de Arntzen et al. (1993).

El micelio de *P. ostreatus* fue aislado en agar agua y una vez colonizado, se inoculó con 1 ml de solución de 25 nematodos/ml. Se realizaron observaciones a las 24, 48 y 72 horas (h) luego de la inoculación. La viabilidad de las larvas fue evaluada acorde a su motilidad (Palizi et al., 2009). Se realizaron las comparaciones mediante una prueba de Tukey al 95%.

La actividad nematocida y nematostática del filtrado del caldo de cultivo de *P. ostreatus*, se analizó a las 8, 12 y 24 h post-inoculación y a cuatro diferentes concentraciones (0, 50, 75 y 100%). El filtrado del caldo de cultivo se obtuvo siguiendo la metodología de Reyes et al. (2006). Se colocó 2 ml del filtrado de *P. ostreatus* en cada una de sus concentraciones, con 1ml de solución con 25 nemátodos J2/ml, en placas de cultivo Costar de seis pocillos; se utilizó NaOH como método de determinación de viabilidad. Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial 4x3 con seis repeticiones.

La comparación del número de nemátodos muertos entre el tratamiento 24 h hifas y el tratamiento 24 h concentración 100% filtrado, se realizó utilizando una prueba de t de Student al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la variable actividad nematocida de las hifas, se encontró una relación directa entre el tiempo de exposición y el porcentaje de mortalidad de *G. pallida*. El tratamiento 72 h presenta un porcentaje de mortalidad del 80,3%. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Heydari et al. (2006) y Palizi et al. (2009).

En cuanto a la variable actividad nematostática de las hifas, se encontró una relación inversa entre el tiempo de exposición y el número de nemátodos inmóviles. El tratamiento con mayor número de nemátodos inmóviles fue el de 24 h, lo que sugiere que la mayoría de nemátodos fueron inmovilizados hasta las 24 h de exposición (34%), y luego este porcentaje se redujo debido a que las hifas iniciaron el proceso de colonización y digestión (Aguilar Marcelino et al., 2017).

Para la actividad nematostática del filtrado del caldo de cultivo de *P. ostreatus*, no existió relación entre el porcentaje de J2 inmóviles, el tiempo de exposición y la concentración del filtrado; sin embargo, el tratamiento 100%-8 h obtuvo un mayor porcentaje de nemátodos inmóviles (65,2%). Esto sugiere que el efecto nematostático de los metabolitos secundarios de *P. ostreatus* tienen un pico de exposición a las 8 h y se mantiene durante las primeras 24 h de exposición (Palizi et al., 2009)

Los resultados del efecto nematocida del filtrado mostraron que el porcentaje de mortalidad fue directamente proporcional a la concentración del filtrado y al tiempo de exposición, siendo más efectiva la combinación de factores de 100% -24 h, con una tasa de mortalidad del 41.6%.

Una de las sustancias que reducen las poblaciones de nemátodos es la toxina ácido trans-2-decenodioico (Degenkolb & Vilcinskas, 2016). Sin embargo, se observó que esta toxina tiene la capacidad de inmovilizar a las larvas, pero la muerte ocurre una vez que las hifas invaden el interior del nemátodo (Genier et al., 2015). Por otro lado, los filtrados del caldo de cultivo obtenidos en esta investigación demostraron una clara actividad nematocida, sin contener hifas.

Mediante la prueba de t se determinó que hubo diferencias significativas entre los tratamientos hifas y filtrados concentración 100% de *P. ostreatus* a las 24 h de exposición; lo que indica a este último como el tratamiento con mayor toxicidad frente a *G. pallida*.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos soportan la hipótesis de que tanto hifas como filtrados del caldo de cultivo de *P. ostreatus* presentan actividad nematocida y nematostática contra juveniles J2 de *G. pallida*.

Los hongos cultivados en medio líquido presentan metabolitos con actividad no solo nematostática, sino también nematocida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar Marcelino, L., Sánchez, J., & Mendoza de Gives, P. (2017). Uso biotecnológico de productos obtenidos a partir de *Pleurotus* spp. en el control de nemátodos parásitos de importancia pecuaria. En *La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp* (pp. 297–309).

Arntzen, F. K., Visser, J. H. M., & Hoogendoorn, J. (1993). Hatching of *Globodera pallida* juveniles by diffusate of potato genotypes, differing in tolerance to G.

- pallida. *Annals of Applied Biology*, 123(1), 83–91.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04075.x>
- Degenkolb, T., & Vilcinskis, A. (2016). Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as alternatives for biological control. Part II: metabolites from nematophagous basidiomycetes and non-nematophagous fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(9), 3813–3824. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7234-5>
- Genier, H. A., De Freitas Soares, E. F., De Queiroz, J. H., De Souza Gouveia, A., Araújo, J. V., Braga, F. R., ... Kasuya, M. C. M. (2015). Activity of the fungus *Pleurotus ostreatus* and of its proteases on *Panagrellus* sp. larvae. *African Journal of Biotechnology*, 14(17), 1496–1503.
<https://doi.org/10.5897/AJB2015.14447>
- Heydari, R., Pourjam, E., & Mohammadi Goltapeh, E. (2006). Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot Nematode, *Meloidogyne javanica* in vitro. *Plant Pathology Journal*, 5(2), 173–177.
- Huang, X., Zhang, K., Yu, Z., & Li, G. (2015). Microbial Control of Phytopathogenic Nematodes. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions* (pp. 155–164). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3>
- Palizi, P., Goltapeh, E. M., Pourjam, E., & Safaie, N. (2009). Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). *Journal of Plant Protection Research*, 49(1), 27–33.
<https://doi.org/10.2478/v10045-009-0004-6>
- Regaieg, H., Ciancio, A., Raouani, N. H., Grasso, G., & Rosso, L. (2010). Effects of culture filtrates from the nematophagous fungus *Verticillium leptobactrum* on viability of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(12), 2285–2289.
<https://doi.org/10.1007/s11274-010-0397-4>
- Revelo, J. (2003). *Memorias del curso : “ Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades del cultivo de papa ” Enfermedades de la papa*. Guayaquil.
- Reyes, J., Pineda, J., Sanabria, M. E., & Gil, E. (2006). Efectividad in vitro de filtrados de hongos aislados de frutos de maíz contra *Aspergillus flavus*. *VII Congreso SEAE*, (2000), 381–390.
- Van Bezooijen, J. (2006). Methods and Techniques for Nematology. *Wageningen*, 1–118.

Prospección de insectos parasitoides de minadores de hoja en la sierra Ecuatoriana

Karina, P Lalangui¹; Jorge, D Caicedo²

¹ Técnico docente; ² Profesor de Manejo Integrado de Plagas Universidad Central de Ecuador, Quito-Ecuador. E-mail: krilala@hotmail.com

Palabras clave: Parasitoides nativos, Himenóptera, Minadores.

Área temática: Macro controladores.

INTRODUCCIÓN

Para reducir las poblaciones de insectos plaga como minadores, defoliadores de hoja, barrenadores de tallo y fruto, etc., se han buscado métodos alternativos de control, que a su vez sean eficientes y más amigables con el medio ambiente; es así que, en el mundo se han desarrollado estrategias de control biológico especialmente enfocadas en la identificación, evaluación y utilización de enemigos naturales, ya sean estos depredadores, parasitoides o entomopatógenos (Molinari y Monetti, 1997; Salvo & Valladares, 2007), destacándose entre ellos los parasitoides, como el grupo más efectivo. El hábito de vida de un parasitoide, se ha desarrollado ampliamente en los órdenes Díptera e Himenóptera, y entre ellos los del orden Himenóptera se constituyen uno de los grupos más mega diversos proveedores de agentes de control biológico de insectos plagas de cultivos (Charles *et al.*, 2005). Sin embargo, en países megadiversos como el Ecuador no se ha realizado una prospección adecuada de estos insectos, debido principalmente a que ha existido una sub estimación o sesgos durante muestreos tradicionales que ocultan la existencia de insectos parasitoides de tamaño pequeño (Veijalainen *et al.*, 2012), por lo que el potencial que el país posee como fuente de diversidad de agentes de control biológico se está desperdiciando (Austin, 2000). Es así que el presente trabajo tuvo por objetivos, realizar una prospección de insectos parasitoides del orden Himenóptera nativos de la sierra ecuatoriana, en los insectos plaga *Liriomyza* sp., *Tuta* sp. y *Plutella* sp., que atacan a los cultivos de frejol, haba, tomate y hortalizas y a su vez determinar el porcentaje de parasitismo estimado en el período de estudio 2017-2018.

MATERIALES Y MÉTODOS

En las provincias de Pichincha, Imbabura y Cotopaxi donde existen zonas productoras de papa, frejol, tomate y hortalizas, se realizaron muestreos dirigidos (siguiendo un patrón específico en X o en zig-zag, para coleccionar muestras representativas de los insectos plaga, intentando muestrear por lo menos el 5 % de la superficie total). Estas muestras se guardaron primero en fundas de papel y luego en fundas plásticas, sin olvidar rotular cada muestra, tomando datos como, tipo cultivo, localidad y coordenadas geográficas.

En el laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador, utilizando estereomicroscopía óptica, se reconocieron galerías activas, donde se diferenciaron larvas de insectos del orden Díptera y Lepidóptera, y se contó el número de larvas por hoja. Las hojas procesadas fueron colocadas individualmente en cámaras húmedas, preparadas con una caja Petri y papel filtro humedecido con agua destilada. Durante las subsiguientes semanas, se fueron retirando hojas muertas o descompuestas y se procedió a observar la emergencia de adultos tanto de la plaga como de los parasitoides. Pasados tres días de esto, los individuos fueron puestos en cámaras

letales de algodón más formol, para acelerar su muerte y proceder con su montaje. Los especímenes grandes (1 a 5 mm) fueron montados en alfiler entomológico Minucia N° 0,20 mm o en triángulos de cartulina con alfiler entomológico N° 1; mientras que los más pequeños fueron guardados directamente en viales de plástico de 1,5 ml con alcohol al 75%.

Para el cálculo del porcentaje de parasitismo se sacó una regla de 3 entre el número de larvas capturadas en campo y el número de parasitoides obtenidos en cada localidad.

$$\%Pr = (TPe/TLc)100$$

Donde:

%Pr: porcentaje de parasitismo

TPe: Total de insectos parasitoides encontrados

TLc: Total de larvas colectadas en campo

Posteriormente se promedió el porcentaje de parasitismo entre todas las localidades.

Los adultos montados fueron identificados a nivel de superfamilia y familia con la clave: Hymenoptera of the world: An identification guide to families/edited by Henri Goulet, John T. Huber (1993), mientras que su identificación a nivel de género se realizó con claves más específicas encontradas en la web.

Las fotografías fueron tomadas con el estereomicroscopio OLYMPUS modelo SZ61 con el software CellSens del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador. Para observar mejor los detalles de cada imagen, se utilizó la técnica de Focus Stacking del programa Photoshop CC 2015, mientras que para realizar mediciones se utilizó el programa ImageJ.

RESULTADOS

Se encontraron un total de nueve géneros diferentes de insectos parasitoides nativos, distribuidos en cuatro superfamilias (Chalcidoidea, Proctotrupeoidea, Cynipoidea e Ichneumonoidea), seis familias (Eulophidae, Myrmaridae, Diapriidae, Figitidae, Braconidae e Ichneumonidae), del orden Himenóptera. Del total de géneros encontrados, solo se identificó a nivel de género a los pertenecientes a la superfamilia Ichneumonoidea (*Coelinus* sp., *Opiinae* sp., *Aphanteles* sp. y *Diadegma* sp.). El porcentaje de parasitismo encontrado en *Liriomyza* sp. fue de 31, 4 %, 7,5 % y 4,7 % en los cultivos de haba, fréjol y papa, respectivamente. En *Tuta* sp. fue del 2 % en cultivo de tomate y el de *Plutella* sp. fue de 10 % en cultivos de hortalizas (especialmente coles).

El porcentaje de parasitismo encontrado en *Liriomyza* sp., *Tuta* sp., *Plutella* sp., se describe en el Cuadro 1. Donde además se observa que, no solo si existe un parasitismo natural de insectos del orden Himenóptera sobre minadores de hoja y defoliadores como *Plutella*, sino que también se puede evidenciar que, el insecto *Liriomyza* es parasitado por al menos cinco géneros diferentes de himenópteras, mientras que *Tuta* y *Plutella* fueron parasitados por un solo género parasitoide lo que indica que en estas plagas puede ya existir algún tipo de especialización plaga-parasitoide.

Cuadro 1. Porcentaje de parasitismo encontrado por cultivo y plaga

Plaga	Liriomyza	Tuta	Liriomyza	Plutella	Liriomyza
Cultivo	Haba	Tomate	Frejol	Hortalizas	Papa
N° de larvas colectadas	205	271	81	234	142
N° de parasitoides	40	7	7	54	14
Parasitismo (%)	49,21	9,88	11,89	36,27	15,31
Familia del parasitoide	Eulophidae Myrmaridae Diapriidae	Braconidae	Braconidae Figitidae	Ichneumonidae	Eulophidae,

Estos hallazgos indican la existencia de insectos parasitoides nativos con alto potencial de control biológico en la sierra ecuatoriana, atacando a insectos plaga en cultivos de importancia económica para la región. En futuras investigaciones, se buscará confirmar las identidades de los insectos parasitoides usando técnicas moleculares y de bioinformática, además, de una posible cría para su posterior liberación en las diferentes zonas productoras.

CONCLUSIONES

Se encontraron nueve géneros diferentes de insectos parasitoides nativos, distribuidos en cuatro superfamilias, y seis familias del orden Himenóptera.

A nivel de género, solo se identificaron los parasitoides pertenecientes a las familias Braconidae e Ichneumonidae debido principalmente a que, por su abundancia y relativamente gran tamaño, solo de estas 2 familias existe información suficiente para su identificación morfológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Austin, A. (2000). *Hymenoptera: Evolution, Biodiversity and Biological Control*, CSIRO PUBLISHING. Australia. pp. 3. disponible en URL; <https://books.google.com.ec/books?id=V09L18iVQ7gC> [consulta 10 de septiembre del 2018]
- Charles, A. & Norman F. (2005). *Borrer and delong's introduction to the study of the insects*. (7^ª edición). Ohio, USA: BROOKS/COLE. pp. 87-88.
- Henri, G. & John, T. (1993). *Hymenoptera of the world: an identificación guide to families*. Ottawa, Canadá: Centre for Land and Biological Resources Research. Disponible en URL; http://esc-sec.ca/wp/wp-content/uploads/2017/03/AAFC_hymenoptera_of_the_world.pdf [consulta 10 de septiembre del 2018]
- Molinari, A. & Monetti, C. (1997). *Parasitoides (Hymenoptera) de insectos plaga del cultivo de soja en el centro sur de la provincia de Santa Fe (Argentina)*. Revista Sociedad Entomológica Argentina. 56:1-4: 43-46.

- Salvo, A. & Valladares, G. (2007). *Parasitoides de minadores de hojas y manejo de plagas*. Cien. Inv. Agr. 34(3): 167-185.
- Veijalainen, A., Wahlberg, N., Gavin R., Terry L., John T., y Ilari E. (2012). *Unprecedented ichneumonid parasitoid wasp diversity in tropical forests*. THE ROYAL SOCIETY PUBLISHING. Proc. R. Soc. B, 279, 4694-4698. DOI: 10.1098/rspb.2012.1664

Evaluación de sobrevivencia de *Trichoderma harzianum* en el suelo en dos tipos de formulaciones sólidas

Ana Pincay¹, Cynthia Perdomo², Laura Villamizar³ William Viera¹, Trevor Jackson³

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Sector Cutuglagua, km 1½, Mejía, Pichincha, Ecuador, CP: EC170353.

² Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Av. 12 de octubre, Quito, Pichincha, Ecuador.

³ AgResearch, 1365 Spring Rd, Lincoln 7674, Nueva Zelanda.

*Autor para correspondencia: stefyq-perdomo@hotmail.com

Palabras clave: *Trichoderma*, polvo mojable, gránulo cubierto.

Área temática: Microbiológico.

INTRODUCCIÓN

El uso de microorganismos es una alternativa de control biológico que contrarresta la aplicación de agroquímicos en diferentes cultivos. Los microorganismos benéficos como los hongos del género *Trichoderma* son usados para elaborar bioformulaciones que mejoran el establecimiento del microorganismo en el sitio de aplicación, permitiéndole actuar como biocontrolador de hongos fitopatógenos, reduciendo así el uso de fungicidas químicos (Pineda et al., 2017). Un producto biológico de calidad presenta una alta estabilidad del ingrediente activo en almacenamiento y mantiene la actividad antagónica del microorganismo (Lozano, 2016). El objetivo de esta investigación fue evaluar la sobrevivencia y estabilidad de *Trichoderma harzianum*, en el suelo a partir de dos tipos de formulaciones aplicadas en cultivos de mora (*Rubus glaucus Benth*) de tres localidades de la provincia de Tungurahua.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en cultivos de mora de Castilla localizados en la provincia de Tungurahua en las localidades de Píllaro, Huachi Grande y Tisaleo. Se aplicaron dos tipos de formulaciones sólidas a base de *T. harzianum*.

Polvo mojable (producto comercial) reconstituido en agua y un gránulo cubierto a base de zeolita (prototipo del Laboratorio de Control Biológico – EESC), con una concentración de colonias estimada de 3×10^8 y 1×10^8 UFC/g del producto respectivamente, valores considerados adecuados para alcanzar una población teórica del microorganismo en el suelo de 1×10^4 UFC/g de suelo.

Para la aplicación del polvo mojable se realizó 4 hoyos de 50 cm de profundidad alrededor de la parte radicular de las plantas seleccionadas, en los cuales se colocaron 250 ml del producto reconstituido en agua y se procedió a tapar con tierra. Por otro lado, el gránulo cubierto se aplicó en la superficie del suelo colocando 5 gramos alrededor de la planta y se tapó con una capa delgada de tierra. Se empleó DCA con dos tratamientos y 3 repeticiones por localidad, la variable a evaluar fue la concentración de *Trichoderma* recuperada del suelo.

La aplicación del formulado se realizó mensualmente. El muestreo del suelo fue 30 días después de la aplicación y se evaluó en laboratorio la concentración de *T. harzianum* en

agar PDA + cloranfenicol + captan + ácido láctico+ triton, mediante la metodología de diluciones seriadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

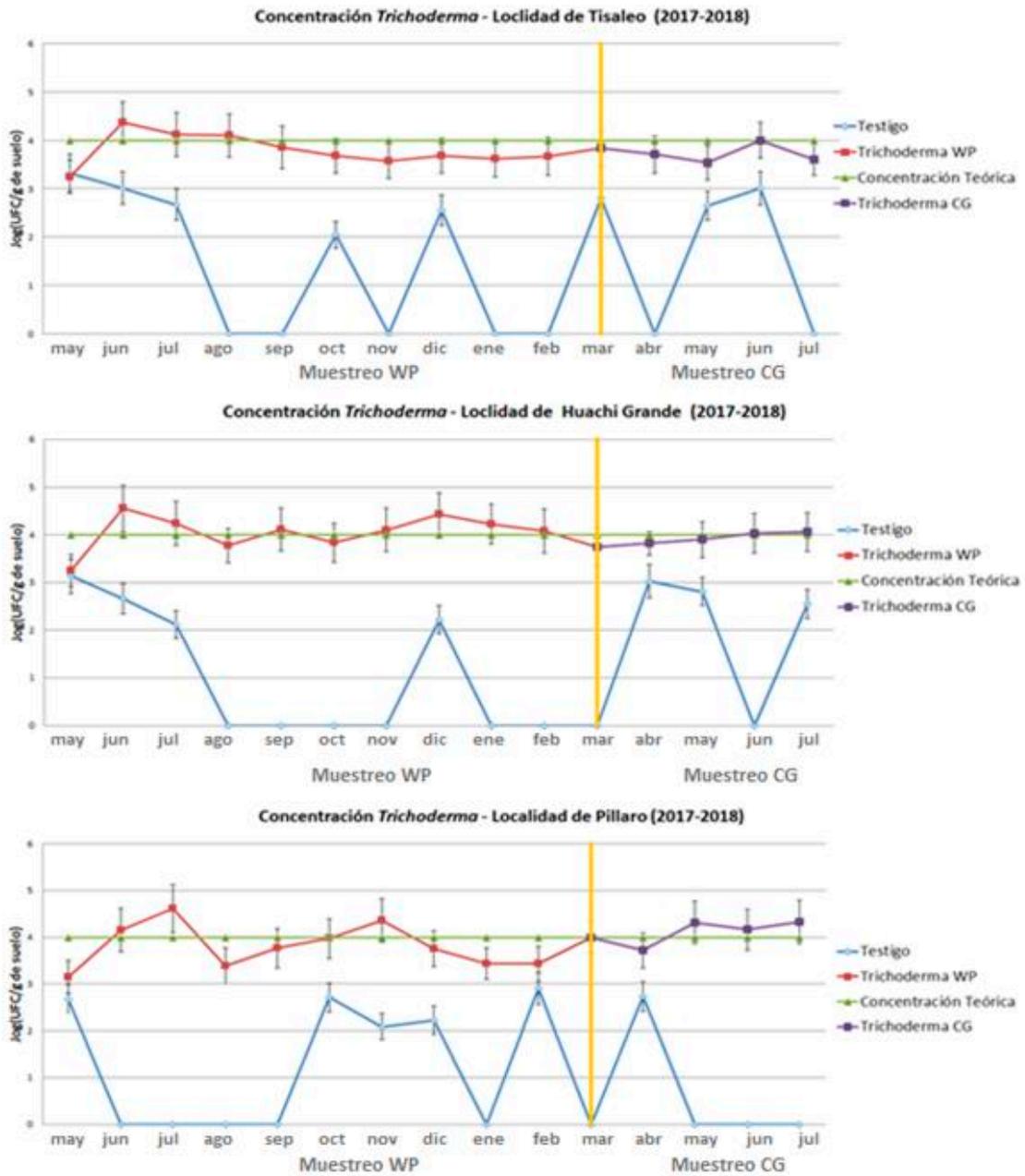


Fig. 1. Concentración de *T. harzianum* recuperada de los suelos de cultivos de mora de tres localidades (Tisaleo, Huachi Grande y Pillado) de la provincia de Tungurahua. La línea naranja muestra el fin del ensayo con polvo mojable y el inicio del ensayo con gránulo cubierto en los mismos lotes.

Los resultados mostraron que la formulación polvo mojable aplicado en hoyos y gránulo cubierto aplicado a la superficie mantuvo vivo y viable al microorganismo 30 días después de su aplicación en las tres localidades, alcanzando una concentración promedio superior a 7×10^3 UFC/g (Fig. 1).

Aunque en ambas formulaciones la concentración recuperada logró acercarse a la concentración teórica calculada de 1×10^4 UFC/g de suelo, es importante destacar las ventajas que tiene la aplicación de gránulo cubierto, la cual se hace en la superficie del suelo alrededor de la planta y la viabilidad del microorganismo no se ve mayormente afectada por la radiación ultravioleta del sol, uno de los factores ambientales más susceptibles que afectan a la replicación normal del ADN, superando los mecanismos de reparación de la célula y produciendo mutaciones o la muerte celular dependiendo de la cantidad de energía recibida (Grijalva, et al 2008). Estudios realizados por Peña (2011), mostraron que después de 90 minutos de irradiación las conidias de *Trichoderma koningiopsis* presentaron inactivaciones del 39% para los conidios formulados reconstituídos en agua, y del 51% para los conidios no formulados. Si bien es cierto la formulación en polvo le proporciona cierta protección al microorganismo, pero esta no será suficiente cuando se exponga a la radiación solar que es elevada en el Ecuador.

Además, la zeolita tiene una estructura cristalina tridimensional rígida, que deja pequeñas cavidades interconectadas llamadas microporos en los que ingresa el microorganismo y que luego al entrar en contacto con el agua por procesos de intercambio catiónico y se libera paulatinamente al suelo. Por esta razón, este material de origen volcánico está siendo utilizado para potenciar el efecto de fertilizantes químicos por su capacidad absorbente (Pérez et al 2015).

CONCLUSIONES

La eficiencia de *T. harzianum* utilizado como principio activo de bioformulaciones está directamente relacionada con su viabilidad. El formulado de gránulo cubierto le proporciona al microorganismo un ambiente estable y seguro que lo protege de las condiciones ambientales adversas, permitiéndole establecerse en el suelo y mantener poblaciones adecuadas en la rizósfera de la planta. Además, su aplicación es sencilla e inocua para el ser humano ya que por el tamaño de partícula no existe riesgo de inhalación. Mientras que el formulado de polvo mojable debe ser aplicado en hoyos alrededor de la planta para asegurar la sobrevivencia del microorganismo y puede existir riesgo de inhalación si no se toman precauciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grijalva, E., Villamizar, L., Cotes, A. 2008. Evaluación de la estabilidad de *Paecilomyces* sp. y *Beauveria bassiana* frente a la radiación ultravioleta. Revista Colombiana de Entomología. Vol.35 (1)
- Lozano A, 2016 y Caastro, R. (director). Determinación del porcentaje de viabilidad y tiempo de vida útil de tres bioplaguicidas (trikofun, nemakill y baulkil) producidas por Mikrogen del departamento de fitopatología de la facultad de recursos naturales ESPOCH. Riobamba, Ecuador 87p.
- Peña, Z. 2011 y Gómez, M (director). Fotoestabilidad de dos formulaciones de bioplaguicidas a base de *Lecanicillium lecanii* V1026 y *Trichoderma koningiopsis* Th003. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad De Ciencias. Bogotá, Colombia 33p.
- Pérez H., Rodríguez, I., Arzola, N. 2015. Aprovechamiento Sostenible de los Residuos de Origen Orgánico y la Zeolita en la Agricultura. 1era edición. UTMACH, Machala. 239p.

Pineda, J., Benavides, E., Duarte, A., Burgos, C., Soto, C., Pineda, C., Fierro, F., Mora, E., Álvarez S. 2017. Producción de biopreparados de *Trichoderma spp*: una revisión ICIDCA. Redalyc.org. 51(1): 47-52.

Selección de hongos entomopatógenos efectivos para el manejo del Gusano Blanco (*Premnotrypes vorax* Hustache)

Norma S. Erazo¹; Víctor A. Lindao¹, Juan C. Manzano¹, Magdy M. Echeverría¹

¹ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. E-mail: coprinus2@yahoo.com

Palabras clave: Concentración letal, Infección inducida, Instar.

Área temática: Microbiológicos.

INTRODUCCIÓN

El gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax* Hustache), constituye un gran problema para el cultivo, debido a que reduce la calidad de las cosechas, y en ataques severos ocasiona pérdidas totales. Los agricultores para garantizar su producción, recurren a la aplicación de una cantidad considerable de insecticidas químicos en cada ciclo productivo, por lo que es necesario generar opciones de control biológico viables y replicables a nivel de campo.

De estas alternativas, los hongos entomopatógenos pueden utilizarse en programas de manejo integrado de plagas. Tal es el caso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, que son usados para controlar la broca del café (*Hypothenemus hampei*), el picudo rayado de la caña de azúcar (*Metamasius hemipterus*), el picudo del banano (*Cosmopolites sordidus*) y también ha demostrado gran efectividad contra el gusano blanco de la papa (*P. vorax*) (Jaramillo et al., 2015; Villamil et al., 2015).

El objetivo de esta investigación fue seleccionar mediante pruebas de mortalidad en el laboratorio, aislamientos nativos de hongos entomopatógenos que permitan contribuir a un programa de manejo integrado del gusano blanco de la papa en la región interandina ecuatoriana.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de treinta aislamientos nativos de hongos entomopatógenos, procedentes de cadáveres de larvas de gusano blanco de la papa (*P. vorax* Hustache), recolectados en bodegas de papa de la ciudad de Riobamba, se aplicó el método de infección inducida en larvas del 4^{to} instar y adultos de *P. vorax*, criados para tal finalidad. Para el efecto las muestras fueron incubadas a temperatura de laboratorio ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) durante 10 para larvas y 30 días para adultos. Posterior a ello, se realizó el aislamiento e identificación morfológica de los hongos entomopatógenos efectivos, en función de la mortalidad que ejercieron sobre las larvas y adultos de gusano blanco, estableciendo la concentración letal media (CL_{50}) y tiempo letal medio (TL_{50}), mediante análisis Probit con el programa Statgraphics (StatPoint, Inc. 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislamientos codificados como A13 (*M. anisopliae* (Metschnikoff 1879) Sorokin 1883) y A21 (*B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1912)), fueron los más efectivos para el manejo de *P. vorax*. Mediante el análisis Probit se determinó que la CL_{50} para A21 (*B. bassiana*), se obtuvo con concentraciones de $1,75 \times 10^9$ y $1,08 \times 10^9$ esporas/ml, en un TL_{50} de 4,31 y 4,36 días para larvas del 4^{to} instar y adultos, respectivamente, mientras que, para A13 (*M. anisopliae*), la CL_{50} se obtuvo con $1,65 \times 10^9$ y $2,42 \times 10^9$ esporas/ml en un TL_{50} de 4,84 y 20,70 días.

Al respecto, *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio produjo entre el 82,2 y 84,5% de mortalidad del picudo rayado de la caña de azúcar (*M. hemipterus*), con la aplicación de concentraciones de 1×10^7 y 1×10^8 conidias/ml. No obstante, tanto para *B. bassiana* y *M. anisopliae*, se recomienda emplear concentraciones de 1×10^8 conidias/ml. Además, ambos hongos entomopatógenos alcanzaron mortalidades mayores al 80% de *Rhynchophorus palmarum* en 24 días (Alvarado et al., 2013; Mendoza et al., 2008).

CONCLUSIONES

Se seleccionaron los aislamientos A13 (*M. anisopliae*) y A21 (*B. bassiana*), por causar la mayor mortalidad de larvas y adultos del gusano blanco. A13 ejerció un control más efectivo para larvas en tanto que A21 fue igualmente efectivo para larvas y adultos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, H., et al. 2013. Patogenicidad de cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) y *Beauveria bassiana* sobre *Rhynchophorus palmarum*. *Palmas*. 34(2):15-24.
- Jaramillo, J., et al. 2015. *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de broca del café en frutos del suelo. *Revista Colombiana de Entomología*. 41(1):95-104.
- Mendoza, J.; Gómez, P. & Gualle, D. (2008). Posibilidades del uso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control del picudo rayado, *Metamasius hemipterus*, en caña de azúcar (en línea). Disponible en: CINCAE. <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Posib.-uso-B.-bassiana-para-Metamasius.pdf>. (Consultado el 03 de enero de 2018). Guayas, Ecuador. 7 p.
- StatPoint, Inc. (2005). Probit Analysis (en línea). Disponible en: <https://spu.fem.uniag.sk/cvicenia/ksov/sojkova/Viacrozmera%20sttatistika/Probit%20Analysis.pdf>. (Consultado el 10 de enero de 2018). 6 p.
- Villamil, J., et al. 2016. Actividad biológica de hongos entomopatógenos sobre *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae). *Revista de Ciencias Agrícolas*. 33(1):34-42.



Foto de recuerdo. Asistentes al 1er Congreso Internacional de Control Biológico Aplicado.

Con el apoyo de:



Auspician:



ISBN: 978-9942-35-779-3



9 789942 357793

MEMORIAS DEL EVENTO

4, 5 & 6 de octubre de 2018.

Quito – Ecuador

Distribución electrónica

Primera edición, 2018

Compilación y diseño:

Patricio Cuasapaz, Ing.

AGNLATAM S.A.

Editores:

Castillo, C., Montero, B. y Cuasapaz, P. (Eds.) 2018. Memorias del I Congreso Internacional de Control Biológico en Ecuador. 4-6 de octubre del 2018. Quito, Ecuador. 115pp.

Coordinadora:

Carmen Catillo C. Ph.D.

INIAP

Quito, octubre del 2018

ISBN: 978-9942-35-779-3



9 789942 357793

“Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales”