

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

**Análisis del efecto de
hongos entomopatógenos
como control biológico
contra la plaga de Áfidos.**

Mención: Hortofruticultura y Jardinería

Modalidad: Presencial

Curso 2019/2020

Alumno/a: Cristina Carreño Amate.

Director/es:

Dr. Milagrosa Santos Hernández

D. Alejandro Moreno Gavira



Agradecimiento

Siguiendo mi estilo de vida, estando en cuarto y último curso para acabar el grado de ingeniería agrícola, no tenía en mente ni de que iba a estar relacionado este proyecto, si iba a tratar de plagas, de enfermedades, de fertilizantes, cultivos ornamentales, hortícolas... Tampoco pensaba sobre el director y codirector por el que me iba a decantar de entre todos los profesores que han formado parte de mi formación. Un día recibimos un correo de la profesora de fitopatología agraria, donde comentaba sobre un proyecto que se iba a llevar a cabo y en el cual podíamos participar y llevar a cabo nuestro trabajo de fin de grado. Al leerlo, sabía que podían existir millones de ideas que también me parecerían interesantes, pero este tema sobre control biológico y la mezcla de los insectos plaga de nuestros cultivos con hongos para evaluar los efectos que estos producían en la mortalidad de la plaga, provocó un impulso, mi respuesta fue contestar a ese correo explicando mi interés en el.

Por tanto, en primer lugar este proyecto va dirigido a mi directora Milagrosa Santos Hernández y a mi codirector Alejandro Moreno Gavira. Por darme la oportunidad de llevarlo a cabo y por la paciencia que han mostrado para cumplir con éxito los objetivos.

No podemos dejar atrás a Fernando Diánez (profesor de una de las asignaturas impartidas) por su gran aportación en los resultados de los datos obtenidos. Además de estar dispuesto a cogerme el teléfono un viernes por la tarde para explicar mis dudas. Ni puedo olvidar a mi compañero de clase y de laboratorio Jorge Miranda, , las risas y los agobios cuando son compartidos todo es más fácil.

Por su puesto, uno de los grandes pilares en todo esto, es mi familia, cada día y cada hora me han acompañado y apoyado para poder cumplir este sueño, pero lo más importante, para seguir creciendo y lograr todo lo propuesto. Siempre con una frase marcada en la memoria: "No te rindas, con esfuerzo, constancia y actitud se consigue todo".

La peor parte se la llevan los que te dan su plena confianza para expresar tus sentimientos. Cuando te derrumbas porque todo se descontrola, cuando estas feliz porque todo sale bien, cuando estas nerviosa porque salga bien o cuando dudas de prácticamente de todo lo que has llevado a cabo. Aunque no solo eso, sino que también aportaciones para conseguir un gran trabajo. Como todo lo bueno que pasa en mi vida, sin pensar, sin esperar, de forma impulsiva y convirtiéndose en lo más importante, lo que le da sentido a todo. Juan Valverde.

Por último, pero no por ello lo menos importante, mis amigas. Me han visto conseguir todo lo que me he propuesto, me han visto no hacerlo y volverlo a intentar. Las alegrías son mayores con ellas y las tristezas menos duras.



Resumen

El presente trabajo evalúa la eficacia que presentan una serie de hongos entomopatógenos en la mortalidad de una población de insectos pertenecientes a la familia *Aphididae*. La principal finalidad de dicho trabajo es contribuir al control biológico, con el objetivo de encontrar organismos que consigan reducir y eliminar una de las plagas de insectos que afecta en gran medida a los cultivos de nuestra zona.

Para ello, se han llevado a cabo una serie de objetivos: captura de las diferentes especies de insectos utilizados, aislar las diferentes especies fúngicas que se quieren analizar, observar y evaluar la acción parasítica de los microorganismos sobre los insectos.

Abstract

The present work evaluates the efficacy of a series of entomopathogenic fungi in the mortality of a population of insects belonging to the *Aphididae* family. The main purpose of this work is to contribute to biological control in order to find organisms that manage to reduce and eliminate one of the insect pests that greatly affects crops in our area.

To do this, a series of objectives have been carried out: capture of the different species of insects used, isolate the different fungal species to be analyzed, observe and evaluate the parasitic action of microorganisms on insects.



ÍNDICE GENERAL

1. Memoria descriptiva.....	9
1.1 Interés y objetivos.....	9
2. Referencias bibliográficas.....	10
2.1 Familia <i>Aphididae</i>	10
2.1.1 Anatomía <i>Aphididae</i>	10
2.1.2 Alimentación y daños.	13
2.2.3 Ciclo de vida y Reproducción.	15
2.2.4 Importancia como plaga agrícola y control.....	17
2.2 Especies de insectos usados.	18
2.2.1 <i>Myzus Persicae</i>	18
2.2.2 <i>Aphis Gossypii</i>	19
2.2.3 <i>Rhopalosiphum Padi</i>	20
2.2.4 <i>Melanaphis sacchari</i>	21
2.2 Reino Fungi.	22
2.3 Hongos Entomopatógenos.	25
2.4 Especies de hongos usados.	26
2.4.1 <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	26
2.4.2 <i>Aspergillus spp.</i>	27
2.4.3 <i>Paecilomyces variotii</i>	28
2.4.4 <i>Trichoderma saturnisporum</i>	29
3. Especificaciones y requerimientos técnicos.....	30
3.1 Ubicación de los insectos.....	30
3.2 Obtención de los hongos entomopatógenos.....	33
3.3 Extracción y conteo de esporas.	33
3.4 Preparación del ensayo.....	36
3.5 Pulverización.	40
3.6 Parasitismo.....	41
4. Resultados y Discusión.....	42
4.1 Gráficas <i>Myzus persicae</i>	42
4.1.1 Gráficas porcentaje mortalidad medio.	43
4.1.2. Gráfica porcentaje de mortalidad corregido Abott.	47



4.2 Gráficas Aphis Gossypii.....	47
4.2.1. Gráficas porcentaje mortalidad medio.....	48
4.2.2 Porcentaje de mortalidad corregido Abott.....	52
4.3 Melanaphis sacchari.....	53
4.3.1 Gráficas porcentaje de mortalidad medio.....	53
4.3.2. Porcentaje de mortalidad corregido Abott.....	57
4.4 Gráficas Rhopalosiphum padi.....	58
4.4.1 Gráficas porcentaje de mortalidad medio.....	59
4.4.2. Porcentaje de mortalidad corregido por Abott.....	63
4.5 Discusión de datos frente a los obtenidos en ensayos de otros autores.....	64
4.6 Discusión parasitismo.....	65
5. Conclusiones.....	67
6. Referencias Bibliográficas.....	67

ÍNDICE DE IMÁGENES

- Imagen 1. Antena Áfidio (Holman, 1974). Pág. 11.*
- Imagen 2. Patas Áfido (Borrór et al., 1989). Pág. 12.*
- Imagen 3. Anatomía general Áfido (Borrór et al. 1989). Pág.12.*
- Imagen 4. Áfido clavando el estilete en el vegetal (García Marí y Ferragut, 2002). Pág. 13.*
- Imagen 5. Superficie de la hoja cubierta de melaza y negrilla (Lomeli-flores et al, 2008). Pág.14.*
- Imagen 6. Asociación simbiótica entre áfido y hormiga (IVERSEN & HARDING, 2007). Pág. 15.*
- Imagen 7. Myzus persicae (Alomar et al, 2006). Pág. 19.*
- Imagen 8. Aphis gossypii (Alomar et al, 2006). Pág. 20.*
- Imagen 9. Rhopalosiphum Padi (Nieto Nafria, 1994). 21*
- Imagen 10. Melanaphis sacchari (Peña Martínez et al, 2017). Pág. 22.*
- Imagen 11. Micelio con hifas septadas(Alexopoulos et al, 1996). Pág. 23.*
- Imagen 12. Micelio con hifas sifonadas Alexopoulos et al, 1996). Pág. 23.*
- Imagen 13. Trichoderma longibrachiatum a microscopio (St-Germain et al., 1996). Pág. 26.*
- Imagen 14. Aislamiento Trichoderma longibrachiatum (St-Germain et al., 1996). Pág. 27.*
- Imagen 15. Aspergillus a microscopio (Arenas R, 2011). Pág. 28.*
- Imagen 16. Colonia Aspergillus (Arenas R, 2011). Pág. 28.*



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

Imagen 17. Paecilomyces variotti a microscopio (J.Ponton, 2002). Pág. 29.

Imagen 18. Colonia Paecilomyces variotii (J.Ponton, 2002). Pág. 29.

Imagen 19. Trichoderma saturnisporum a microscopio. Pág. 30

Imagen 20. Colonia Trichoderma saturnisporum. Pág. 30.

Imagen 21. Capsicum annum infectado por Myzus persicae. Pág. 31.

Imagen 22. Plaga de Aphis gossypii en Vitis vinífera. Pág. 31.

Imagen 23. Nerium oleander infectado por Melanaphis sacchari. Pág. 32.

Imagen 24. Colonia de Rhopalosiphum padi infectando a una poblacion de Hordeum vulgare. Pág. 32.

Imagen 25. Colonia H1 en PDA(A), colonia 11H en PDA(B), colonia PAE en PDA(C) y colonia Ts en PDA(D). Pág.33.

Imagen 26. Disolución de esporas extraída de la colonia PAE(A), disolución de esporas extraída de la colonia H1(B), disolución de esporas extraída de la colonia 11H(C) y disolución de esporas extraída de la colonia Ts(D). Pág.34.

Imagen 27. Cámara Neubauer vista con el microscopio. Pág. 35.

Imagen 28. Recipiente usado con abertura, malla y rotulado. Pág. 36.

Imagen 29. Recipientes desinfectados. Pág. 36.

Imagen 30. Humectación y secado de los discos de algodón. Pág. 37.

Imagen 31. Desinfección en hipoclorito de sodio 5% de Capsicum annum (A) y Vitis vinífera (B). Pág. 37.

Imagen 32. Secado en papel de filtro de Vitis vinífera. Pág. 38.

Imagen 33. Rhopalosiphum padi en el material vegetal Hordeum vulgare colocados en su respectivo recipiente. Pág. 38.

Imagen 34. Myzus persicae en el material vegetal Capsicum annum colocado en su respectivo recipiente. Pág. 39.

Imagen 35. Melanaphis sacchari en el material vegetal Nerium oleander colocado en su respectivo recipiente. Pág. 39.

Imagen 36. Aphis gossypii en el material vegetal Vitis vinífera colocados en su respectivo recipiente. Pág. 40.

Imagen 37. Pulverización de los hongos entomopatógenos sobre los recipientes preparados dentro de la campana de extracción (A) y pulverizador usado (B). Pág. 40.

Imagen 38. Estufa. Pág. 41.

Imagen 39. Aphis gossypii parasitado externamente por Aspergillus sp. Pág. 65.

Imagen 40. Melanaphis sacchari parasitado externamente e internamente por Aspergillus sp. Pág. 65.

Imagen 41. Myzus persicae parasitado internamente por Aspergillus sp. Pág. 65.



Imagen 42. Melanaphis sacchari parasitado externamente e internamente por Trichoderma longibractium. Pág. 66.

Imagen 43. Aphis gossypii parasitado externamente e internamente por Trichoderma longibractium. Pág. 66.

Imagen 44. Myzus persicae parasitado internamente por Trichoderma longibrachiatum. Pág. 66.

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Porcentaje de mortalidad medio para To. Pág. 44.

Gráfica 2. Porcentaje mortalidad medio aplicando Trichoderma longibrachiatum. Pág. 44.

Gráfica 3. Porcentaje mortalidad medio aplicando Paecilomyces variotii. Pág. 45.

Gráfica 4. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Trichoderma saturnisporum. Pág. 45.

Gráfica 5. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Aspergillus sp. Pág. 46.

Gráfica 6. Porcentaje de mortalidad medio de cada tratamiento medido a los 3 días del ensayo. Pág. 47.

Gráfica 7. Porcentaje de mortalidad corregido que se produce a los 3 días. Pág. 48.

Gráfica 8. Porcentaje de mortalidad para To. Pág. 49.

Gráfica 9. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Trichoderma longibrachiatum. Pág. 50.

Gráfica 10. Porcentaje mortalidad medio aplicando Aspergillus sp. Pág. 50.

Gráfica 11. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Paecilomyces variotii. Pág. 51.

Gráfica 12. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Trichoderma saturnisporum. Pág. 51.

Gráfica 13. Porcentaje de mortalidad medio de cada tratamiento medido a los 3 días. Pág. 53.

Gráfica 14. Porcentaje de mortalidad corregido que se produce a los 3 días. Pág. 54.

Gráfica 15. Porcentaje de mortalidad medio de To. Pág. 55.

Gráfica 16. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Trichoderma longibrachiatum. Pág. 56.

Gráfica 17. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Trichoderma saturnisporum. Pág. 56.

Gráfica 18. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Aspergillus spp. Pág. 57.

Gráfica 19. Porcentaje de mortalidad medio aplicando Paecilomyces variotii. Pág. 58.

Gráfica 20. Porcentaje de mortalidad de cada tratamiento a los 3 días. Pág. 59.

Gráfica 21. Porcentaje de mortalidad corregida a los 3 días. Pág. 60.

Gráfica 22. Porcentaje de mortalidad medio de To. Pág. 61.



Gráfica 23. Porcentaje de mortalidad medio de Trichoderma longibrachiatum. Pág. 62.

Gráfica 24. Porcentaje de mortalidad medio de Trichoderma saturnisporum. Pág. 62.

Gráfica 25. Porcentaje de mortalidad medio de Aspergillus spp. Pág. 63.

Gráfica 26. Porcentaje de mortalidad medio de Paecilomyces variotii. Pág. 63.

Gráfica 27. Porcentaje de mortalidad de cada tratamiento a los 3 días. Pág. 65.

Gráfica 28. Porcentaje de mortalidad corregido a los 3 días. Pág. 66.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Representación LT50 frente a Myzus persicae. Pág. 46.

Tabla 2. Representación LT50 frente a Aphis gossypii. Pág. 52.

Tabla 3. Representación LT50 frente a Melanaphis sacchari. Pág. 58.

Tabla 4. Representación LT50 frente a Rhopalosiphum padi. Pág. 64.



1. Memoria descriptiva.

1.1 Interés y objetivos.

En Almería la agricultura intensiva bajo plástico se ha convertido en el principal pilar de la economía de esta provincia. Sin embargo, a pesar de los beneficios económicos, también se han producido problemas ambientales que requieren ser corregidos y llegar a conseguir un desarrollo sostenible de la actividad.

El control biológico aparece a principios del siglo XIX cuando naturalistas de diferentes países destacaron el crucial papel que juegan los organismos entomófagos en la naturaleza. Mediante el control biológico lo que se quiere conseguir es intentar restablecer el equilibrio ecológico, mediante el uso de organismos vivos o sus metabolitos, para suprimir o disminuir los daños causados por los organismos perjudiciales. Este, además con lleva una gran multitud de ventajas ambientales.

Por un lado encontramos la lucha microbiológica, esta consiste en: el uso de microorganismos entomopatógenos (virus, bacterias, hongos, nematodos, etc.). Por otro lado, nos encontramos con la lucha macrobiológica, que se trata del uso de enemigos naturales artrópodos (insectos, ácaros, arañas...).

En los últimos años los sistemas de producción agraria han evolucionado hacia métodos de control de plagas y enfermedades más racionales y respetuosas con el medio ambiente. Debido entre otros aspectos, a que el uso de sustancias químicas presenta ciertos inconvenientes, no solo a nivel de salud humana sino porque las poblaciones de plagas han desarrollado resistencias. Además, se destruyen las especies beneficiosas, se produce un resurgimiento de las poblaciones tratadas, así como el coste de fumigantes, del equipo, de la mano de obra y del material.

El proyecto presente consiste en el estudio de la eficacia de una serie de microorganismos entomopatógenos, contra una de las plagas más importantes de nuestros cultivos, la perteneciente a la familia Aphididae.

Los hongos entomopatógenos son los primeros agentes biológicos usados para el control de plagas. Estos son capaces de enfermar y matar a los insectos, infectándolos directamente penetrando en la cutícula. Estos microorganismos presentan diferentes mecanismos de acción y una alta capacidad para evitar que el organismo huésped desarrolle resistencia.

El objetivo principal planteado en este proyecto consiste en evaluar la eficiencia de una serie de hongos entomopatógenos como control biológico frente a diferentes especies de pulgón. Se lleva a cabo mediante un ensayo in vivo realizado en el laboratorio. En este se incluyen una serie de actividades: aislar los microorganismos usados, capturar los insectos y, observar y comprobar la acción parasítica de los hongos sobre los insectos.



2. Referencias bibliográficas.

2.1 Familia *Aphididae*.

2.1.1 Anatomía *Aphididae*.

Aphididae se trata de una familia de insectos hemípteros, conocidos vulgarmente como pulgones. Esta familia de insectos produce daños en los cultivos de gran importancia económica e incluso pueden ser letales para las plantas debido a que pueden transmitirles diferentes virus (Bustillo y Sánchez, 1977).

Suelen presentar polimorfismo intraespecífico, con diferentes formas dentro de la misma especie. Por lo general el tamaño de su cuerpo es pequeño, de unos pocos milímetros. Su color es variado, suelen ser verdes, amarillos o negros. Algunos pueden presentar manchas pero normalmente suelen ser lisos. Su cuerpo blando, con forma ovoidal o piriforme. En ocasiones pueden estar cubiertos de manera parcial o completamente por sustancias cerosas. Su cuerpo se divide en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen (Blackman y Eastop, 2000).

Su cabeza es de tipo opisthognata. Su aparato bucal está dirigido hacia abajo y hacia atrás. Este es de tipo picador-chupador, provisto de cinco segmentos: un pequeño segmento apical (V), el cual se encuentra unido al segmento anterior (IV). El segmento IV está formado en primer lugar por seis setas (un par lateral, uno dorsal y uno ventral), además, contiene dos pequeñas setas basales y dos o más setas secundarias en la parte media. Las piezas bucales están principalmente formadas por dos pares de estiletes finos y flexibles de longitud variable entre especies. Podemos observar un par de ojos compuestos (Snodgrass, 1935).

Se distinguen en ápteros o alados. La principal característica que existe entre ellos es que los alados al contrario de los ápteros están provistos de dos pares de alas membranosas de pequeño tamaño que pueden presentar pigmentación o no. Normalmente las alas anteriores presentan un mayor tamaño y pueden llegar a tener entre 3 y 5 venas, mientras que las posteriores van a presentar como máximo 3 venas. El pterostigma, el cual puede estar pigmentado o no, se encuentra en la parte superior del ala. Los alados tienen tres ocelos dos de ellos en posición dorsal y los otros dos en posición medio-frontal. En cuanto a los ápteros, algunas especies tienen ojos reducidos unidos al triommatidio, u otras especies, tienen el triommatidio fusionado al ojo compuesto o desplazado ventralmente. El triommatidio o tubérculo ocular es una proyección que algunos de ellos presenta. La diferencia más clara que existe entre ellos, se encuentra en la cabeza, en las formas aladas generalmente está bien diferenciada del tórax, pero en las formas ápteras, ambas regiones se presentan fusionadas (Holman, 1974).

Las partes laterales de la frente protuberantes, están dirigidas hacia arriba dando lugar a los tubérculos antenales. La forma de la frente varía en función de la



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

protuberancia relativa de los tubérculos antenales: convexa, transversalmente recta, ligeramente cóncava o sinuosa. Por último, podemos encontrar el tubérculo frontal en la parte media de la frente (Snodgrass, 1935).

La antena es filiforme, formada por 5 o 6 artejos. El escapo (artejo I) se articula con la cápsula cefálica en la fosa antenal. Los artejos II, III y IV forman el flagelo, son más delgados y alargados. El último artejo antenal, presenta un adelgazamiento en el tramo distal, recibe el nombre de proceso terminal y se desarrolla desde el margen distal del primer rinario hasta el ápice antenal. Los rinarios son unas sensillas placoides subcirculares, anulares o transversales. Estos rinarios se distinguen en primarios y secundarios. Los primarios se encuentran en todos los artejos y en todas las especies. Los rinarios secundarios solo se desarrollan desde el artejo III al V en los adultos, o a menudo solo se pueden ver en el segmento III. Los rinarios secundarios siempre se pueden ver en los alados, mientras que en los ápteros son menos comunes e incluso en algunas especies ni se desarrollan (Holman 1974).

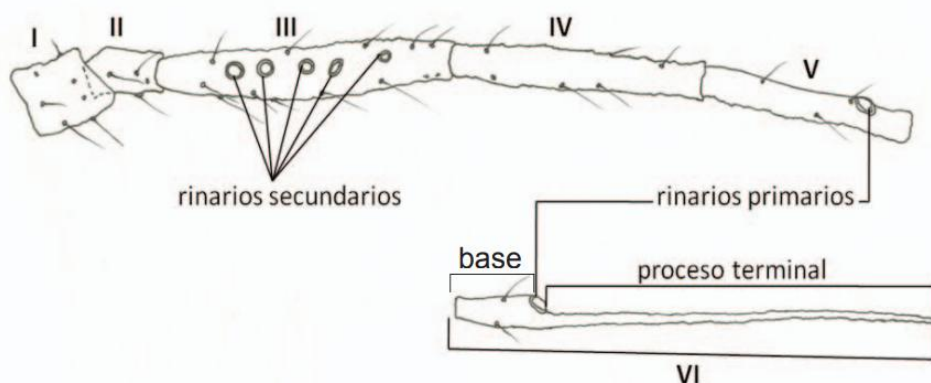


Imagen 1. Antena Áfido (Holman, 1974).

El tórax se compone de 3 segmentos, pro, meso y el metatórax. A cada lado del protórax de los ápteros suele haber un tubérculo marginal. En cambio, en las formas aladas observamos un protórax neto y una segunda porción constituida por la fusión del meso y metatórax. En la cara dorsal del mesotórax podemos ver 2 grandes lóbulos redondeados. En el meso y metatórax, tanto en ápteros como en alados, se abre un par de espiráculos.

En cada uno de los 3 segmentos torácicos se insertan un par de patas. Estas son de tipo caminador, le permiten al pulgón desplazarse e incluso saltar. Cada pata está formada por: coxa, trocánter, fémur, tibia y tarso. La tibia es más larga que el fémur. Las patas anteriores, acaban en tarsos divididos en dos segmentos, denominados basitarso y telotarso. El basitarso es más pequeño. El telotarso tiene de una a cinco setas basales. El pretarso tiene dos uñas. Entre el tarso y pretarso tenemos la denominada placa unguítrora (Borror *et al.*, 1989).

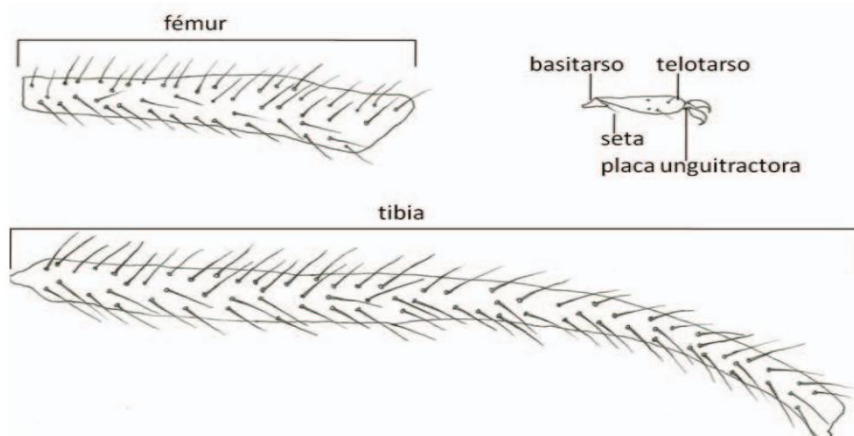


Imagen 2. Patas Áfido (Borrór et al., 1989).

El abdomen presenta ocho segmentos. Los segmentos V y VI presentan dos cornículos o sifones. Su forma y tamaño varía según la especie: desde poros simples hasta tubos alargados. Por estos sifones secretan un fluido de defensa. Además algunas especies tienen en su abdomen unas glándulas dérmicas por donde secretan unas fibras de cera blancas recubriéndoles. Por otro lado, segregan por el esfínter anal un líquido azucarado y pegajoso denominado melaza. Esta sustancia es el exceso de la savia que ingiere el insecto, a la que se le une el material de desecho y el sobrante de azúcares. La melaza impregna la superficie de la planta haciendo que esta se quede con un tacto pegajoso y dificultando el normal desarrollo del vegetal donde se encuentra. En el segmento VII se encuentra la placa genital, la cual se desarrolla solo en formas adultas tanto ápteras como aladas. En el margen posterior de esta placa genital tiene una serie de setas que reciben el nombre de “gonapófisis”. El abdomen termina en una cauda, y por debajo de esta hay una placa anal. Ambas constituyen el segmento nueve y entre ambas se localiza el ano (Borrór et al., 1989).

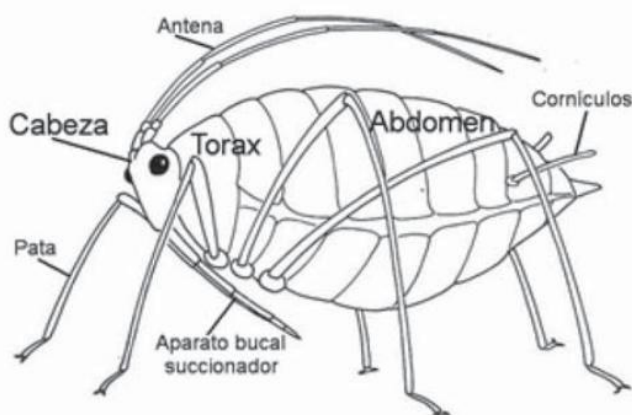


Imagen 3. Anatomía general Áfido (Borrór et al. 1989).



2.1.2 Alimentación y daños.

Los pulgones tienen una gran importancia ecológica y agronómica. Muchos constituyen plagas que comprometen el valor de los cultivos hortícolas y plantas ornamentales. Los daños que producen los pulgones sobre los cultivos son debidos principalmente a su alimentación.

Las ninfas y los adultos se alimentan de la savia generada por la planta. Introducen el estilete, el cual les permite perforar el tejido epidérmico del tallo de las plantas, llegando a las células que constituyen el floema y succionando la savia de las mismas. Debido a la pérdida de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, clorofila b y caratenoides). Estas sustancias son imprescindibles para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Al producirse la pérdida de estas sustancias esenciales, provoca que la planta finalmente se seque. Todo esto se traduce en una reducción de la producción final de la cosecha del cultivo (David *et al.*, 2009).

Atacan principalmente a las partes jóvenes, hojas, ramas, tallos, brotes, flores y frutos. Absorben los nutrientes produciendo daños directos sobre los cultivos: deformaciones en los pecioloos o en el limbo foliar, abarquillamientos, enrollamientos o crispamientos en las hojas, malformaciones de brotes y frutos. Algunas especies pueden producir agallas, que pueden ser abiertas o cerradas. Las especies que no se alimentan de las partes verdes (las raíces), las picaduras producen nudosidades, que al descomponerse acaban destruyendo totalmente el sistema radicular. Esto un gran daño, que puede provocar la muerte de la planta (García Marí y Ferragut, 2002).



Imagen 4. Áfido clavando el estilete en el vegetal (García Marí y Ferragut, 2002).



La alimentación del insecto sobre la planta ocasiona una serie de daños indirectos. Los pulgones extraen de la planta una gran cantidad de savia para tomar de ella las proteínas suficientes para su desarrollo. La savia tiene un alto contenido de azúcar. Ese exceso de azúcar lo expulsan en forma de melaza sobre la superficie de las hojas, tallos, ramas y frutos, produciendo la aparición de mohos o negrilla sobre dichas superficies. Esto conlleva la reducción de la actividad fotosintética e incluso hace que el fruto pierda valor económico. También pueden transmitirle a la planta sustancias tóxicas que inyectan durante el proceso de alimentación (Lomeli-flores *et al.*, 2008).



Imagen 5. Superficie de la hoja cubierta de melaza y negrilla (Lomeli-flores *et al.*, 2008).

Además, estos insectos tienen una alta capacidad para transmitir virus patogénicos. Los virus se alojan en los estiletes maxilares o en las glándulas salivares en el momento en el que el insecto produce la succión de la savia. Se ha comprobado que más de 300 virosis son transmitidas por unas 200 especies de pulgones. Transmitiendo el 75 % de las virosis a diversas hortalizas y frutales. Se debe a sus características biológicas, a su conducta alimenticia y su especialización en alimentarse sobre vegetales así como su amplia distribución (Lomeli-flores *et al.*, 2008).

Presentan además otra característica en cuanto a su alimentación. La secreción de melaza sobre la superficie vegetal hace que los áfidos puedan entrar en una asociación simbiótica facultativa con las hormigas. Esta asociación mutualista se basa en que las hormigas protegen y transportan a estos insectos a diferentes lugares donde poder alimentarse. A su vez, las hormigas usan como recurso energético a los pulgones para asegurar su supervivencia. Esto provoca un aumento de la dispersión de los áfidos (Iversen y Harding, 2007).



Imagen 6. Asociación simbiótica entre áfido y hormiga (Iversen y Harding, 2007).

2.2.3 Ciclo de vida y Reproducción.

Los pulgones se distribuyen principalmente por zonas templadas y suelen atacar a las plantas durante la primavera y el verano. Se encuentran favorecidos por la sequedad ambiental y el exceso de fertilizantes (Delfino, 2007).

Se caracterizan por alterar varias generaciones de reproducción asexual (partenogénicas) con una generación de reproducción sexual. En el ciclo biológico de los áfidos cabe destacar:

- Reproducción anfígónica. Es aquella en donde intervienen los dos sexos (macho y hembra).
- Reproducción por partenogénesis. En este caso la reproducción se realiza sin la necesidad de la existencia del macho de la especie. Todos los individuos de la colonia procrean debido a que sus huevos son diploides y no necesitan machos.
- Oviparidad. La hembra da lugar a un huevo, el cual se alimenta y se desarrolla fuera del cuerpo de la madre.
- Viviparidad. En este caso los embriones se forman y se nutren en el interior del cuerpo de la madre.
- Polimorfismo. En determinados momentos en los que necesitan una mayor cantidad de alimento o se produce superpoblación, los pulgones son capaces de producir una hormona específica que les permite desarrollar las alas y poder así trasladarse a nuevas aéreas. Aumentan de esta manera su calidad de vida. Se trata de una propiedad que presentan algunas especies



de seres vivos para que algunos de sus individuos pueden desarrollar formas o aspectos diferentes, en etapas del ciclo vital distintas.

La generación de reproducción sexual suele darse cuando las condiciones ambientes dejan de ser las idóneas. Debido a este tipo de ciclo reproductivo y al gran vínculo que existe en numerosas especies de pulgones con su planta hospedadora, hacen que existan una gran cantidad de diferentes tipos de ciclos biológicos entre las distintas especies de áfidos.

A pesar de los diferentes ciclos biológicos que existen entre ellos, casi todos, presentan una característica en común, y es que son muy prolíficas, es decir, que tienen una gran capacidad para reproducirse. Una hembra produce por ciclo entre 50 y 100 descendientes, y los individuos tardan en madurar y comenzar a reproducirse de nuevo solamente una semana (Delfino, 2007).

Podemos distinguir principalmente los siguientes ciclos:

- Ciclo monoico. El ciclo se complementa sin la necesidad de que los individuos cambien de planta hospedadora, es decir, todas las generaciones de esa especie pueden desarrollarse sobre la misma o sobre las mismas especies vegetales sin migrar.

- Ciclo dioico. Para que el ciclo se complete es necesaria la migración, es decir, el cambio de planta hospedadora. Permitiendo de esta manera el desarrollo de la generación siguiente a la migradora. Así es como algunas generaciones pueden desarrollarse en algunas plantas que no son aptas para el desarrollo de otras generaciones de la misma especie.

- Holocíclico. Ciclo en que están presentes las formas sexuales masculinas. Estas especies poseen formas sexuales y partenogenéticas, apareciendo cada una de ellas en una época diferente del año. Pasan a reproducirse de forma partenogenética de modo continuo durante la primavera y el verano.

El macho (áptero/alado) copula con una hembra ovípara áptera produciendo el huevo de invierno. Cuando este eclosiona, da lugar a la hembra fundadora áptera y normalmente vivípara. Por partenogénesis pasa a la hembra áptera o alada vivípara que va a dar lugar a una gran cantidad de ellas, las cuales van a constituir la plaga de insectos que invade la planta. El número de generaciones puede llegar a ser muy alto, lo que explica la gran capacidad que presentan para propagarse. De estas hembras (ápteras y aladas) darán lugar finalmente a la hembra áptera ovípara para copular con el macho y reiniciar así el ciclo.

- Anholociclíco. En este tipo de ciclo biológico, no existe forma sexual masculina, sino que se suceden formas partenogenéticas de modo continuo. Se generan hembras vivíparas ápteras o aladas que dan lugar a hembras vivíparas. Invernan usualmente como hembras ápteras o ninfas. Las ninfas



son insectos de pequeño tamaño, se alimentan directamente de la planta y realizan mudas hasta alcanzar el estado adulto.

Existen dos formas aladas: las virginóparas, simplemente transmiten la plaga a lugares lejanos. Por otro lado, las sexúparas, que aparecen solo en otoño y dan lugar a la generación sexuada, de la que deriva el huevo de invierno depositado en la misma planta, cerrando el ciclo biológico. (Recalde, 2008).

El ciclo se complica cuando en la misma especie vegetal denominada huésped primario en donde se deposita el huevo de invierno, habitan la hembra fundadora y las distintas generaciones de hembras ápteras partenogenéticas. Cuando esto ocurre las hembras virginóparas reciben el nombre de emigrantes por trasladarse a otras especies vegetales distinta de la anterior, la cual recibe el nombre de huésped secundario. En este lugar se producen hembras ápteras partenogenéticas diferentes denominadas exiliadas. Estas hembras dan lugar a otra plaga. Cuando llega el otoño, aparecen entre las hembras exiliadas otras aladas sexúparas que regresan al huésped primario en el llamado vuelo de retorno. Las hembras sexúparas dan lugar a la generación sexuada de la que procede el huevo de invierno (Nieto Nafría, 1985).

2.2.4 Importancia como plaga agrícola y control.

Se conocen más de 400 especies de pulgones en el mundo, clasificados en 10 familias, aunque hay una gran variabilidad entre ellos en lo que respecta a su coloración, forma, tamaño o preferencia por distintas plantas, varias características comunes permiten reconocerlos.

Su elevada capacidad para reproducirse provoca que sus poblaciones crezcan de forma muy veloz, lo que les hace potencialmente muy destructivos. Además, cuando tienen a su disposición alimento, los pulgones tienden a formar colonias, siendo una de sus características más llamativas.

Existen pulgones muy específicos, los cuales se desarrollan exclusivamente sobre un cultivo, mientras que otros pueden ser mas polífagos y desarrollarse sobre un gran número de plantas distintas.

Como he nombrado anteriormente pueden producir tanto daños directos, como daños indirectos, y además ser vectores de virus fitopatógenos. Todo ello, hace que los pulgones constituyan una plaga potencial de los cultivos, siendo muy dañina si sus poblaciones no se controlan.

Para evitar su diseminación existen diferentes estrategias de control:

- Control Cultural. Consiste en el uso de prácticas agrícolas, con el fin de contribuir a prevenir los ataques de los insectos, hacer el ambiente menos



favorable para su desarrollo, destruirlos, o disminuir sus daños. Colocación de trampas pegajosas, eliminar los restos de cosecha, las malezas...

– Control Químico. Se basa en el uso de sustancias químicas que reciben el nombre de pesticidas o plaguicidas con el fin de disminuir o prevenir la aparición y desarrollo de una plaga.

– Control Biológico. Se usan organismos vivos para controlar las poblaciones de los organismos perjudiciales. En la actualidad existen tres caminos a seguir para el desarrollo de programas de control: **control biológico clásico** (se importan los enemigos naturales de la región de origen de la plaga en cuestión), **control biológico aumentativo** (se aumenta el número y/o la actividad de los enemigos naturales de forma transitoria y artificial por el hombre consiguiendo control biológico) y **control biológico por conservación** (aumentar o permitir la acción de la fauna auxiliar autóctona). (Koul y Dhaliwal, 2003).

2.2 Especies de insectos usados.

2.2.1 Myzus Persicae.

Su nombre común es "Pulgón verde del melocotonero". Es un pulgón cosmopolita y muy polífago. Afecta a un gran rango de hospedadores: frutales como el melocotonero y otros *Prunus*, cultivos herbáceos como solanáceas, gramíneas, crucíferas, cítricos... En los cultivos hortícolas bajo invernadero de la provincia de Almería se considera una de las especies con mayor incidencia. Debido en gran parte a que es un gran transmisor de virosis (Alomar *et al.*, 2006).

La ninfa recién nacida es amarillenta, con coloración uniforme y destacando los ojos oscuros. Esta ninfa pasa por cuatro estadios, realizando la correspondiente muda del exoesqueleto dando lugar al último estadio de adulta áptera. El adulto áptero tiene forma ovalada con mayor longitud que la hembra alada. Su cuerpo es de color verde pálido o verde amarillento, con bandas longitudinales oscuras, también pueden presentar coloraciones rojizas o rosadas. Sifones y cauda de color verde claro. Los sifones son largos y convergentes con el ápice de color oscuro La adulta alada tiene una forma menos ovalada que la áptera, su coloración es variable. La cabeza es oscura y el tórax negro brillante, mientras que el abdomen es de color verde, con una mancha dorsal negra. Las antenas de color oscuro son ligeramente más largas que el cuerpo, con la base del tercer segmento de color claro. Los ojos son de color rojo (Alomar *et al.*, 2006).

Se comportan de forma holocíclica. Las hembras se reproducen asexualmente por partenogénesis, alcanzando su máximo de población en primavera, para disminuir en verano y volver a aumentar en otoño. Cuando llega el frío, se reproducen de forma sexual dando lugar a los huevos de invierno. Cuando los inviernos son suaves, no necesita pasar el invierno en forma de huevo, de manera que hay adultos



y ninfas durante todo el año, teniendo en este caso un comportamiento anholocíclico (Vorburguer, 2003).



Imagen 7. *Myzus persicae* (Alomar et al., 2006).

2.2.2 Aphis Gossypii.

Su nombre común es “pulgón del algodón”. Afecta a cultivos herbáceos, cítricos, vid, etc. Está muy extendido y junto con *Myzus persicae* son una de las especies más problemáticas de los cultivos hortícolas de la provincia de Almería. Es el mejor transmisor del virus de “la tristeza de los cítricos”. En la vid, afecta a brotes, hojas y racimos, siendo este último de mayor importancia sobre todo en uva de mesa. Las picaduras, producen deformaciones, manchas negras, necrosamientos y caída del fruto. Todo esto supone una depreciación comercial del fruto. Se considera una de las especies más difícil de identificar (Alomar et al., 2006).

La ninfa es de color verde a amarillento, con sifones más oscuros. Presenta posibles secreciones cerasas. En estado adulto, los ápteros tienen un color de verde a negro, varía en función de su alimentación y pueden tener zonas verdes oscuras o grises. Los sifones son cilíndricos, ensanchados en la base, cortos y de color negro. Si es verde, nunca tiene la cuada negra. La cuada siempre va a ser más clara que los sifones. Las antenas, son de color amarillo pálido, con la parte terminal más oscura y más cortas que el cuerpo. Las patas son amarillo pálido con extremo del fémur y tarsos oscuros. Producen mucha melaza. La adulta alada presenta su cabeza, tórax y sifones de color negro, mientras que las antenas y las patas son de color grisáceo claro. El abdomen es verde. Sus alas son de color blanquecino transparente (Alomar et al., 2006).

El ciclo de este pulgón es Anholocíclico. Este ciclo se caracteriza por desaparecer la fase sexuada. De esta manera, se reproduce por partenogénesis durante todo el año. Las formas aladas que llegan a una planta hospedadora, dan lugar a hembras ápteras por partenogénesis, las cuales se reproducen durante varios ciclos. Cuando las condiciones son desfavorables, comienzan a producir formas aladas dispersándose a nuevas plantas hospedadoras (Alomar et al., 2006).



Imagen 8. Aphis gossypii (Alomar et al, 2006).

2.2.3 Rhopalosiphum Padi.

“Pulgón de la avena” o “Pulgón de los cereales”. Se observa en la avena, centeno, cebada, trigo, maíz, etc. También podemos verlo en otros tipos de cultivos aunque en mucha menos medida como por ejemplo la remolacha. Sus daños son mayores en la primavera y es transmisor del virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) (Peña Martínez, 2008).

Los adultos ápteros, tienen el cuerpo de forma globosa, de color verde oliva a un verde casi negro. Tienen un área rojiza en la base de los cornículos o sifones y la cauda. Esta mancha rojiza al final del abdomen hace que sea una especie difícil de confundir por otra. Las antenas son más cortas que el cuerpo, formadas por seis antenitos. Las patas tienen el mismo color que el cuerpo. Los sifones son oscuros, se van adelgazando hacia el ápice, con hinchazón subapical leve. Las formas aladas son oscuras, con el abdomen verde pálido a verde oscuro. Se ubica en la parte aérea de la planta, especialmente próximo a los macollos, o también a nivel del suelo. Puede atacar al trigo en emergencia (Nieto, 1994).

Esta especie principalmente es dioica holocíclica, aunque también puede tener un ciclo anholocíclico cuando las condiciones de inviernos lo permiten. Los principales daños aparecen en los meses de febrero, marzo y abril (Nieto, 1994).



Imagen 9. *Rhopalosiphum Padi* (Nieto Nafria, 1994).

2.2.4 *Melanaphis sacchari*.

“Pulgón amarillo del sorgo”. Es originario de África y medio Oriente. Su alimentación se basa en especies de la familia *Poaceae*: sorgo, avena, caña de azúcar, cebada... Puede afectar también al maíz y al arroz aunque en menor medida. Transmiten virus como el del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) y el virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV). Temperaturas superiores a los 35°C bajan sus poblaciones. Atacan al cultivo tan pronto como emerge la plántula, pero el daño económico aparece durante las últimas etapas de crecimiento (Quijano-Carranza, 2017).

Las ninfas son de color amarillo pálido a verde grisáceo. Los adultos ápteros tienen su cuerpo blando y periforme. El color varía de amarillo pálido a marrón, con manchas oscuras distribuidas aleatoriamente por el abdomen. Antenas de cinco a seis artejos, dos tercios de la longitud del cuerpo y oscurecidas hacia el ápice. Tienen la cauda de color café, más larga que los sifúnculos y con cuatro setas a los lados. Los sifúnculos son cónicos y oscuros. El último segmento de sus patas es de color oscuro. Pasa por cuatro estadios ninfales, presentando hábitos gregarios en su forma áptera. Los adultos alados tienen el cuerpo alargado, tórax abultado y oscuro. Sus alas tienen las venas notoriamente oscurecidas. El dorso abdominal es de color variado, de amarillento a rosáceo o marrón, con bandas transversales oscuras (Peña *et al.*, 2017).

Se reproducen de forma sexual con su forma alada, y asexual, por partenogénesis, en su forma áptera (Peña *et al.*, 2017).



Imagen 10. *Melanaphis sacchari* (Peña et al, 2017).

2.2 Reino Fungi.

En un principio los hongos son considerados como parte del reino vegetal, pero más tarde fueron clasificados en un quinto reino denominado Hongos o Fungi (Whittaker, 1969).

Estos organismos eucariotas de forma general, presentan una membrana nuclear y otros organelos rodeados de membrana. Dentro del núcleo, nos encontramos con uno o dos nucléolos pequeños y varios cromosomas. Son heterótrofos y quimiorganótrofos, la mayoría de ellos toman sus nutrientes por absorción, y los degradan finalmente mediante las exoenzimas que liberan al medio. Realizan una digestión extracelular, lo que les permite usar una gran cantidad de sustratos diferentes como nutrientes y fuente de energía. Producen micelio y están formados por hifas septadas o sifonales, cuyas paredes celulares están recubiertas principalmente por quitina y glucanos. Debido a ello, los hongos intervienen de forma activa en los ciclos del carbono y del nitrógeno. La gran mayoría de ellos son aerobios estrictos ya que necesitan para su crecimiento el oxígeno libre como aceptor de electrones. Sin embargo, algunos de ellos pueden ser anaerobios facultativos, es decir que pueden usar otras moléculas como aceptores de electrones. Son organismos no móviles, puesto que no poseen flagelos que les permitan el movimiento, a excepción de las zoosporas y los planogametos de los hongos acuáticos (Deacon, 2006).

Poseen pared celular, que representa la mayor parte de su peso seco. Está formada principalmente por polisacáridos y proteínas, las cuales muchas veces se encuentran unidas a los polisacáridos formando glucoproteínas. Su principal función es la de proteger contra factores ambientales como el estrés, la lisis osmótica y los daños por acción de la luz ultravioleta y productos químicos; además de servir como una barrera física contra la acción de otros organismos. También se almacenan en ella algunas enzimas líticas, estas en el momento adecuado participan en la rotura



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

de moléculas, para proporcionar nutrientes al hongo. El talo (micelio), puede estar formado por filamentos microscópicos que se ramifican en todas las direcciones, ocupando el sustrato que le sirve como alimento o dentro del mismo si se trata de un hongo parásito. Cada uno de esos filamentos se llama hifa (estructura tubular que se ramifica a medida que el hongo crece en forma apical) y al conjunto se le denomina micelio. Estas hifas están formadas por una pared delgada, transparente, que guarda en su interior un protoplasma. Este puede estar interrumpido por tabiques transversales dividiendo a la hifa en segmentos o célula, llamados septos. En los hongos que son más sencillos, estos septos únicamente se originan en la base de los órganos reproductores, de manera que las hifas son aceptadas, no septadas o sifonales. Las hifas pueden ser incoloras o hialinas y oscuras o dematiáceas (Alexopoulos *et al.*, 1996).

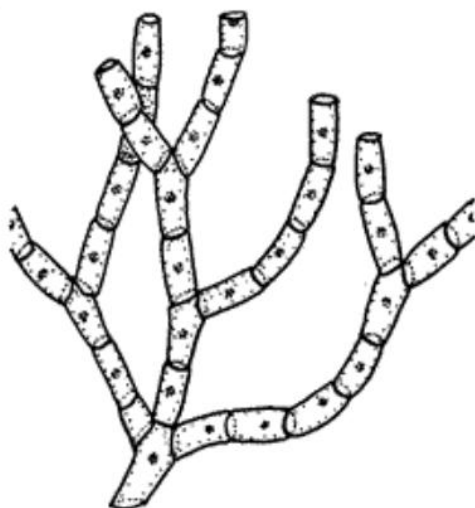


Imagen 11. Micelio con hifas septadas (Alexopoulos et al, 1996).

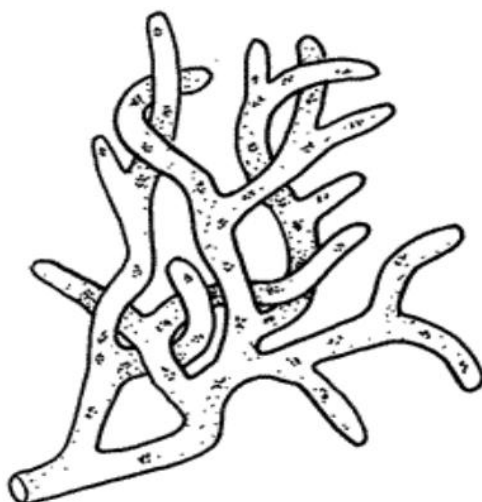


Imagen 12. Micelio con hifas sifonadas (Alexopoulos et al, 1996).



La fase somática o vegetativa (talo) puede ser unicelular como la levadura o filamentosa como en los mohos y plasmodial característica de los mohos mucilaginosos. También pueden tener la capacidad de ser dimórficos, es decir que durante su ciclo de vida presentan dos fenotipos: unicelular (levadura) y filamentoso (micelial) (Alexopoulos *et al.*, 1996).

Durante su ciclo de vida pueden presentar dos tipos de reproducción: sexual y asexual. Algunos tienen la capacidad de reproducirse en estas dos formas, mientras que otros sólo se limitan a una de ellas. Incluso, se puede observar en algunos de ellos el fenómeno de parasexualidad. En la formación de los órganos reproductivos el talo entero se puede convertir en una o más estructuras reproductoras, de manera que las fases somáticas y de reproducción nunca coexisten (hongos holocárpicos). Sin embargo en otros hongos, las estructuras reproductoras se forman al diferenciarse sólo una parte del talo, permaneciendo la restante con actividad somática normal (hongos eucárpicos).

- Reproducción asexual. Es la más importante en la propagación de una especie, permite la producción de numerosos individuos al poder repetirse varias veces en un año. Las formas de reproducción asexuales más comunes son: fragmentación del soma, fisión de células somáticas para originar células hijas, gemación de células somáticas o esporas y producción de esporas, las cuales germinan en el tubo germinal originando el micelio, dando lugar a un nuevo hongo. El método más común es la formación de esporas. Algunos forman un solo tipo de esporas mientras que otros como los Uredinales, forman hasta cuatro tipos de esporas diferentes a lo largo de su ciclo vital.

Si las esporas se forman en un esporangio, reciben el nombre de esporangiosporas. Mientras que si se forman en el ápice o a los lados de una hifa se denominan conidios. Las hifas pueden escindirse en las células que las componen formando artrosporas. Si las células quedan recubiertas por una pared gruesa antes de separarse, se llaman clamidosporas. Existen en los hongos esporangiosporas móviles, zoosporas, dotadas con flagelos lisos o barbulados.

- Reproducción sexual. Se produce por la unión de núcleos. Presenta tres fases: plasmogamia, que consisten en la unión de dos protoplastos uniendo en la misma célula los núcleos de las dos células originando un dicarion (célula con dos núcleos); la segunda o cariogamia, se suele dar justo después de la anterior, consiste en la fusión de dos núcleos; finalmente ocurre la meiosis, que restaura el estado haploide de la célula dando lugar a cuatro células hijas.

En la gran mayoría de los hongos, los núcleos son haploides. En un talo pueden coexistir núcleos haploides distintos, lo que constituye el fenómeno de heterocariosis (Alexopoulos *et al.*, 1996).



Por regla general, con respecto a su forma de vida, son saprótrofos, es decir, se alimentan de materia orgánica muerta. Otros pueden realizar asociaciones simbióticas y mutualistas cuando el resultado de la asociación es beneficioso para los organismos que intervienen en ella. También se puede dar el caso en el que el único beneficioso sea el hongo. En este caso, se denominan parásitos. Estos hongos pueden ser parásitos obligados y por tanto biótrosos (necesitan que las células que parasitan estén vivas). Por otro lado, pueden ser necrótrofos, es decir, facultativos que necesitan matar las células del huésped para alimentarse de sus componentes.

Su distribución es cosmopolita, se encuentran en el suelo, en el agua, restos vegetales, excrementos... algunas especies tienen una distribución restringida o son endémicas para determinado lugar, debido a que dependen de su simbiote, de su huésped o de un hábitat específico. El reino Fungi lo podemos dividir en 4 grupos (chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota) y un grupo conocido como hongos imperfectos, donde se reúnen aquellas especies de las que se desconoce la reproducción sexual (Kirk *et al.*, 2008).

2.3 Hongos Entomopatógenos.

Los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, forman un grupo de más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos (Pucheta *et al.*, 2006).

Son los primeros en ser usados como agentes biológicos para el control de plagas, porque son capaces de producir enfermedad y muerte en los insectos. Estos microorganismos infectan a los artrópodos directamente, a través de la penetración de la cutícula, y ejercen altos mecanismos de acción confiriéndoles una alta capacidad para que el hospedero desarrolle resistencia (Assaf *et al.*, 2002).

La acción natural comienza cuando el insecto entra en contacto con el hongo al transitar por sustratos que esta ha colonizado. Las unidades infectivas del hongo, se adhieren a la superficie de la cutícula del insecto formando el apresorio. El éxito de la germinación del hongo estará determinada por diferentes factores: el contenido de agua, iones, ácidos grasos y nutrientes de la superficie de este, así como su estado fisiológico. El tubo germinal empieza a crecer sobre la cutícula del insecto y penetra a través de los orificios naturales, como las partes bucales, membranas intersegmentales, espiráculos o sitios donde existe alta humedad. Se produce una combinación de la acción de enzimas que degrada la cutícula, la cual se rompe por presión osmótica debido a la generación de altas concentraciones de glicerol, que se produce debido a la hidrólisis de las gotas de lípidos translocadas. En el hemocele, los cuerpos hifales producen blastosporas para colonizar al hospedadero y aprovechar sus nutrientes, secretan proteínas afectoras y metabolitos secundarios para evadir la respuesta inmune, por lo que se contrarrestan los receptores del



hospedero, y producen toxinas. Estas toxinas afectan al sistema muscular y excretor del insecto, alterándose su conducta habitual en cuanto a alimentación y reproducción. Además también se alteran los mecanismos de defensa, dejando de esta manera que siga avanzando la enfermedad. Como consecuencia el insecto muere, el hongo termina de colonizarlo, las hifas emergen del insecto y forman las células conidiógenas. Estas esporulan en la superficie del insecto, contribuyendo a la diseminación del hongo y la posterior infección de otros individuos (Kachaturians, 1991).

2.4 Especies de hongos usados.

2.4.1 *Trichoderma longibrachiatum*

Se trata de un Ascomicota perteneciente a la familia Hypocreaceae y a la orden Hypocreales. Se trata de un hongo de rápido crecimiento, produce colonias normalmente blanquecinas que cambian a verde grisáceo con la edad. La temperatura óptima de crecimiento y de esporulación de sus colonias es de 35 °C. Se trata de una especie clonal que se reproduce a través de conidios unicelulares de paredes lisas. Pueden presentar clamidosporas, sus conidióforos tienen una disposición piramidal, sus conidios son elipsoidales. Los conidióforos comprenden un eje central fuertemente desarrollado a partir del cual surgen los filidos (estructura que da lugar a las colonias del hongo y es producida por el conidióforo) individualmente en varios niveles debajo de la punta. Los filidos suelen ser lanuginiformes a casi cilíndricos, a menudo enganchados o sinuosos. Los conidios suelen ser elipsoidales a oblongos, lisos e incluso subglobosos o rugosos para ser tuberculosos (St-Germain et al., 1996).



Imagen 13. *Trichoderma longibrachiatum* a microscopio (St-Germain et al., 1996).



Imagen 14. Aislamiento *Trichoderma longibrachiatum* (St-Germain et al., 1996).

Se forma normalmente en material vegetal en descomposición, donde podrá actuar como saprófito estricto hasta como parásito de otros hongos saprotróficos. Sus conidióforos se pueden formar en el escaso micelio aéreo y en pequeñas pústulas algodoneras (*Roya* en algodón). Utiliza celulosas para digerir la celulosa de la biomasa vegetal en descomposición y quitinasas para digerir las paredes quitinosas de otros hongos. También es capaz de digerir proteínas con la ayuda de proteasas asparticas, serina proteasas y metaloproteasas. Produce metabolitos secundarios como pironas, terpenos, etc. Gracias a ello, tiene una gran utilidad en industrias debido a la alta capacidad que presenta para secretar grandes cantidades de proteínas y metabolitos. Puede usarse como bioestimulante, promueve el crecimiento de plantas al aumentar la absorción de nutrientes, inhibir el crecimiento de parásitos de las plantas, aumentar el metabolismo de los carbohidratos y la síntesis de fitohormonas. Se encuentra principalmente en ambientes cálidos, es un hongo del suelo y a veces se encuentra en la madera muerta, otros hongos, materiales de construcción, etc (St-Germain *et al.*, 1996).

2.4.2 *Aspergillus* spp.

Se trata de un hongo filamentoso hialino, saprofita, perteneciente al filo Ascomycota. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual formando ascosporas en el interior de ascas, y asexual con la formación de conidios. Su colonia es redonda, pseudoesférica y no ramificada. Conidióforo liso y largo, sin ramificaciones (Arenas, 2011).

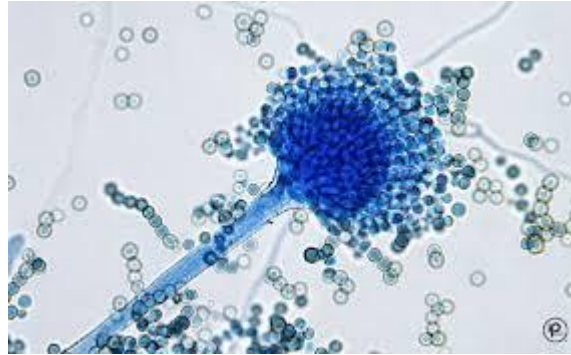


Imagen 15. Aspergillus a microscopio (Arenas, 2011).



Imagen 16. Colonia Aspergillus (Arenas, 2011).

Es uno de los principales hongos productores de micotoxinas. Estos metabolitos secundarios los secreta el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos. Se encuentra en el suelo y vegetales en descomposición, humanos, bovinos, equinos, aves, etc. Puede vivir entre los 12°C y los 57°C. Se suele transmitir por esporas que son capaces de soportar hasta los 70°C (Arenas, 2011).

2.4.3 Paecilomyces variotii.

Es un Ascomycota, se trata de una especie común perteneciente al orden Eurotiales. Forma colonias elipsoidales en forma de limón aterciopeladas de color marrón oliva. Sus conidióforos están ramificados de forma irregular con fialidas en las puntas. Los fialidos tienen una base amplia que termina en un cuello. Los conidios son unicelulares, las clamidiosporas se producen de forma individual o en cadenas cortas (J.Ponton, 2002).

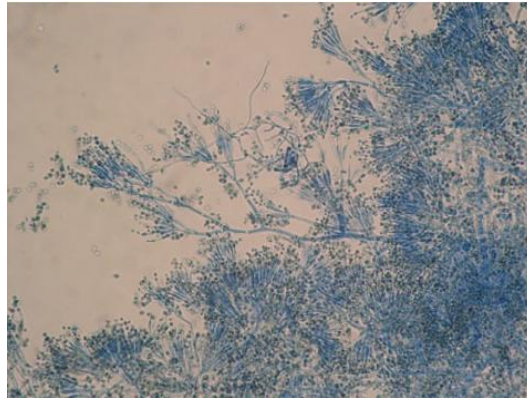


Imagen 17. *Paecilomyces variotti* a microscopio (J.Ponton, 2002).



Imagen 18. Colonia *Paecilomyces variotti* (J.Ponton, 2002).

Esta especie es termofílica, capaz de crecer a altas temperaturas de hasta 50-60°C. Se encuentra en el ambiente, está muy extendido en compost, suelos y productos alimenticios. Puede aparecer en la madera, tierra y polvo de alfombras (J.Ponton, 2002).

2.4.4 *Trichoderma saturnisporum*.

Ascomycota perteneciente al orden Hypocreales. Se trata de un microorganismo que se encuentra en el suelo y es muy activo como control de enfermedades y bioestimulante en las plantas hortícolas.

Sus conidióforos son ramificados, produce clamidiosporas, su temperatura óptima se encuentra entre los 25-30°C.

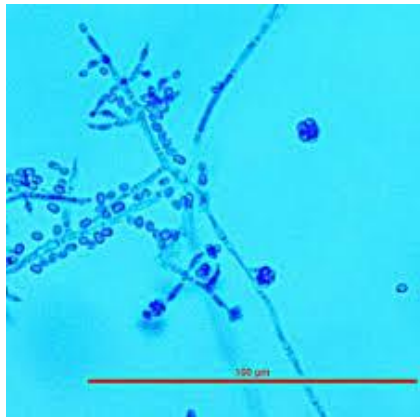


Imagen 19. *Trichoderma saturnisporum* a microscopio.



Imagen 20. Colonia *Trichoderma saturnisporum*.

3. Especificaciones y requerimientos técnicos.

3.1 Ubicación de los insectos.

Las diferentes especies de áfidos usadas (*Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Melanaphis sacchari*, *Rhopalosiphum padi*) se obtuvieron de diferentes extensiones de cultivo donde dichos insectos se encontraban infectándolos.

- *Myzus persicae* procede de un población de *Capsicum annum* que se encontraba en el invernadero experimental de la Universidad de Almería.



Imagen 21. *Capsicum annum* infectado por *Myzus persicae*.

- *Aphis Gossypii* fue obtenida de una población de *Vitis vinífera*, situada en el invernadero experimental de la Universidad de Almería.

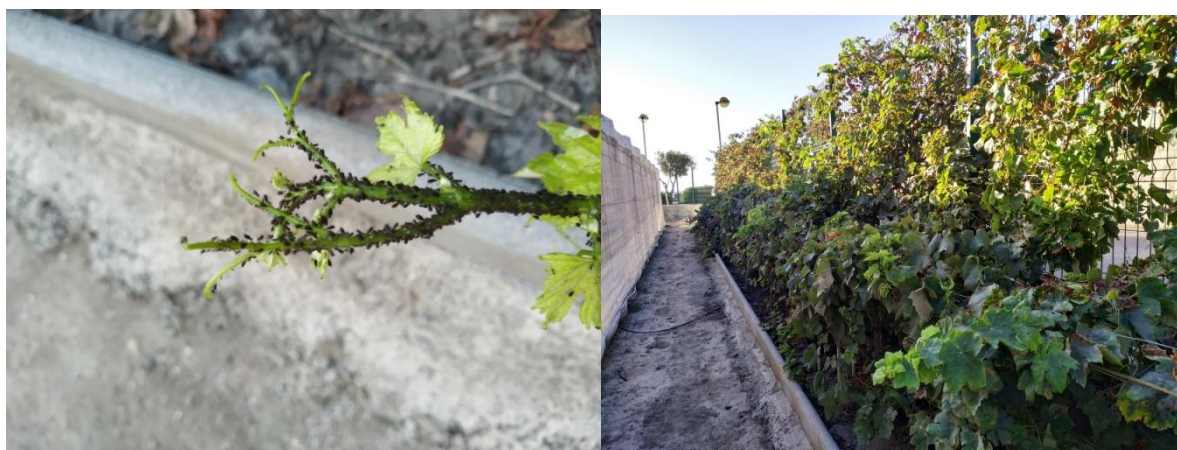


Imagen 22. Plaga de *Aphis gossypii* en *Vitis vinífera*.

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



- *Melanaphis sacchari* proviene de una población de *Nerium oleander*, encontrada a los alrededores del invernadero experimental de la Universidad de Almería.



Imagen 23. *Nerium oleander* infectado por *Melanaphis sacchari*.

- *Rhopalosiphum padi* se encontraba en una planta bunker de *Hordeum vulgare* muy utilizada en los Invernaderos de la provincia.



Imagen 24. Colonia de *Rhopalosiphum padi* infectando a una población de *Hordeum vulgare*.



3.2 Obtención de los hongos entomopatógenos.

Los hongos entomopatógenos se obtienen de la colección de fitopatología del departamento de Agronomía de la Universidad de Almería. Este previamente fue aislado en un medio de cultivo PDA, creciendo 7 días a 25°C de temperatura y libre de contaminantes. Posteriormente se realiza el conteo de esporas. Dichos hongos reciben la siguiente nomenclatura:

H1 → *Trichoderma longibrachiatum*, **11H** → *Aspergillus sp*, **PAE** → *Paecilomyces variotii*, **TS** → *Trichoderma saturnisporum*, **To** → Control.

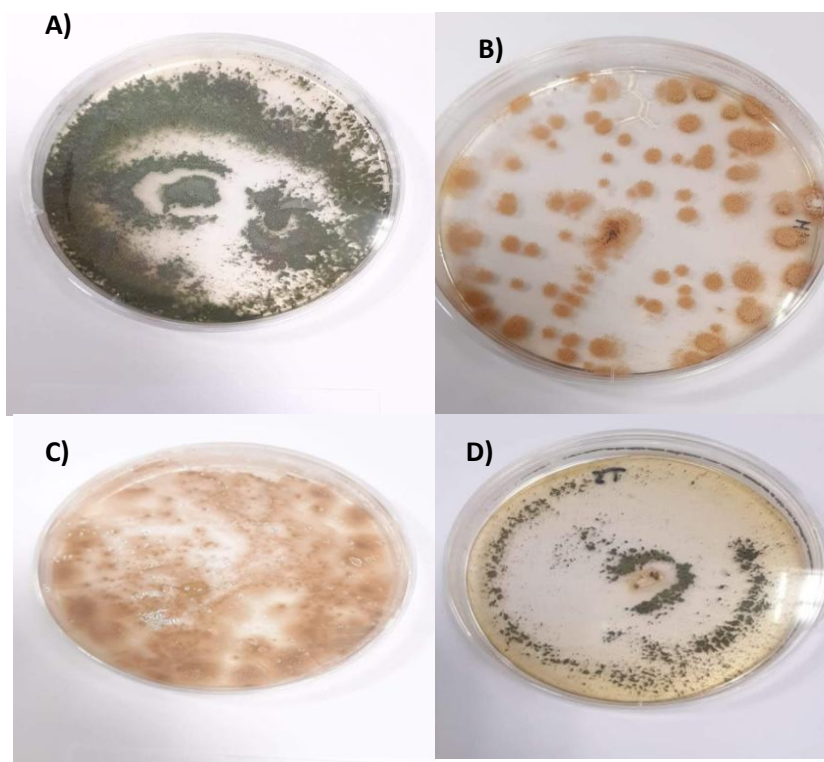


Imagen 25. Colonia H1 en PDA(A), colonia 11H en PDA(B), colonia PAE en PDA(C) y colonia Ts en PDA(D).

3.3 Extracción y conteo de esporas.

1. Vertemos 10 ml de agua esterilizada y unas gotas de polisorbato 20 (Tween 20) en la placa de Petri que contiene el material fúngico asilado en el medio PDA.
2. Se raspa la superficie de la placa de Petri con una varilla de vidrio. De esta manera facilitamos que las esporas y conidios se suelten. El contenido que se obtiene del raspado, se vierte en un recipiente y se agita. Se obtiene de esta manera una disolución con una concentración de esporas determinada. Todo este procedimiento se hará en presencia del mechero Busen para evitar contaminaciones, y se realizará la desinfección con alcohol y mechero de los materiales usados.



Imagen 26. Disolución de esporas extraída de la colonia PAE(A), disolución de esporas extraída de la colonia H1(B), disolución de esporas extraída de la colonia 11H(C) y disolución de esporas extraída de la colonia Ts(D).

3. Preparación cámara Neubauer o hemocitómetro.

La cámara de Neubauer o hemocitómetro, se trata de un instrumento que se utiliza en medicina y biología para realizar el recuento de esporas y células en un medio líquido. Es un aparato de vidrio que cuenta con dos superficies reticuladas para el conteo de esporas o células, y dos columnas laterales que poseen una altura de 0.1 mm por encima del retículo.

El retículo de Neubauer posee una subdivisión de 9 cuadrantes de 1mm² de superficie cada uno. De los cuales resultan de utilidad solo los 4 cuadrantes laterales L1, L2, L3 y L4, que a su vez se dividen en 16 cuadrados de 0,25 mm de arista. El cuadrante central, a su vez se divide en varios pequeños subcuadrantes.

Para que el conteo de esporas resulte más fácil, en primer lugar hay que diluir la disolución obtenida en agua estéril. Para la dilución se tiene en cuenta: 100 μ L de esporas / 1000 μ L de agua estéril. Sobre la cámara de Neubauer se coloca un cubreobjetos, y se deposita por debajo de este la disolución de esporas diluida con ayuda de una micropipeta.

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



Una vez introducida la disolución se observa al microscopio y se cuenta las esporas existentes en dos de las esquinas "L". Se cuentan 4 cuadrados en diagonal, es decir, un total de ocho cuadrados.

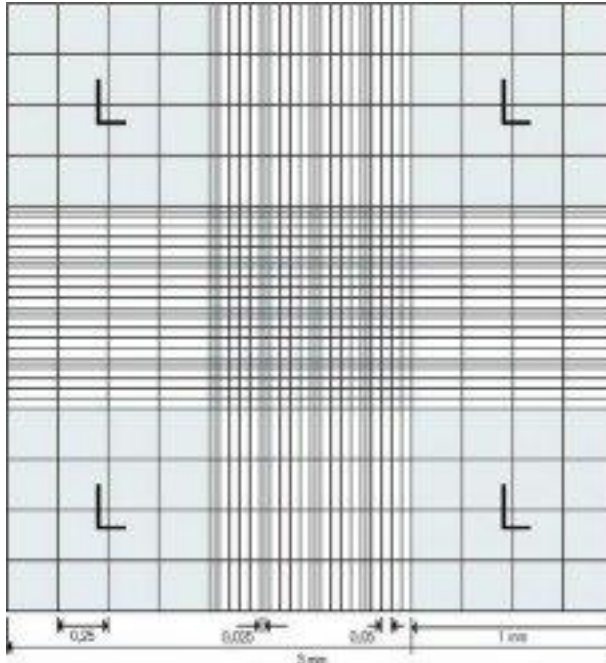


Imagen 27. Cámara Neubauer vista con el microscopio.

4. Para el conteo de esporas utilizamos la siguiente ecuación:

$$\text{Nºde esporas} = X \times 16 \times \text{ID} \times 10^4$$

X= media de las conidias contadas.

ID= factor de disolución, inversa a la disolución empleada.

La concentración final que queremos usar para tratar cada repetición será de 15 millones de esporas por mL. Para conseguir dicha concentración tenemos en cuenta la siguiente ecuación: $C_i \times V_i = C_f \times V_f$.

C_i = concentración de esporas que conocemos.

C_f = la concentración de esporas que queremos alcanzar.

V_i = volumen que necesitamos

V_f = sería el volumen que necesitamos de agua estéril para conseguir el que queremos.



3.4 Preparación del ensayo.

- En primer lugar se prepararon los botes de muestra (similares a los que se utilizan en los ensayos clínicos). Estos botes serán usados como recipientes para realizar el ensayo. Cada uno de ellos constaba de una abertura en el lado opuesto de donde se coloca la tapa. Este se realizó para permitir la circulación del aire. Sobre esta abertura, se colocó una malla antitrips similar a la usada en los invernaderos de la zona para impedir la fuga de los insectos.

Se usaron un total de 20 botes, 4 para cada especie de pulgón más el control (TO). En este se pulveriza con agua para comprobar la veracidad del ensayo. Cada uno de ellos se nombró con la abreviación del nombre del agente parasítico (descritos anteriormente) junto con el número de réplica que le corresponde a cada de ellos.

Los recipientes antes de su uso fueron desinfectados con hipoclorito de sodio 5% durante 5 minutos. Para reducir la cantidad de hipoclorito de sodio se lavaron durante otros 5 minutos en agua estéril.



Imagen 28. Recipiente usado con abertura, malla y rotulado.



Imagen 29. Recipientes desinfectados.

- Se colocaron unos discos de algodón humedecidos. Se esterilizaron en autoclave durante veinte minutos a 120°C de temperatura. Se introdujeron

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



en agua estéril y se secaron. Se colocaron en la tapa del recipiente con la ayuda de unas pinzas de laboratorio previamente desinfectadas.

La finalidad de colocar este disco de algodón, consiste en mantener la humedad durante el ensayo.

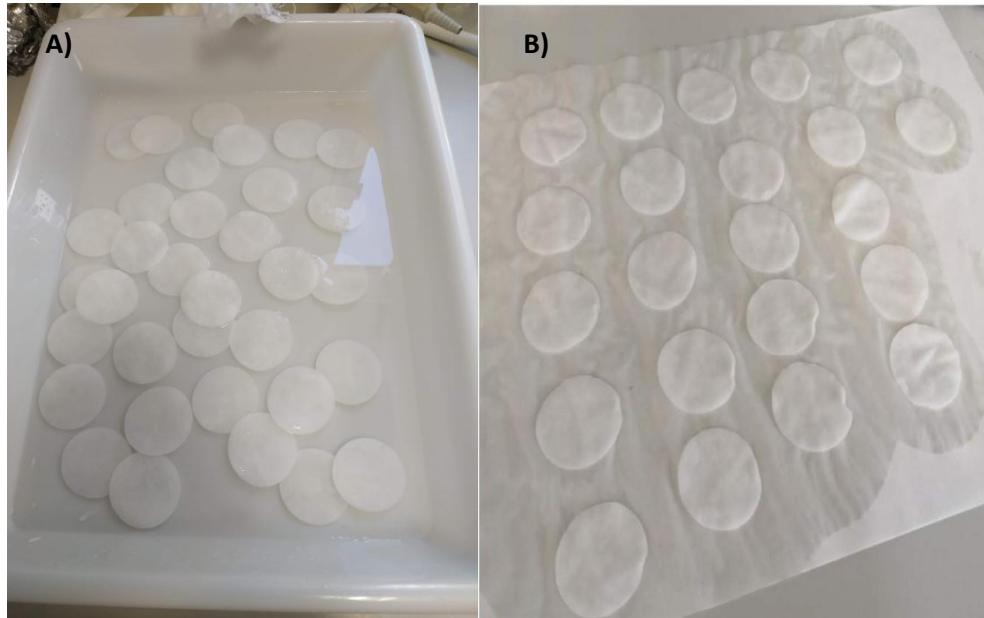


Imagen 30. Humectación(A) y secado (B) de los discos de algodón.

- Para cada especie de pulgón se usó su especie vegetal correspondiente. Es decir se obtuvo material vegetal de las poblaciones de campo en donde se ubicaban cada uno de ellos.

Dicho material vegetal fue desinfectado cinco minutos en hipoclorito sódico 5%, posteriormente se dejó otros cinco minutos en agua estéril, para eliminar los excesos de hipoclorito de sodio y que los insectos no mueran por intoxicación. Finalmente se secan sobre papel de filtro y se colocan en la tapa del recipiente, encima del algodón.

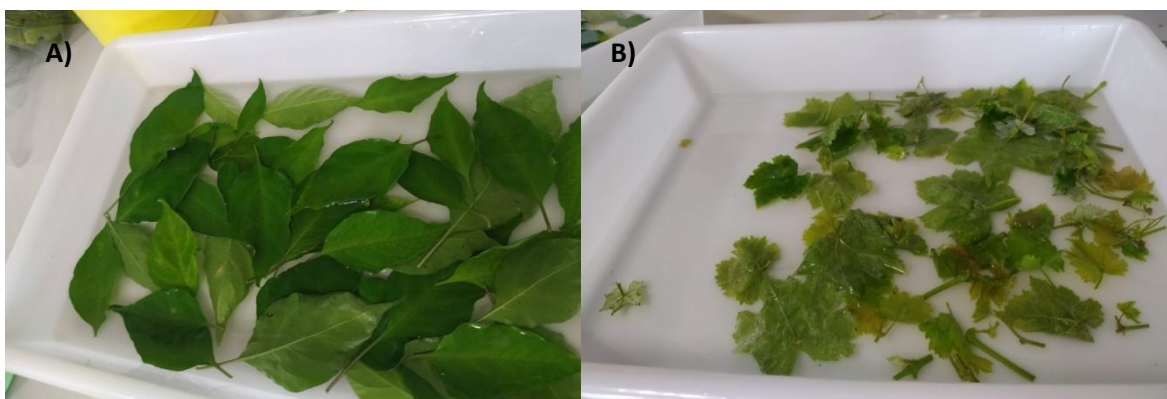


Imagen 31. Desinfección en hipoclorito de sodio 5% de las hojas de *Capsicum annum* (A) y de las hojas de *Vitis vinífera* (B).



Imagen 32. Secado en papel de filtro de las hojas de *Vitis vinífera*.

- Por último, se colocaron 10 pulgones por repetición, excepto para la especie *Melanaphis sacchari*, en la cual se colocaron 15 pulgones por repetición. Cada especie de pulgón fue colocada con su material vegetal correspondiente.

Myzus persicae* → *Capsicum annum

Aphis gossypii* → *Vitis vinífera

Melanaphis sacchari* → *Nerium oleander

Rhopalosiphum padi* → *Hordeum vulgare



Imagen 33. *Rhopalosiphum padi* en el material vegetal *Hordeum vulgare* colocados en su respectivo recipiente.



Imagen 34. *Myzus persicae* en el material vegetal *Capsicum annum* colocado en su respectivo recipiente.



Imagen 35. *Melanaphis sacchari* en el material vegetal *Norium orleander* colocado en su respectivo recipiente.



Imagen 36. *Aphis gossypii* en el material vegetal *Vitis vinífera* colocados en su respectivo recipiente.

- Una vez preparado el material vegetal juntos con los áfidos en su recipientes correspondientes, se pulveriza sobre ellos el material fúngico.

3.5 Pulverización.

Se pulverizan las esporas del material fúngico obtenido mediante un pulverizador dentro de la campana de extracción. Se pulveriza una concentración de quince millones de esporas por mL en cada repetición. Para cada especie fúngica se realizaron 4 repeticiones. Se realizó un tratamiento TO, sobre el cual se aplicó agua estéril.

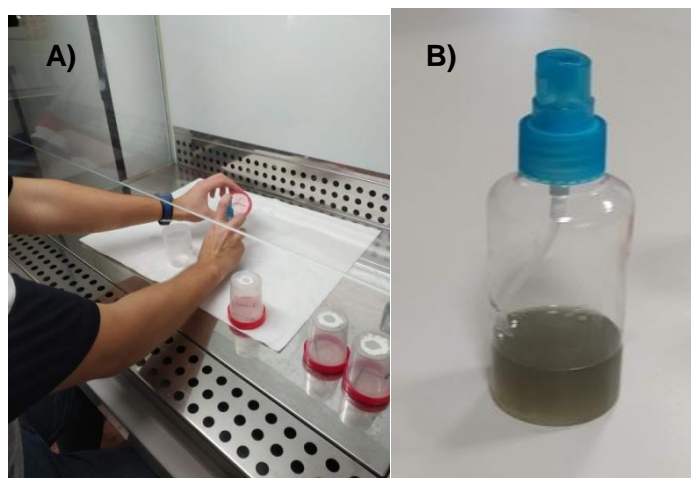


Imagen 37. Pulverización de los hongos entomopatógenos sobre los recipientes preparados dentro de la campana de extracción (A) y pulverizador utilizado (B).

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



Una vez pulverizados, se colocaron en una estufa. Esta presenta unas condiciones ambientales idóneas para la supervivencia y desarrollo de los pulgones y de los hongos. Cuenta con una temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad. Se realizó un conteo cada día de los áfidos muertos y de su total.



Imagen 38. Estufa.

3.6 Parasitismo.

Además de obtener los datos referidos a la mortalidad que los hongos producen sobre los insectos, se comprobó si los hongos atacaban a la cutícula o se introducían en el interior de su organismo. Para ello, una vez que todos los pulgones murieron, se dejaron en la cámara húmeda para el desarrollo del hongo y su micelio.

1. Para saber si el hongo se desarrolló sobre la cutícula, los pulgones se introdujeron en un medio PDA y se dejó crecer durante unos días a condiciones ambientales óptimas para ello.
2. Sin embargo, para conocer si penetraban en el interior del organismo, se comenzó con la desinfección de los insectos mediante el siguiente proceso: aquellos pulgones que presentaban una mayor cantidad de micelio



se sumergieron en alcohol durante 5 minutos, seguidamente se depositaron en agua estéril durante otros 5 minutos más dos veces seguidas. una vez desinfectados y secados, se colocaron en un medio PDA. Finalmente se dejó crecer el hongo durante unos días bajo unas condiciones óptimas para su desarrollo.

4. Resultados y Discusión.

Los datos obtenidos se van a representar en 2 gráficas distintas. En ellas, se evalúa el porcentaje de mortalidad con respecto a los días.

1. Porcentaje de mortalidad medio:

$$\% \text{Mortalidad} = 1 - \left[\frac{\text{Individuos vivos} - \text{Individuos muertos}}{\text{Individuos vivos}} \right] \times 100$$

Además, también se calcula el tiempo en días que cada tratamiento (cada especie de material fúngico) produce que los insectos alcancen el 50% de mortalidad (LT50).

2. Porcentaje de mortalidad corregido Abbott (Abbott, 1925):

$$\% \text{Mortalidad corregido} = \frac{\% \text{mortalidad muestra} - \% \text{mortalidad testigo}}{100 - \% \text{mortalidad testigo}} \times 100$$

4.1 Gráficas *Myzus persicae*.

Se ha realizado una representación gráfica del porcentaje de mortalidad medio de *Myzus persicae*, como consecuencia de la aplicación de diferentes especies fúngicas. Se representa la mortalidad que producen las especies fúngicas sobre los insectos al cabo de 7 días.

Además, se ha realizado una gráfica para evaluar el porcentaje de mortalidad medio del insecto sin ningún tipo de tratamiento (Control: TO), esta se ha utilizado como referencia para evaluar la eficacia de los diferentes hongos usados.

Por otro lado, se ha desarrollado el análisis estadístico de los resultados obtenidos, para poder analizar con mayor precisión la eficacia que producen las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad del áfido.

Por último, se ha obtenido un gráfico de mortalidad corregida (Abbott, 1925), en el observaremos con mayor precisión si alguna especie fúngica produce una eficiencia significativa sobre la mortalidad del pulgón.

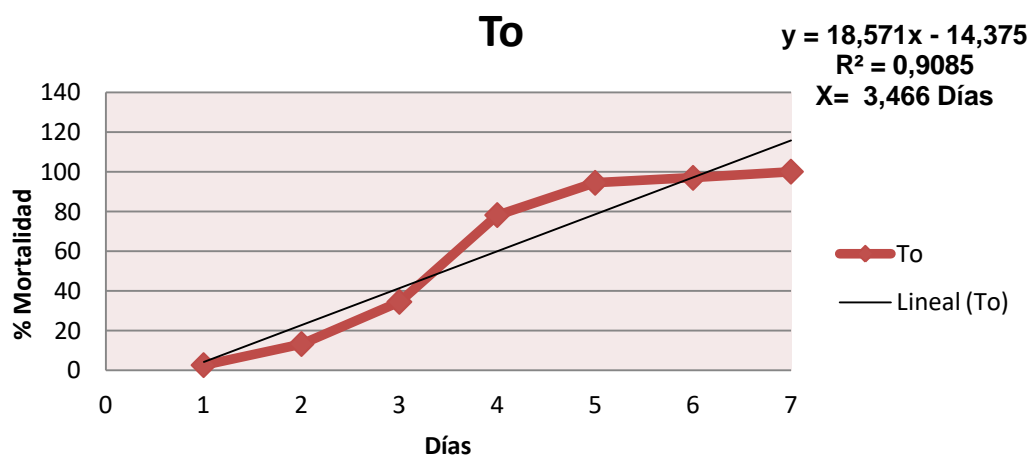


Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

4.1.1 Gráficas porcentaje mortalidad medio.

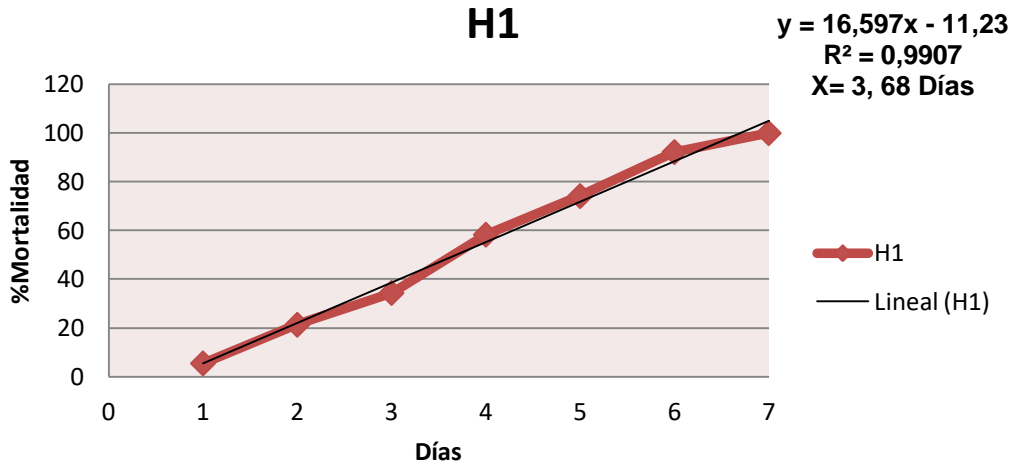
En las gráficas 2, 3,4 y 5, se representa la mortalidad del insecto a lo largo de una semana, ocasionada por la aplicación sobre ellos de diferentes hongos entomopatógenos. En la gráfica 1 denominada control, se representa la mortalidad del insecto sin haberle aplicado ningún tipo de especie fúngica (pulverizando sobre ellos únicamente agua destilada), y nos servirá para poder analizar la eficiencia que los diferentes materiales fúngicos producen sobre la mortalidad del áfido.

Para ello, se obtiene el número de días en el que se produce el 50 % de mortalidad del pulgón. Se calcula el número de días en los que los insectos tienen una mortalidad del 50% tanto en T_0 (control) como con la aplicación de los diferentes hongos sobre ellos. De esta manera, si alguno de los tratamientos consigue que el insecto alcance el 50 % de mortalidad en un número de días inferior en el que se alcanza el 50% de mortalidad del insecto aplicando agua (T_0), producirá una eficacia sobre la mortalidad del insecto.



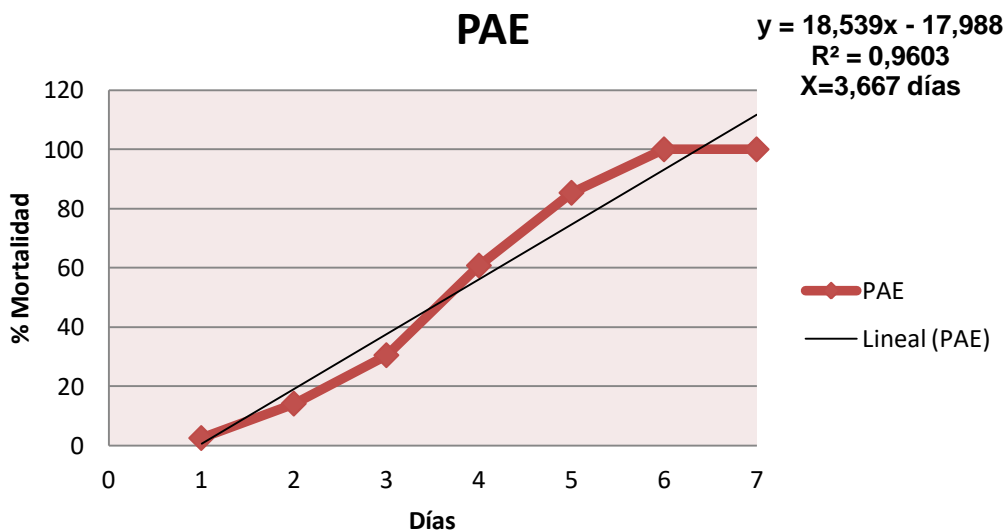
Gráfica 1. Porcentaje de mortalidad medio de T_0 .

En la gráfica 1 se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Myzus persicae* sin la aplicación de ningún tipo de tratamiento fúngico. En este caso, se calcula que *Myzus persicae* alcanza un 50 % de mortalidad a los 3,466 días. Este dato, se ha usado para evaluar la eficacia que los diferentes hongos entomopatógenos producen sobre la mortalidad del insecto.



Gráfica 2. Porcentaje mortalidad medio de *Trichoderma longibrachiatum*.

En la gráfica 2 se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Myzus persicae* a lo largo de 7 días. En este caso se ha pulverizado una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma longibrachiatum*. Se observa como con la aplicación de dicho material fúngico, el insecto alcanza el 50% de mortalidad a los 3,68 días. Por tanto, este hongo entomopatógeno no produce un incremento en la mortalidad del insecto, debido a que sin la aplicación del hongo de la especie *Trichoderma longibrachiatum* obtenemos un 50% de mortalidad del pulgón a los 3,466 días (gráfico 1).

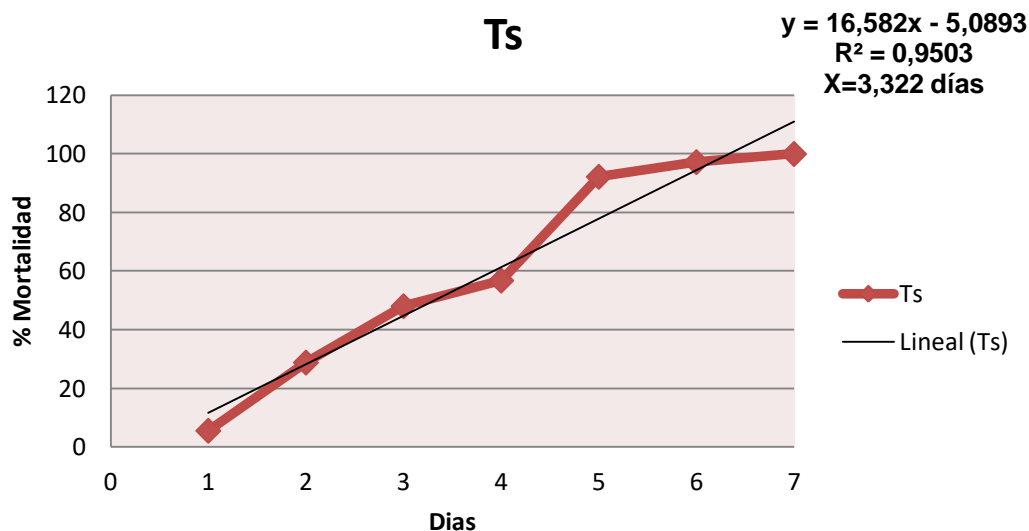


Gráfica 3. Porcentaje mortalidad medio de *Paecilomyces variotii*.



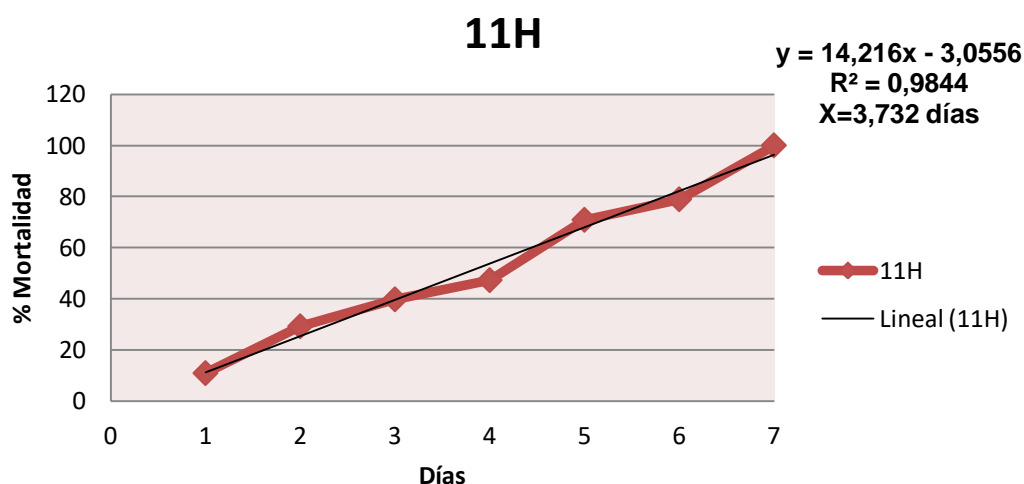
Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

Con la aplicación del hongo de la especie *Paecilomyces variotii* sobre la plaga, podemos observar en la gráfica 3 como los áfidos alcanzan un 50% de mortalidad a los 3,667 días. Al no producirse un incremento de mortalidad con respecto al control (gráfica 1), no resulta de interés dicho material fúngico como control de la plaga.



Gráfica 4. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma saturnisporum*.

En la gráfica 4 vemos una representación de la mortalidad de *Myzus persicae* producida por el hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*. Podemos observar como los áfidos alcanzan el 50% de mortalidad a los 3,322 días. En este caso, los datos obtenidos son significativos puesto que se produce un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en el gráfico 1 (3,466 días).



Gráfica 5. Porcentaje de mortalidad medio de *Aspergillus sp.*



En el gráfico 5 vemos la representación del porcentaje de mortalidad de *Myzus persicae* a los largo de 7 días, aplicando sobre ellos una disolución que contiene esporas del hongo del género *Aspergillus* spp. Observamos como los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 3,732 días. Por tanto, no se obtienen datos significativos usando dicho género fúngico como método de control de la plaga, al no producirse un incremento de mortalidad con respecto al control.

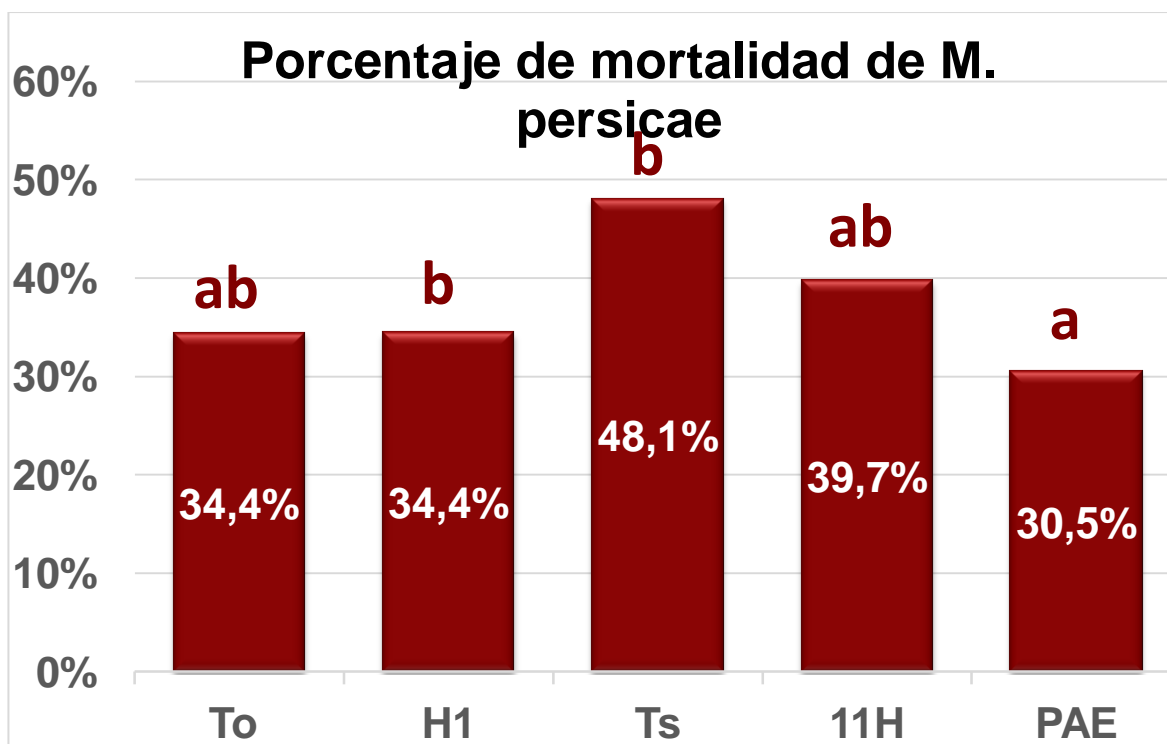
Podemos observar los resultados obtenidos con las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad de *Myzus persicae* en la siguiente tabla:

50% de Mortalidad.	Material Fúngico	Tiempo (Días).
	<i>To</i>	3,46
	<i>Trichoderma longibrachium</i>	3,68
	<i>Paecilomices variotii</i>	3,66
	<i>Trichoderma saturnisporum</i>	3,32
	<i>Aspergillus</i> sp.	3,73

Tabla 1. Representación LT50 frente a *Myzus persicae*.

En la tabla 1 podemos ver con claridad como la única especie fúngica que produce un incremento de la mortalidad de *Myzus persicae* con respecto a la mortalidad producida en el control (3,466 días), se produce con la aplicación del hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*. Con dicha especie fúngica, los insectos alcanzan el 50 % de mortalidad a los 3,32 días.

En la siguiente gráfica nos encontramos con una representación del análisis estadístico obtenido como resultado de la aplicación de diferentes especies fúngicas, como control sobre la plaga (*Myzus persicae*).



Gráfica 6. Porcentaje de mortalidad medio de cada tratamiento medido a los 3 días del ensayo.

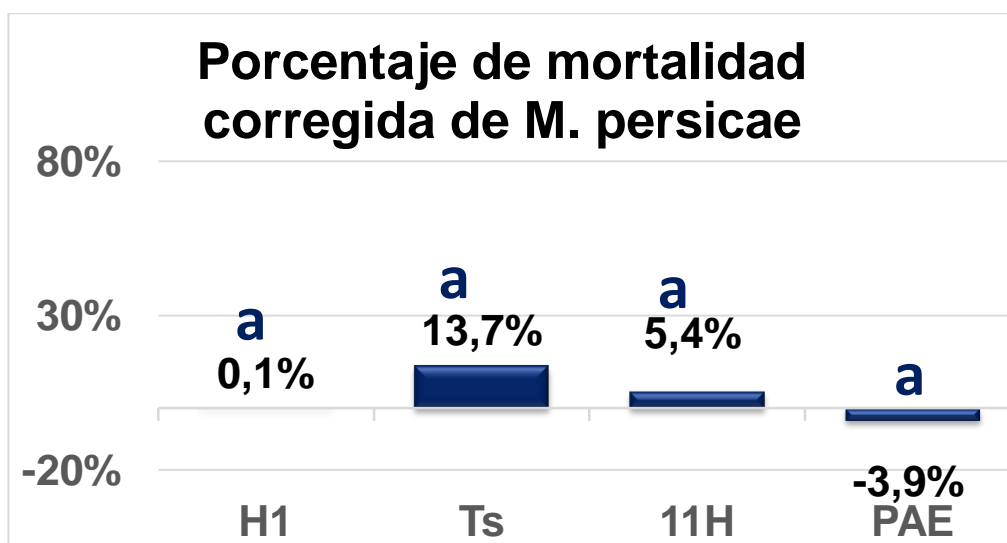
Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



En la gráfica 6, observamos como estadísticamente ninguna de las especies fúngicas, produce un incremento de la mortalidad de la plaga significativo con respecto al obtenido en To.

4.1.2. Gráfica porcentaje de mortalidad corregido Abott.

En la siguiente gráfica se ha realizado una representación del porcentaje de mortalidad medio corregido que presentan los insectos.



Gráfica 7. Porcentaje de mortalidad corregido que se produce a los 3 días.

En la gráfica 7, vemos una representación del porcentaje de mortalidad corregido de los insectos, al ser aplicados sobre ellos diferentes especies fúngicas. Observamos como el hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum* y el perteneciente al género *Aspergillus spp* provocan en los insectos un porcentaje de mortalidad más significativo con respecto al provocado por los de la especie *Trichoderma longibrachiatum* y *Paecilomyces variotii*. Sin embargo, estadísticamente los resultados obtenidos son muy similares entre sí, ninguno de las especies fúngicas utilizadas sobre la plaga produce un cambio significativo en su mortalidad.

4.2 Gráficas Aphis Gossypii.

En primer lugar nos encontramos con las diferentes representaciones gráficas del porcentaje de mortalidad medio de *Aphis gossypii*, al aplicar sobre ellos diferentes especies fúngicas. Se representa la mortalidad que se produce en los insectos durante 5 días. Por otro lado, se realiza una gráfica en donde se representa el



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

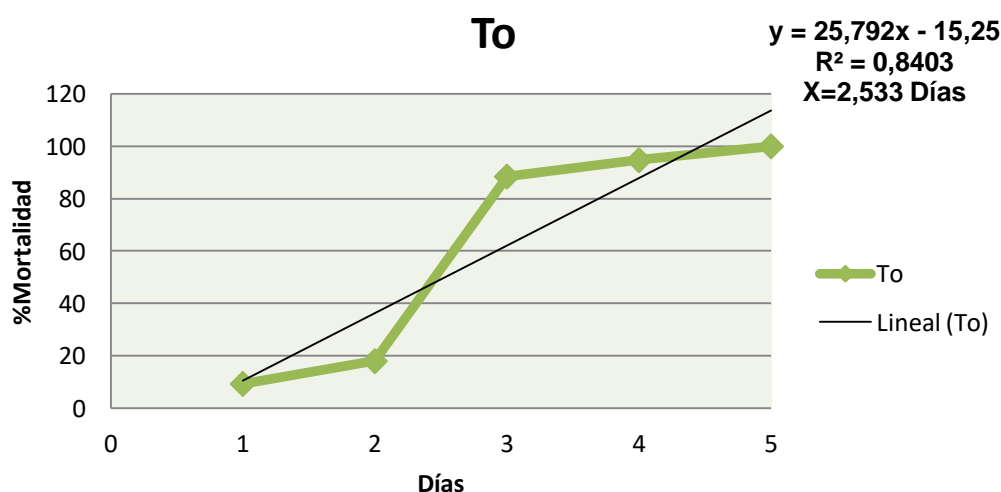
porcentaje de mortalidad medio de los insectos aplicándoles simplemente agua (Control: To), esta nos servirá como referencia para evaluar la eficiencia que las distintas especies de hongos entomopatógenos producen en la mortalidad de los insectos.

Además, se ha desarrollado el análisis estadístico de los resultados obtenidos, para poder analizar con mayor precisión, la eficacia que producen las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad del áfido.

Por último, se ha obtenido un gráfico de mortalidad corregida (Abbott, 1925), en el observaremos con mayor precisión si algún tratamiento fúngico produce una eficacia significativa sobre la mortalidad de los pulgones.

4.2.1. Gráficas porcentaje mortalidad medio.

En las gráficas 9, 10, 11 y 12, se representa la mortalidad del insecto a lo largo de 5 días, ocasionada por diferentes hongos entomopatógenos. En la gráfica 8, se representa la mortalidad de los insectos sin haberle aplicado ningún tipo de especie fúngica, solamente agua destilada (control). Este nos servirá para poder analizar la eficiencia que los diferentes tratamientos fúngicos producen sobre la mortalidad del áfido. Para ello, se obtiene el número de días en el que se produce el 50 % de mortalidad del pulgón (tanto en control, como en la aplicación de las distintas especies fúngicas). De esta manera, si alguno de los tratamientos consigue que el insecto alcance el 50 % de mortalidad en un número de días inferior en el que se alcanza aplicando agua (To), producirá una eficacia sobre la mortalidad del insecto.



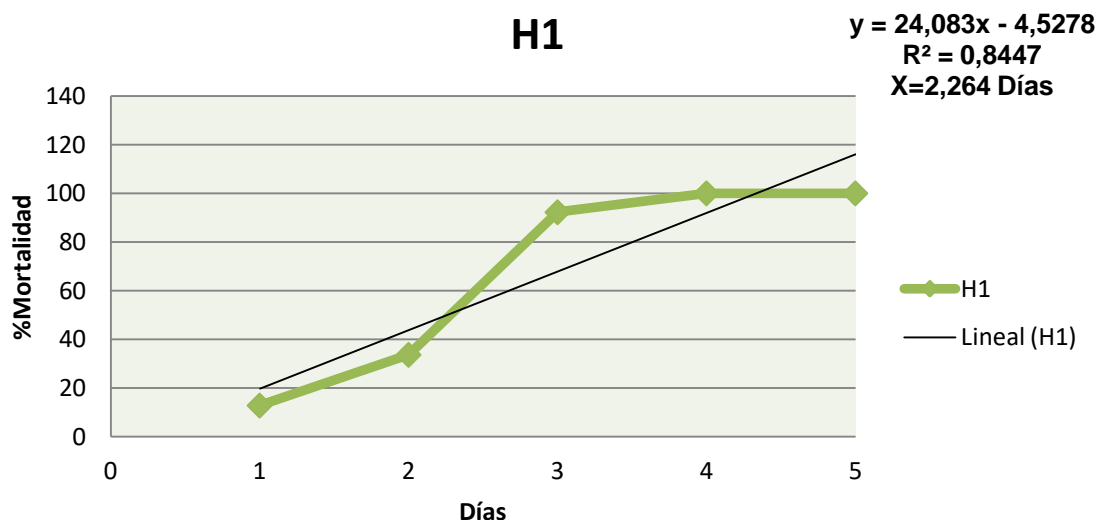
Gráfica 8. Porcentaje de mortalidad medio To.

En la gráfica 8 se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Aphis gossypii*, sin la aplicación de ningún tipo de especie fúngica. En este caso, se calcula que los



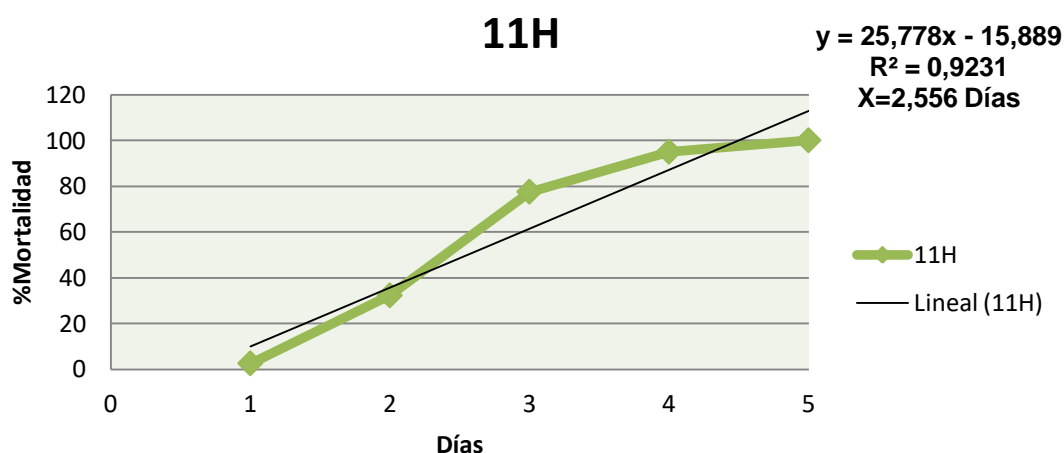
Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

insectos alcanzan el 50 % de mortalidad a los 2,533 días. Este dato, se ha usado para evaluar la eficacia que los diferentes hongos entomopatógenos producen sobre la mortalidad del insecto.



Gráfica 9. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma longibrachiatum*.

En la gráfica 9, se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Aphis gossypii* a lo largo de 5 días. En este caso se ha pulverizado una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma longibrachiatum*. Se observa como con la aplicación de dicha especie fúngica, el insecto alcanza el 50% de mortalidad a los 2,264 días. Es decir, que los datos obtenidos son significativos puesto que consigue un incremento de mortalidad con respecto al obtenido en el control. En este, los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,533 días (gráfico 8).

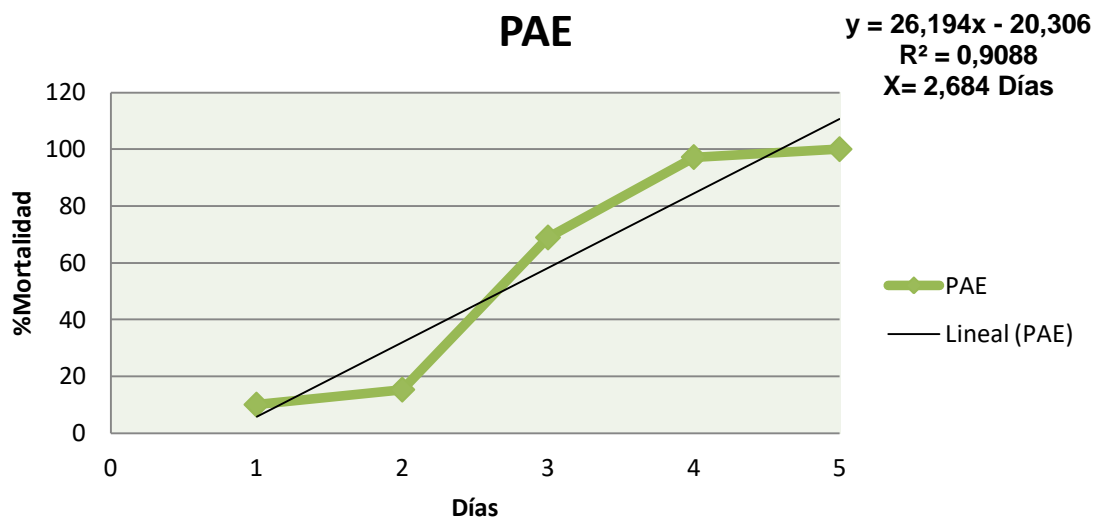


Gráfica 10. Porcentaje mortalidad medio de *Aspergillus sp.*



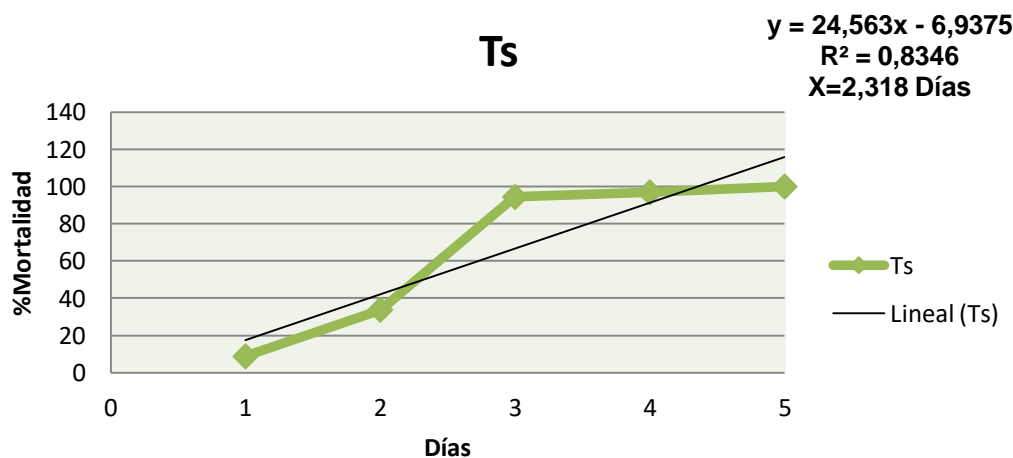
Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

En la gráfica 10 vemos la representación del porcentaje de mortalidad de *Aphis gossypii* a los largo de 5 días, aplicando sobre ellos una disolución que contiene esporas del hongo del género *Aspergillus* spp. Observamos como los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,556 días. Por tanto, no se obtienen datos significativos usando dicha especie fúngica como método de control de la plaga, al no producirse un incremento de mortalidad con respecto al control (gráfica 8), en donde el 50 % de mortalidad de los insectos se alcanza a los 2, 533 días.



Gráfica 11. Porcentaje de mortalidad medio de *Paecilomyces variotii*.

Con la aplicación del hongo de la especie *Paecilomyces variotii* sobre la plaga, podemos observar en la gráfica 11 como los áfidos alcanzan un 50% de mortalidad a los 2,684 días. Al no producirse un incremento de mortalidad con respecto al control (gráfica 8), en donde se produce el 50% de mortalidad a los 2,533 días, no resulta de interés dicha especie fúngica como método de control de la plaga.



Gráfica 12. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma saturnisporum*.



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

En la gráfica 12 vemos una representación gráfica de la mortalidad de *Aphis gossypii* producida al aplicarle sobre los insectos una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*. Podemos observar como los áfidos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,318 días. En este caso, los datos obtenidos son significativos puesto que se produce un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en la gráfica 8 (2,533 días).

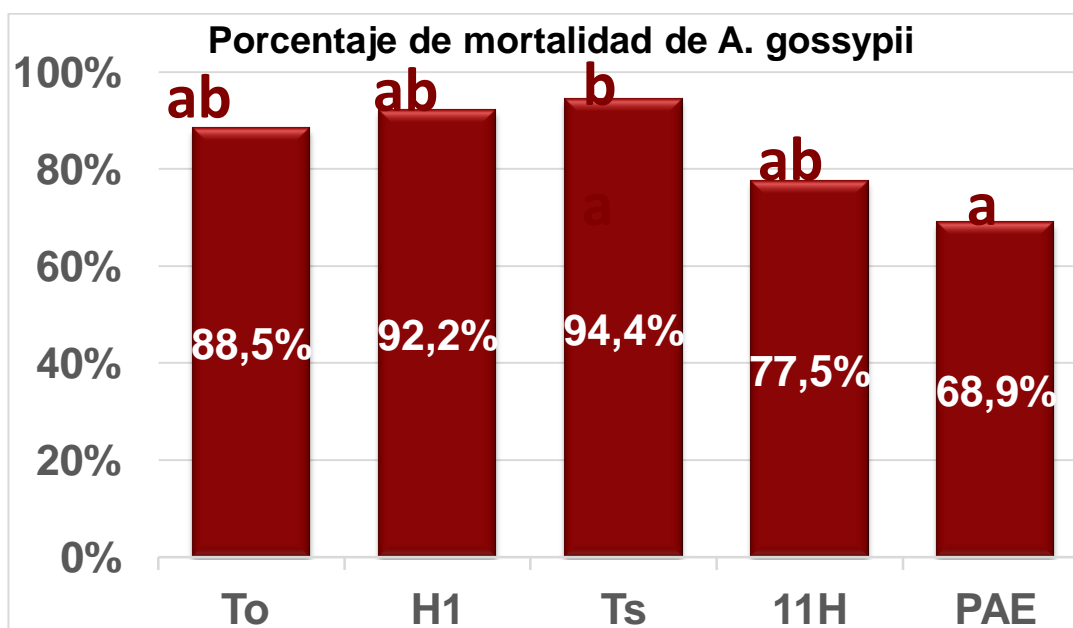
Podemos observar los resultados obtenidos con las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad de *Aphis gossypii* en la siguiente tabla:

50% de Mortalidad.	Material Fúngico	Tiempo (Días).
	To	2,533
	<i>Trichoderma longibrachium</i>	2,264
	<i>Paecilomyces variotii</i>	2,318
	<i>Trichoderma saturnisporum</i>	2,556
	<i>Aspergillus sp.</i>	2,684

Tabla 2. Representación LT50 frente a *Aphis gossypii*.

En la tabla 2 podemos ver con claridad el efecto obtenido de las diferentes especies fúngicas, sobre la mortalidad de los insectos de la especie *Aphis gossypii*. Con respecto a la mortalidad producida en el control (2,533días), las únicas especies fúngicas que consiguen un incremento de la mortalidad en los insectos son: *Trichoderma longibrachiatum* y *Paecilomyces variotii*. Con la aplicación de estos hongos entomopatógenos, los insectos alcanzan el 50 % de mortalidad a los 2,264 y 2,318 días respectivamente.

En la siguiente gráfica nos encontramos con una representación del análisis estadístico obtenido como resultado de la aplicación de diferentes especies fúngicas sobre la plaga (*Aphis gossypii*).



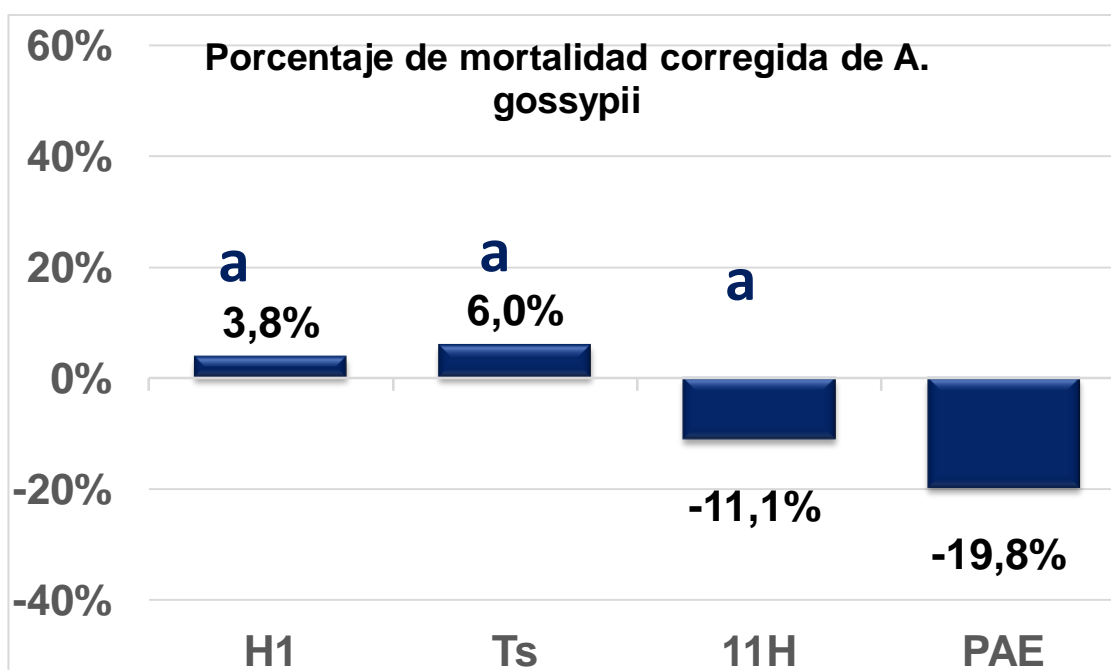
Gráfica 13. Porcentaje de mortalidad medio de cada tratamiento medido a los 3 días.



En la gráfica 13 observamos como estadísticamente todas las especies fúngicas obtienen resultados sobre la mortalidad de los insectos muy similares a la obtenida en el control. Aunque con la aplicación del hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*, los resultados están ligeramente por encima que los obtenidos en el control. Al contrario, con la aplicación del hongo de la especie *Paecilomyces variotii*, destaca por tener resultados muy por debajo de los obtenidos en el control. El resto, el perteneciente al género *Aspergillus spp* y el de la especie *Trichoderma longibrachiatum* presentan valores muy similares a los obtenidos por el control.

4.2.2 Porcentaje de mortalidad corregido Abbott.

En la siguiente gráfica se ha realizado una representación del porcentaje de mortalidad medio corregido que presentan los insectos.



Gráfica 14. Porcentaje de mortalidad corregido que se produce a los 3 días.

En la gráfica 14 vemos una representación gráfica del porcentaje de mortalidad corregido de los insectos al ser aplicados las diferentes especies fúngicas sobre ellos. Observamos como los hongos de las especies *Trichoderma saturnisporum* y *Trichoderma longibrachiatum* provocan en los insectos un porcentaje de mortalidad más significativo con respecto al provocado por el del género *Aspergillus sp* y el de la especie *Paecilomyces variotii*. Sin embargo, estadísticamente los resultados obtenidos son muy similares entre sí, ninguna de las especies fúngicas usadas sobre la plaga produce un cambio significativo en su mortalidad.



4.3 *Melanaphis sacchari*.

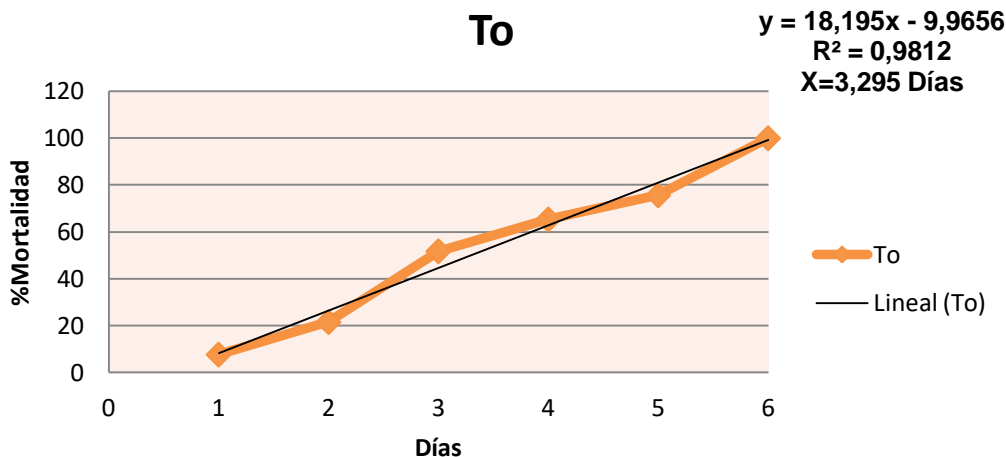
En primer lugar nos encontramos con las diferentes representaciones gráficas del porcentaje de mortalidad medio de *Melanaphis sacchari* al aplicar sobre ellos diferentes especies fúngicas. Se representa la mortalidad que se produce en los insectos durante 6 días. Por otro lado, se realiza una gráfica en donde se representa el porcentaje de mortalidad medio de los insectos sin la aplicación de ningún tipo de especie fúngica (Control: T_0), esta nos servirá como referencia para evaluar la eficiencia que los distintos hongos entomopatógenos producen en la mortalidad de los insectos.

Además, se ha desarrollado el análisis estadístico de los resultados obtenidos, para poder analizar con mayor precisión la eficacia que producen las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad del áfido.

Por último, se ha obtenido un gráfico de mortalidad corregida (Abbott, 1925), en el observaremos con mayor precisión si algún tratamiento fúngico produce una eficiencia significativa sobre la mortalidad del pulgón.

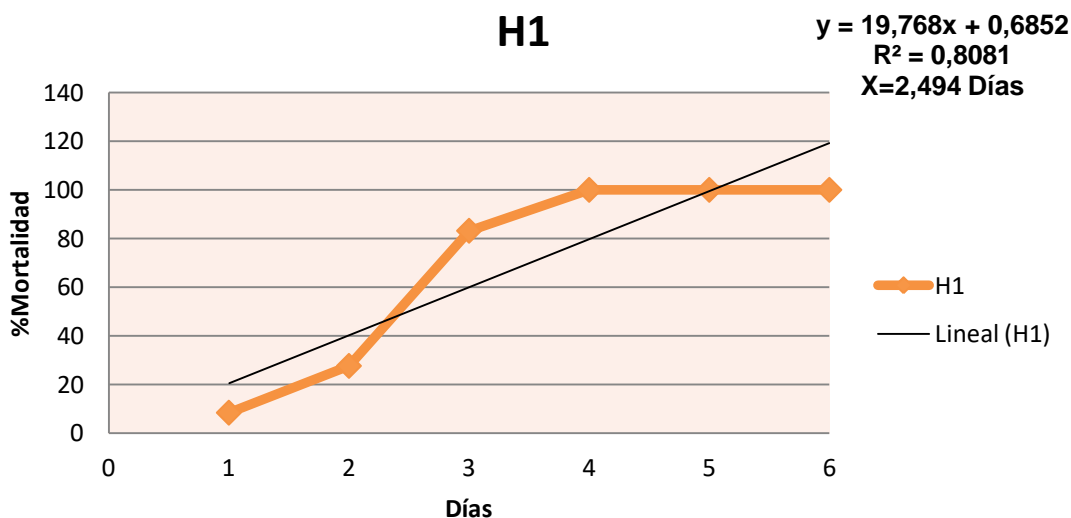
4.3.1 Gráficas porcentaje de mortalidad medio.

En las gráficas 16, 17, 18 y 19, se representa la mortalidad del insecto a lo largo de 6 días ocasionada por la aplicación de diferentes hongos entomopatógenos. En la gráfica 15, se representa la mortalidad de los insectos sin haberle aplicado ningún tipo de especie fúngica, solamente agua destilada (control). Este nos servirá para poder analizar la eficiencia que los diferentes tratamientos fúngicos producen sobre la mortalidad del áfido. Para ello, se obtiene el número de días en el que se produce el 50 % de mortalidad del pulgón (tanto en control como en la aplicación de las distintas especies fúngicas). De esta manera, si alguno de los tratamientos consigue que el insecto alcance el 50 % de mortalidad en un número de días inferior en el que se alcanza aplicando agua (control), producirá una eficacia sobre la mortalidad del insecto.



Gráfica 15. Porcentaje de mortalidad medio de To.

En la gráfica 15, se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Melanaphis sacchari* sin la aplicación de ningún tipo de material fúngico. En este caso, se calcula que los insectos alcanzan un 50 % de mortalidad a los 3, 295 días. Este dato se ha usado para evaluar la eficacia que los diferentes hongos entomopatógenos producen sobre la mortalidad del insecto.



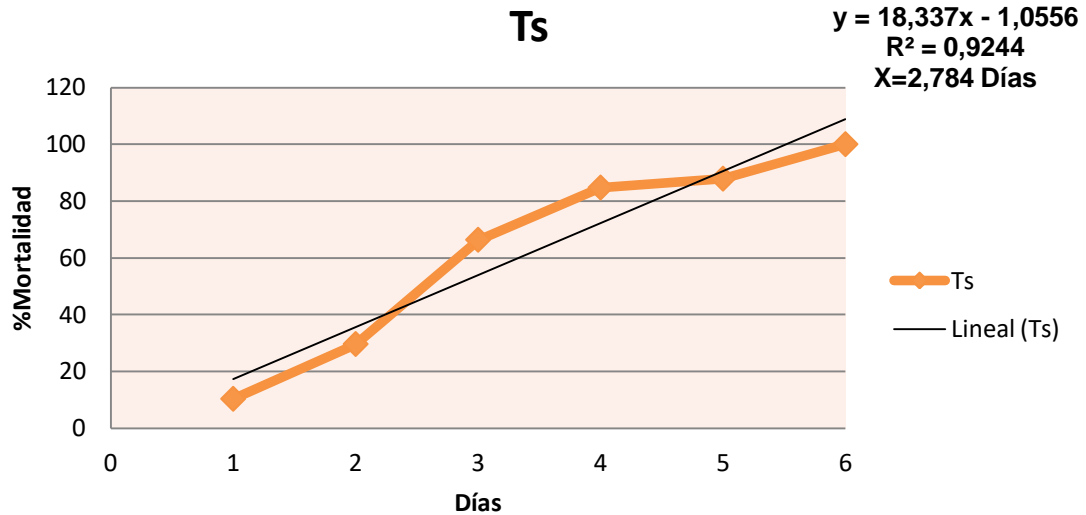
Gráfica 16. Porcentaje de mortalidad medio de Trichoderma longibrachiatum.

En la gráfica 16, se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Melanaphis sacchari* a los largo de 6 días. En este caso se ha pulverizado una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma longibrachiatum*. Se observa como con la aplicación de dicho material fúngico, el insecto alcanza el 50% de mortalidad a los 2,494 días. Es decir, que los datos obtenidos son significativos

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

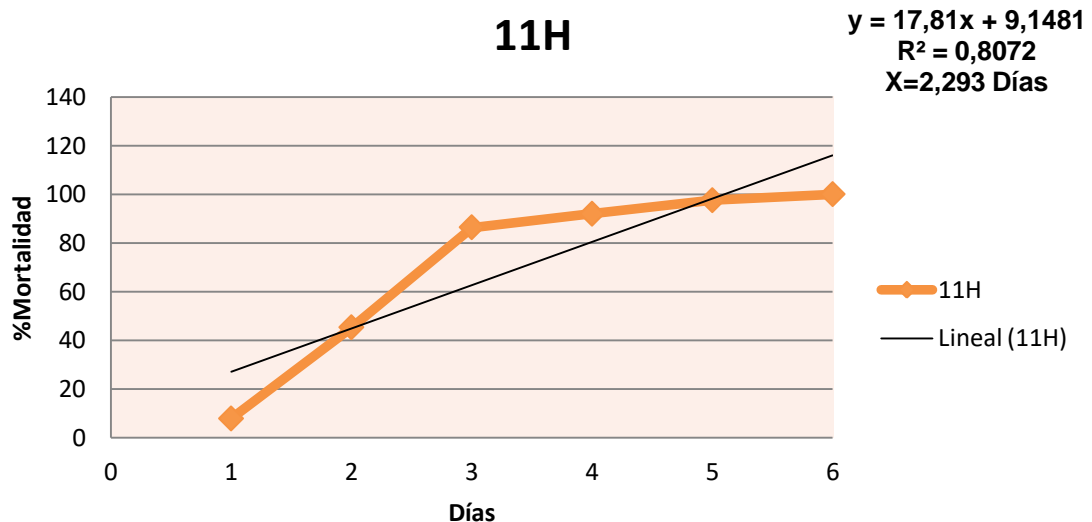


puesto que consigue un incremento de mortalidad con respecto al obtenido en el control en la gráfica 15. En esta, los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 3,295 días.



Gráfica 17. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma saturnisporum*.

En la gráfica 17 vemos una representación gráfica de la mortalidad de *Melanaphis sacchari* producida al aplicarle sobre los insectos una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*. Podemos observar como los áfidos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,784 días. En este caso, los datos obtenidos son significativos puesto que se produce un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en la gráfica 15 (3, 295 días).

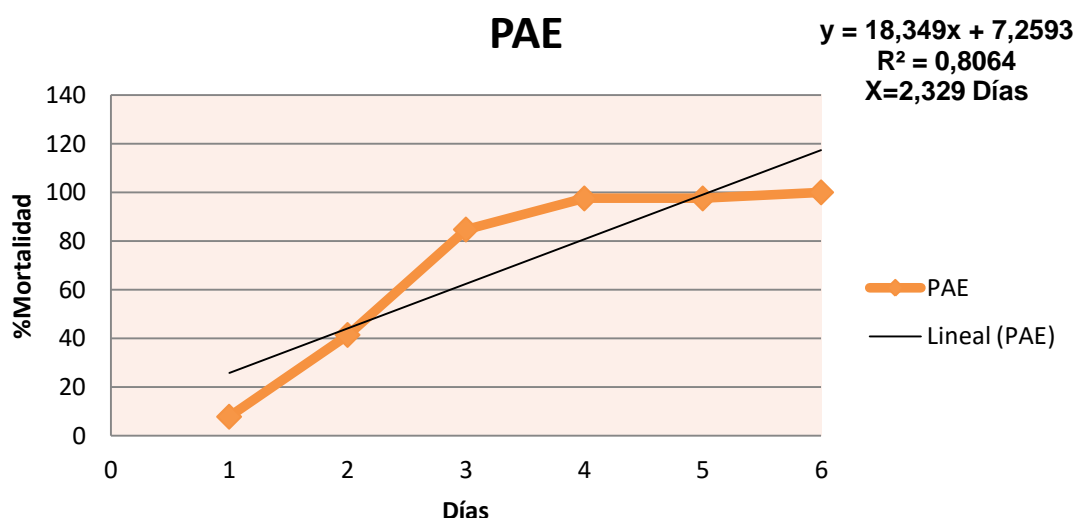


Gráfica 18. Porcentaje de mortalidad medio de *Aspergillus spp.*

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



En el gráfico 18 vemos la representación grafica del porcentaje de mortalidad de *Melanaphis sacchari* a los largo de 6 días, aplicando sobre ellos una disolución que contiene esporas del hongo del género *Aspergillus* spp. Observamos como los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,293 días. Por tanto, se obtienen datos significativos usando dicha especie fúngica como método de control de la plaga, al producirse un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en la gráfica 15 (3,295 días).



Gráfica 19. Porcentaje de mortalidad medio de *Paecilomyces variotii*.

Con la aplicación de una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Paecilomyces variotii* sobre la plaga, podemos observar en la gráfica 19 como los áfidos alcanzan un 50% de mortalidad a los 2,329 días. Al producirse un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en la gráfica 15 (3,295 días), resulta de interés dicha especie fúngica como método de control de la plaga.

Podemos observar los resultados obtenidos con las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad de *Melanaphis sacchari* en la siguiente tabla:

	Material Fúngico	Tiempo (Días).
50% de Mortalidad.	<i>To</i>	<u>3,295</u>
	<i>Trichoderma longibrachium</i>	<u>2,494</u>
	<i>Paecilomices variotii</i>	<u>2,784</u>
	<i>Trichoderma saturnisporum</i>	<u>2,293</u>
	<i>Aspergillus sp.</i>	<u>2,329</u>

Tabla 3. Representación LT50 frente a *Melanaphis sacchari*.

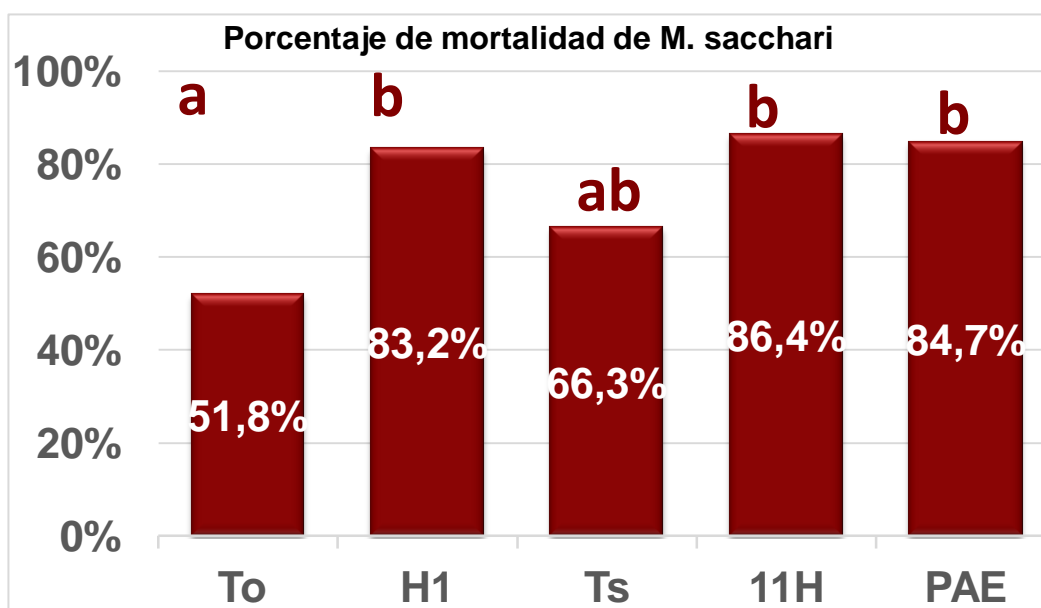
En la tabla 3 podemos ver con claridad el efecto obtenido con las diferentes especies fúngicas en la mortalidad de los áfidos de la especie *Melanaphis sacchari*. Con respecto a la mortalidad producida en el control (3,295 días), todas las



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

especies fúngicas consiguen un incremento de la mortalidad en los insectos. Con la aplicación de los hongos entomopatógenos: *Trichoderma longibrachiatum*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma saturnisporum* y *Aspergillus sp.* Los insectos alcanzan el 50 % de mortalidad a los 2'494, 2'784, 2'293 y 2'329 días respectivamente.

En la siguiente gráfica nos encontramos con una representación del análisis estadístico obtenido como resultado de la aplicación de diferentes especies fúngicas sobre la plaga (*Melanaphis sacchari*).

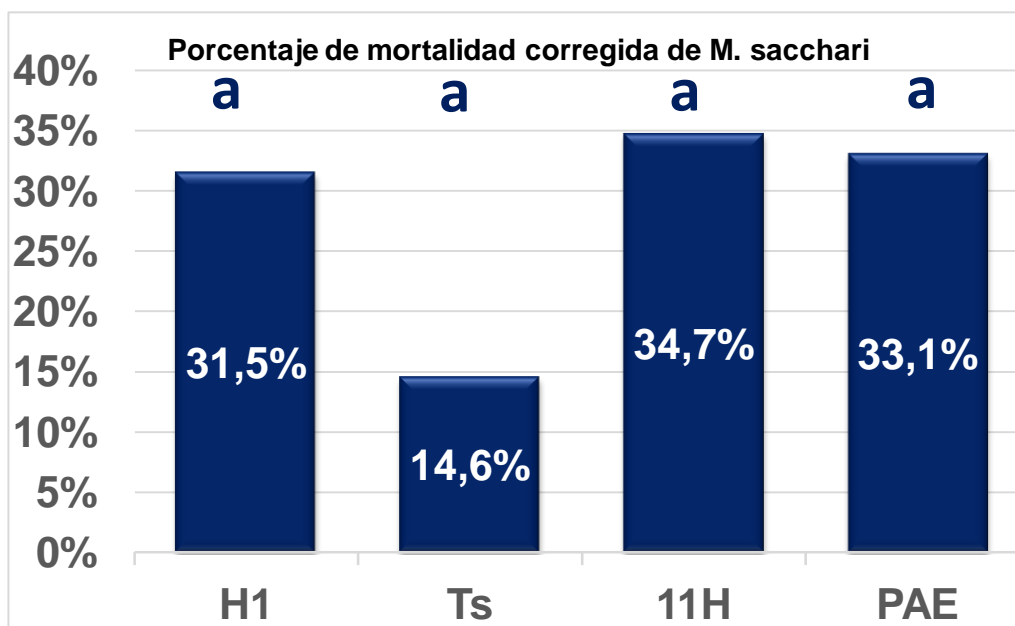


Gráfica 20. Porcentaje de mortalidad de cada tratamiento a los 3 días.

En la gráfica 20 observamos como estadísticamente todas las especies fúngicas obtienen resultados sobre la mortalidad de los insectos muy significativos con respecto a los datos obtenidos en el control. Tanto el hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*, el del género *Aspergillus sp* y el de la especie *Paecilomyces variotii* incrementan significativamente la mortalidad de los insectos con respecto al control. Por otro lado, el hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum* también produce un incremento en la mortalidad, aunque sus resultados son estadísticamente mas similares a los obtenidos en el control.

4.3.2. Porcentaje de mortalidad corregido Abbott.

En la siguiente gráfica se ha realizado una representación del porcentaje de mortalidad medio corregido que presentan los insectos.



Gráfica 21. Porcentaje de mortalidad corregida a los 3 días.

En la gráfica 21 vemos una representación gráfica del porcentaje de mortalidad corregido de los insectos al ser aplicados las diferentes especies fúngicas sobre ellos. Observamos como todas las especies de hongos entomopatógenos usados consiguen incrementar la mortalidad de los áfidos. Además, estadísticamente los resultados entre ellos son similares.

4.4 Gráficas *Rhopalosiphum padi*.

En primer lugar nos encontramos con las diferentes representaciones gráficas del porcentaje de mortalidad medio de *Rhopalosiphum Padi* al aplicar sobre ellos diferentes especies fúngicas. Se representa la mortalidad que se produce en los insectos durante 4 días. Por otro lado, se realiza una gráfica en donde se representa el porcentaje de mortalidad medio de los insectos sin la aplicación de ningún de especie fúngica (Control: To), esta nos servirá como referencia para evaluar la eficiencia que los distintos hongos entomopatógenos producen en la mortalidad de los insectos.

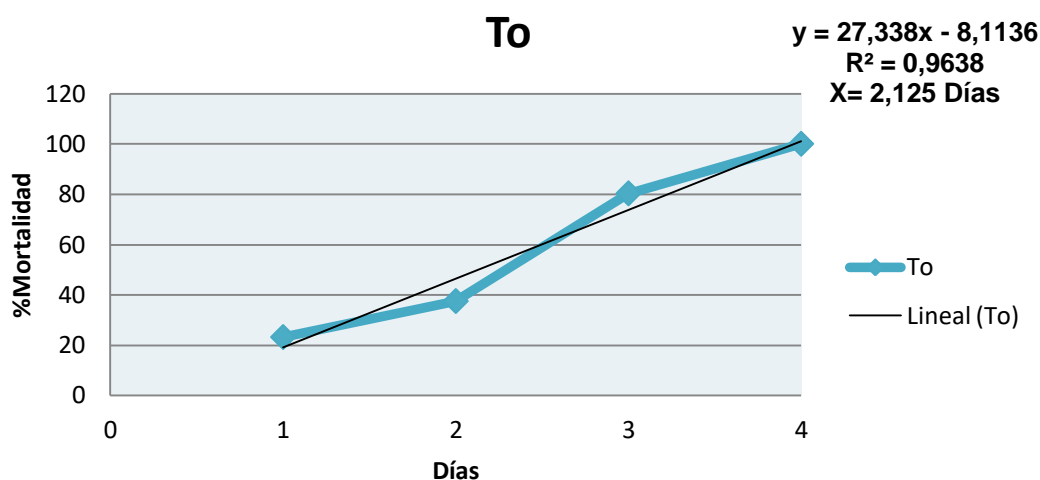
Además, se ha desarrollado el análisis estadístico de los resultados obtenidos, para poder analizar con mayor precisión la eficacia que producen las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad del áfido.



Por último, se ha obtenido un gráfico de mortalidad corregida (Abbott, 1925), en el observaremos con mayor precisión si algún tratamiento fúngico produce una eficiencia significativa sobre la mortalidad del pulgón.

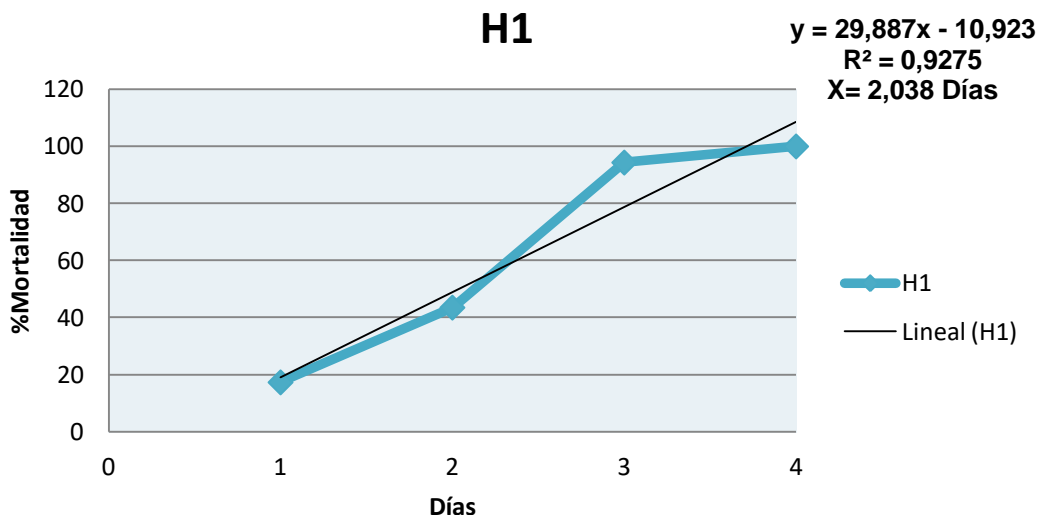
4.4.1 Gráficas porcentaje de mortalidad medio.

En las gráficas 23, 24, 25 y 26, se representa la mortalidad del insecto a lo largo de 6 días ocasionada por diferentes hongos entomopatógenos. En la gráfica 22 se representa la mortalidad de los insectos sin haberle aplicado ningún tipo de especie fúngica, solamente agua destilada (control). Este nos servirá para poder analizar la eficiencia que los diferentes tratamientos fúngicos producen sobre la mortalidad del áfido. Para ello, se obtiene el número de días en el que se produce el 50 % de mortalidad del pulgón (tanto en control como en la aplicación de las distintas especies fúngicas). De esta manera, si alguno de los tratamientos consigue que el insecto alcance el 50 % de mortalidad en un número de días inferior en el que se alcanza aplicando agua (control), producirá una eficacia sobre la mortalidad del insecto.



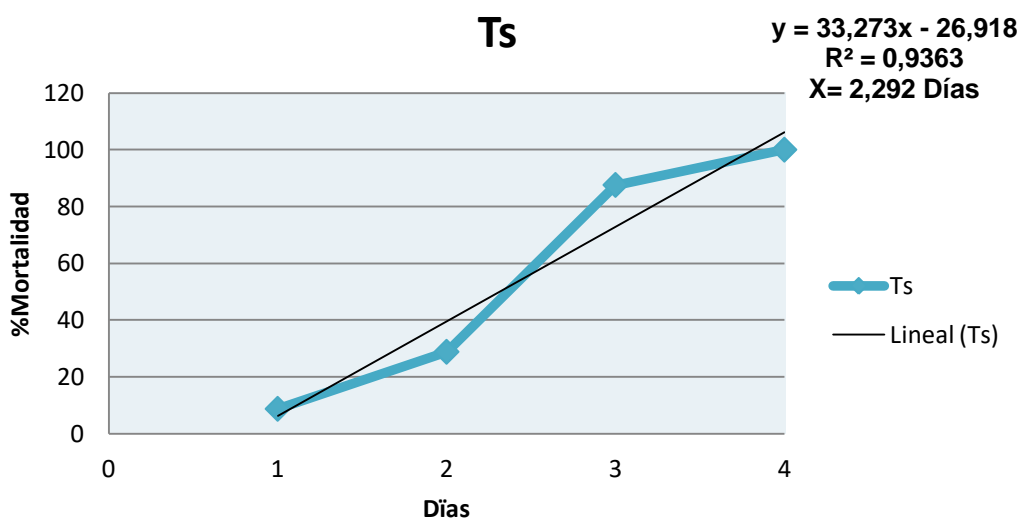
Gráfica 22. Porcentaje de mortalidad medio de To.

En la gráfica 22 se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Melanaphis sacchari* sin la aplicación de ningún tipo de especie fúngica (solamente se pulveriza agua destilada). En este caso, se calcula que los insectos alcanzan un 50 % de mortalidad a los 2,125 días. Este dato, se ha usado para evaluar la eficacia que los diferentes hongos entomopatógenos producen sobre la mortalidad del insecto.



Gráfica 23. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma longibrachiatum*.

En la gráfica 23 se representa el porcentaje de mortalidad medio de *Rhopalosiphum padi* a los largo de 4 días. En este caso se ha pulverizado una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma longibrachiatum*. Se observa como con la aplicación de dicha especie fúngica, el insecto alcanza el 50% de mortalidad a los 2,038 días. Es decir, que los datos obtenidos son significativos puesto que se consigue un incremento de mortalidad con respecto al obtenido en el control en el gráfico 22. En este, los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,125 días.



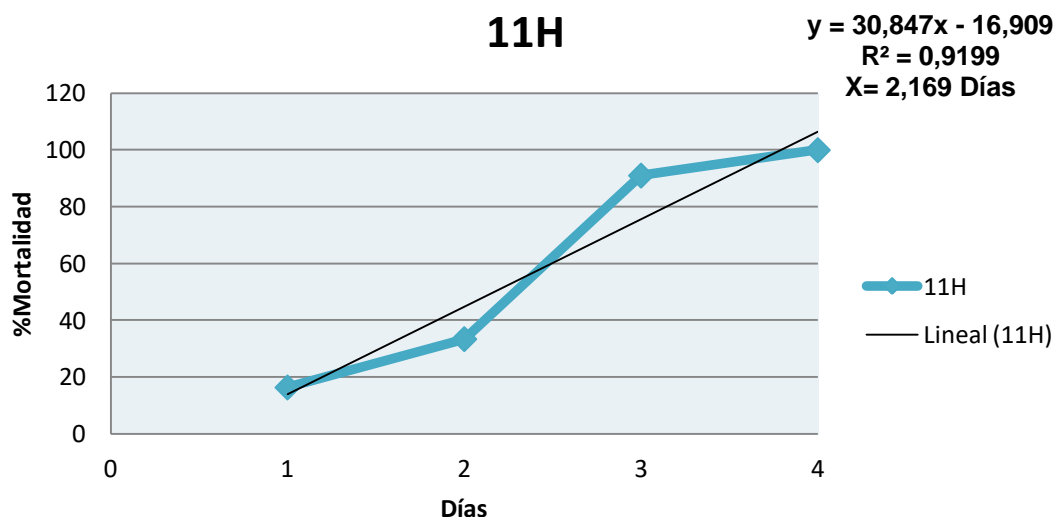
Gráfica 24. Porcentaje de mortalidad medio de *Trichoderma saturnisporum*.

En la gráfica 24 vemos una representación gráfica de la mortalidad de *Rhopalosiphum padi* producida al aplicarle sobre los insectos una disolución que contiene esporas del hongo de la especie *Trichoderma saturnisporum*. Podemos



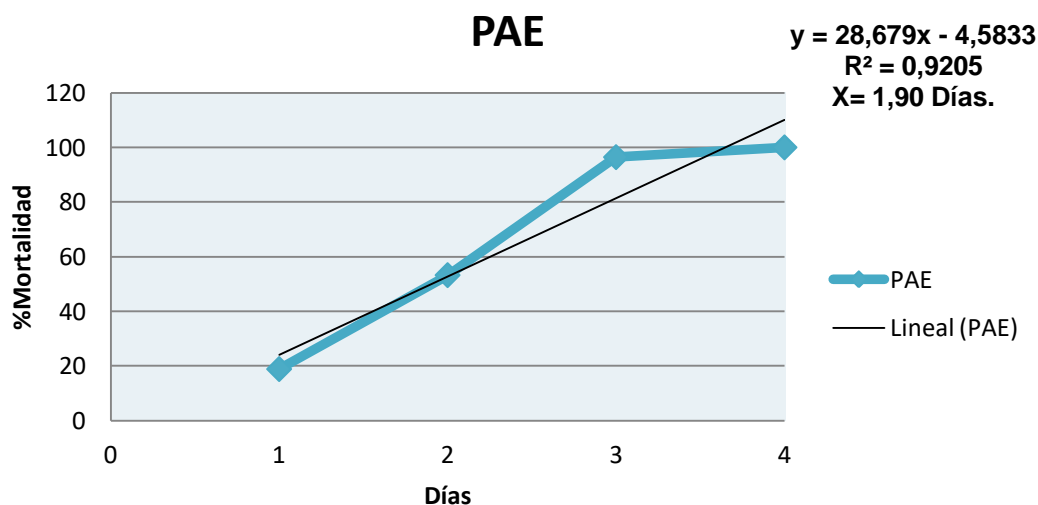
Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

observar como los áfidos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,292 días. En este caso, los datos obtenidos no son significativos puesto que no se produce un incremento de mortalidad con respecto a la obtenida en el control en la gráfica 22 (2,125 días).



Grafica 25. Porcentaje de mortalidad medio de *Aspergillus spp.*

En el gráfico 25 vemos la representación grafica del porcentaje de mortalidad de *Rhopalosiphum padi* a los largo de 4 días, aplicando sobre ellos una disolución que contiene esporas del hongo del género de *Aspergillus spp.* Observamos como los insectos alcanzan el 50% de mortalidad a los 2,169 días. Por tanto, no se obtienen datos significativos usando dicha especie fúngica como método de control de la plaga, al no producirse un incremento de mortalidad con respecto al que se obtiene en el control en la gráfica 22 (2,125 días).



Grafica 26. Porcentaje de mortalidad medio de *Paecilomyces variotii.*

Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.



Con la aplicación de una disolución cuyo contenido presenta esporas del hongo de la especie *Paecilomyces variotii* sobre la plaga, podemos observar en la gráfica 26 como los áfidos alcanzan un 50% de mortalidad a los 1,90 días. Al producirse un incremento de mortalidad con respecto a la que se produce en el control en la gráfica 25 (2,125 días), resulta de interés dicho material fúngico como método de control de la plaga.

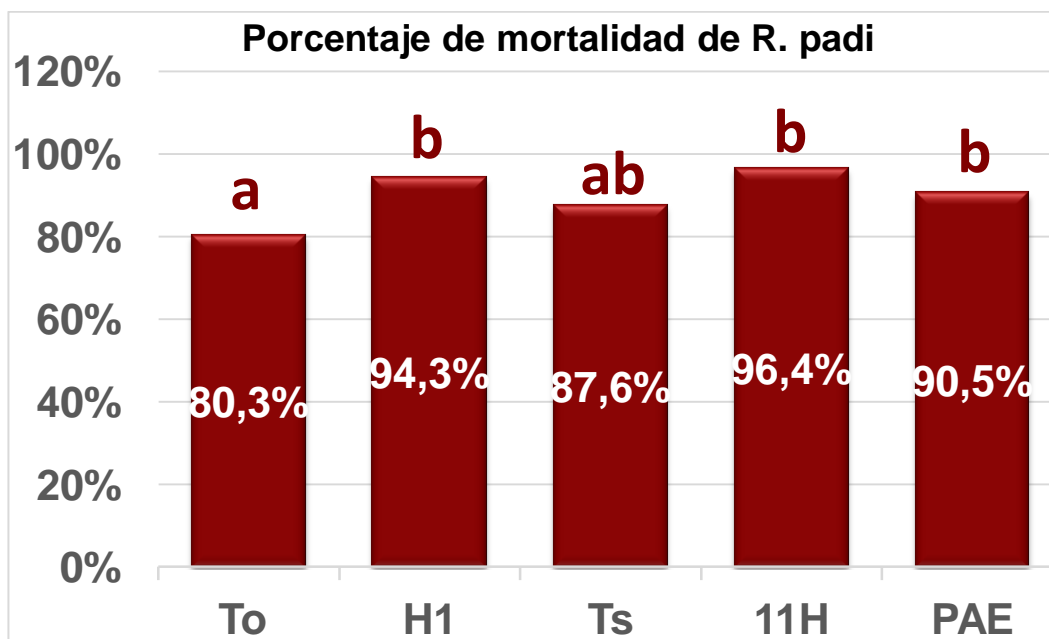
Podemos observar los resultados obtenidos con las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad de *Rhopalosiphum padi* en la siguiente tabla:

50% de Mortalidad.	Material Fúngico	Tiempo (Días).
	To	2,125
	<i>Trichoderma longibrachium</i>	2,038
	<i>Paecilomyces variotii</i>	1,90
	<i>Trichoderma saturnisporum</i>	2,292
	<i>Aspergillus sp.</i>	2,169

Tabla 4. Representación LT50 frente a *Rhopalosiphum padi*.

En la tabla 4 podemos ver con claridad el efecto obtenido con las diferentes especies fúngicas sobre la mortalidad de los áfidos de la especie *Rhopalosiphum padi*. Con respecto a la mortalidad producida en el control (2,125 días), las especies fúngicas que consiguen un incremento de la mortalidad en los insectos son: *Trichoderma longibrachiatum*, *Paecilomyces variotii*. Al ser pulverizadas dichas especies fúngicas sobre los insectos, estos alcanzan el 50 % de mortalidad a los 2,038 y 1,90 días respectivamente.

En la siguiente gráfica nos encontramos con una representación del análisis estadístico obtenido como resultado de la aplicación de las diferentes especies fúngicas sobre la plaga (*Rhopalosiphum padi*).



Gráfica 27. Porcentaje de mortalidad de cada tratamiento a los 3 días.

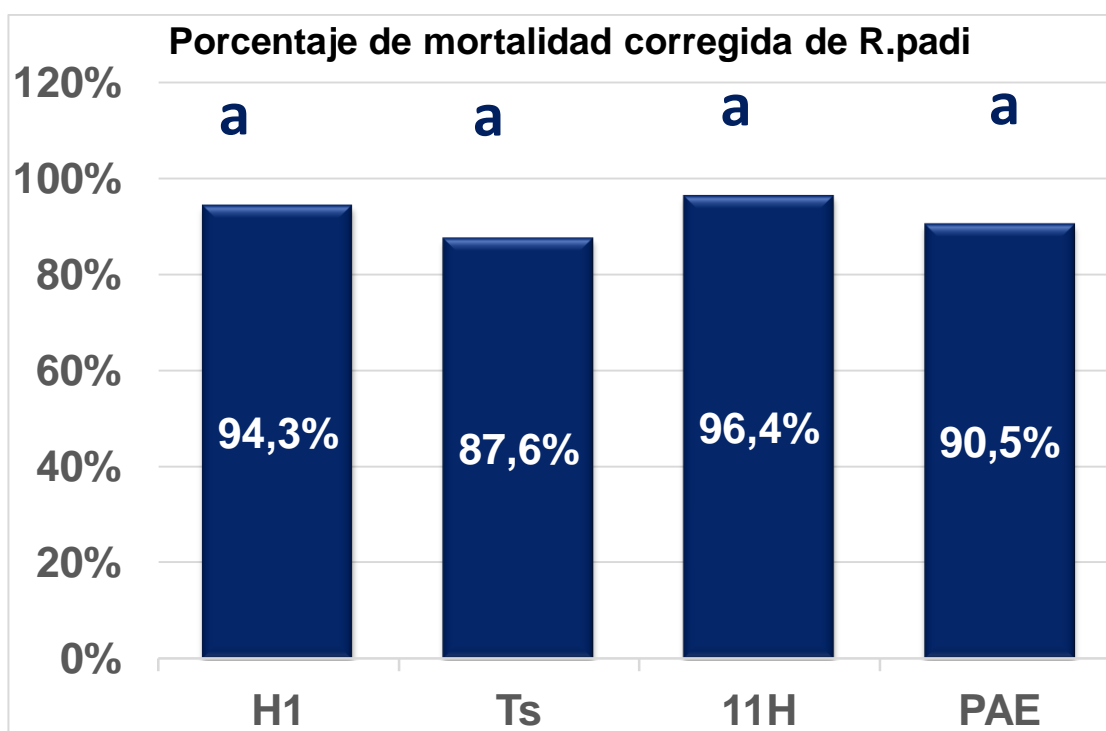


Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

En la gráfica 27 observamos como estadísticamente las especies fúngicas que obtienen resultados significativos sobre la mortalidad de los insectos son: *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus spp* y *Paecilomyces variotii*. Estos hongos entomopatógenos producen un incremento significativo estadísticamente sobre la mortalidad de los áfidos con respecto a la mortalidad producida en el control. Por otro lado, el hongo perteneciente a la especie *Trichoderma satunisporum* también incrementa la mortalidad, pero sus resultados son estadísticamente más similares a los obtenidos en el control.

4.4.2. Porcentaje de mortalidad corregido por Abbott.

En la siguiente gráfica se ha realizado una representación del porcentaje de mortalidad medio corregido que presentan los insectos.



Gráfica 28. Porcentaje de mortalidad corregido a los 3 días.

En la gráfica 28 vemos una representación gráfica del porcentaje de mortalidad corregido de los insectos al ser aplicados las diferentes especies fúngicas sobre ellos. Observamos como todas las especies de hongos entomopatógenos usados consiguen incrementar la mortalidad de los áfidos. Además, estadísticamente los resultados entre ellos son similares.



4.5 Discusión de datos frente a los obtenidos en ensayos de otros autores.

Las especies de los hongos del género *Aspergillus* muestran una amplia diversidad de estilos de vida. Incluso en entornos clínicos, industriales y agrícolas; algunos de ellos pueden ser patógenos oportunistas de una amplia gama de organismos, incluidos las plagas agrícolas. En un ensayo de Ehrlich en 2014, se llegó a la conclusión de que el pulgón adulto de *Myzus persicae* fue susceptible al hongo entomopatógeno *A.clavatus*. La mortalidad adulta aumentó con el intervalo de tiempo y concentración. Pasando de tener un 50% de mortalidad en cuatro días con una concentración de 10^3 esporas por mililitro a un 90% de mortalidad en el mismo periodo de tiempo (4 días) con 10^7 esporas por mililitro. Además, el potencial reproductivo también disminuyó con el aumento de la concentración de dichos hongos. Nosotros obtuvimos un 39,7 % al tratar el hongo del género *Aspergillus spp* a una concentración de 15 millones de esporas por mililitro a los 3 días de la aplicación. Probablemente se produce una menor mortalidad por realizar el análisis con un día menos y aplicando una mayor concentración.

Se realizó un ensayo por Vu *et al* (2007), mediante el uso del hongo de la especie *Paecilomyces farinosus*, obteniendo un 50% de mortalidad en la población del áfido de la especie *Myzus persicae* a los 3,75 días y a los 2,16 días para *Aphis gossypii*. En nuestro ensayo, hemos obtenido alrededor de un 68,9% de mortalidad contra el áfido de la especie *Aphis gossypii* y un 30,5% contra el áfido de la especie *Myzus persicae* a los 3 días de la aplicación. Por lo que, la especie fúngica *Paecilomyces variotii* (familia con la que nosotros hemos tratado), produce un incremento mayor de la mortalidad de los áfidos, especialmente los pertenecientes a la especie *Aphis gossypii*.

Se descubrió la acción del género *Trichoderma* como micoparásito natural. Se empezó a usar en experimentos de control biológico a partir de 1970. Su acción parasítica se debe a que produce una serie de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y permiten que las hifas de *Trichoderma* penetren, produciendo una pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante. Se comprobó como la especie fúngica *Trichoderma asperellum* a una concentración de $3,5 \times 10^{11}$ conidias por mililitro reducían la incidencia en un 70% de *R. solani* en plantas de arroz (Saranya *et al.*, 2010). En nuestro caso, hemos obtenido datos interesantes con la especie fúngica *Trichoderma longibrachiatum* contra el grupo de áfidos de la especie *Melanaphis sacchari* y los de la especie *Rhopalosiphum padi*. Se ha obtenido como resultado un 83,2% y 94,3% de mortalidad pero a una concentración inferior (15 millones de esporas por mililitro). Por lo que, puede que *Trichoderma* sea más eficaz contra artrópodos plaga como son los áfidos.



4.6 Discusión parasitismo.

Se comprobó que el hongo del género *Aspergillus spp*, parasitó internamente al pulgón de la especie *Aphis gossypii*. Además, parásito externamente (cutícula) e internamente al pulgón de la especie *Melanaphis sacchari*. En la especie *Myzus persicae* comprobamos como ha parasitado internamente.

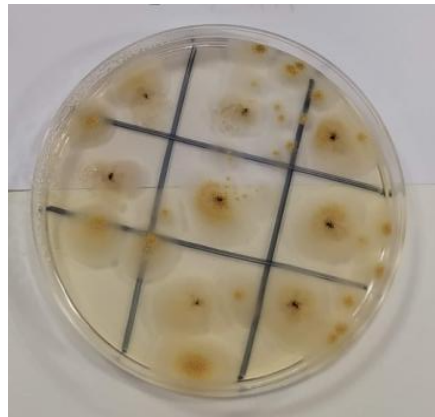


Imagen 39. *Aphis gossypii* parasitado externamente por *Aspergillus sp.*

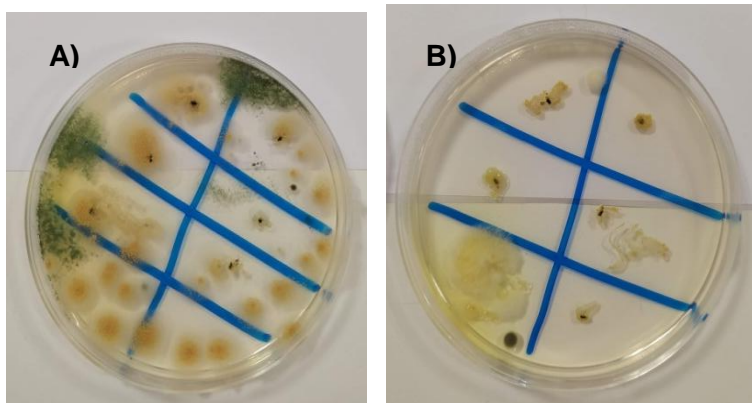


Imagen 40. *Melanaphis sacchari* parasitado externamente (A) e internamente (B) por *Aspergillus sp.*

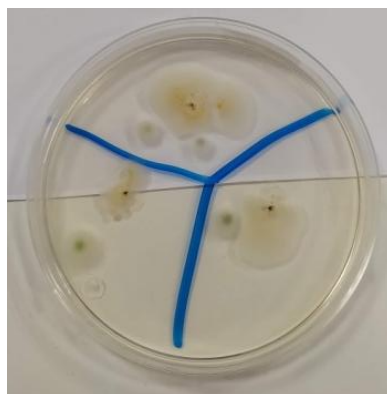


Imagen 41. *Myzus persicae* parasitado internamente por *Aspergillus sp.*



Análisis del efecto de hongos entomopatógenos como control biológico sobre la plaga de pulgón.

Por otro lado podemos comprobar cómo la especie fúngica *Trichoderma longibrachiatum* parasitó internamente y externamente a los pulgones de las especies *Melanaphis sacchari* y *Aphis gossypii*. También se pudo comprobar cómo el áfido de la especie *Myzus persicae* fue parasitado internamente.

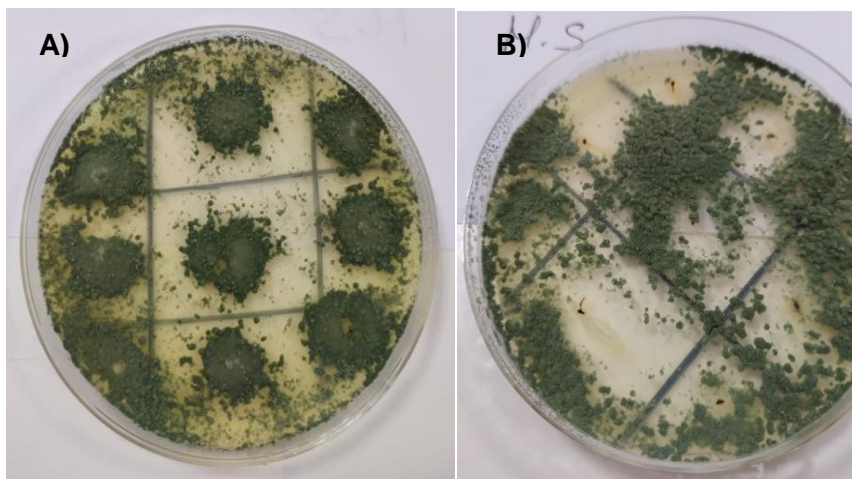


Imagen 42. *Melanaphis sacchari* parasitado externamente (A) e internamente (B) por *Trichoderma longibractium*.

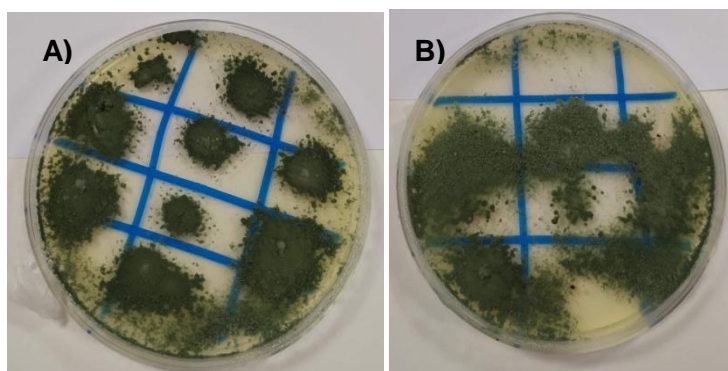


Imagen 43. *Aphis gossypii* parasitado externamente (A) e internamente (B) por *Trichoderma longibractium*.

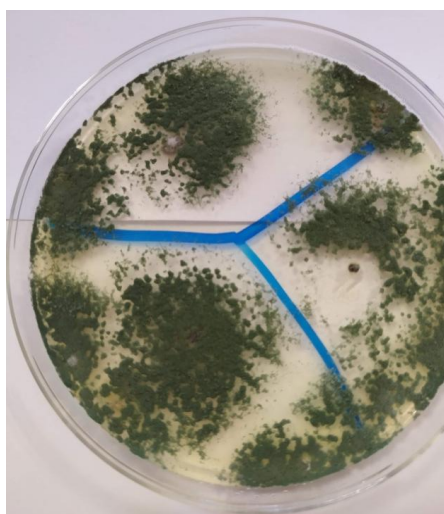


Imagen 44. *Myzus persicae* parasitado internamente por *Trichoderma longibrachiatum*.



5. Conclusiones

Tras la realización del presente trabajo fin de grado se han llegado a las siguientes conclusiones:

1. La metodología empleada no ha permitido obtener resultados claros debido a la alta mortalidad producida en los tratamientos testigos.
2. Para la especie *Melanaphis sacchari* se obtienen datos estadísticamente interesantes con: *Trichoderma longibractium*, *Aspergillus spp* y *Paecilomyces variotii*. Estas especies consiguen incrementar la mortalidad de los insectos con respecto al testigo en 83,2%, 86,4% y 84,7% respectivamente.
3. Para la especie *Rhopalosiphum padi* obtenemos también datos estadísticamente destacables con las siguientes especies fúngicas: *Trichoderma longibractium*, *Aspergillus sp* y *Paecilomyces variotii*. Al aplicar dichos hongos, se produce un incremento de la mortalidad con respecto al testigo de: 94,3%, 96,4% y 90,5% respectivamente.

Recomendación:

Dado que se trata de un ensayo preliminar, habría que diseñar una metodología con técnicas más precisas para ponerlo a punto.

6. Referencias Bibliográficas.

- BUSTILLO, A. & SÁNCHEZ, G. 1977. Los áfidos en Colombia, plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica, ICA.
- BLACKMAN, R.L. & EASTOP, V.F. 2000. Aphids on de world's crops. An identification and information guide. Chichester, UK.
- SNODGRASS, R.E. 1935. Principles of insect morphology. New York
- HOLMAN, J. 1974. Los áfidos de Cuba. Instituto Cubano del Libro. La Habana
- DAVID, G. R.D., QUIROZ G.J.A., YEPES R. F. & SMITH P. A.H. 2009. Nuevo registro de *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) en guayabo *Psidium guajava* (Myrtaceae) en Antioquia, Colombia. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, 62(1): 4999-5002.
- García-Mari. & Ferragut, F. 2002. Las plagas agrícolas. 3ª edición. Phytoma-España, 400 p.
- Lomeli-Flores, J. R., Arredondo, H.C & Rodriguez, L.A. 2008. Pulgón del melón y algodón, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), pp. 137-153. En:



Casos de Control Biológico en México. Arredondo-Bernal, H. C. y L. A. Rodríguezdel-Bosque (eds.). Ed. Mundiprensa, MéxicoEspaña. 423 p

- IVERSEN, T. & HARDING, S. 2007. Life table parameters affecting the population development of the woolly beech aphid *Phyllaphis fagi*. *Entomol. Exp. Appl.*, 123(2): 109-117.
- Nieto Nafría, J. M., & Mier, M. P Durante. 1998. Hemiptera, Aphididae I. En: *Fauna Ibérica*, vol. 11. Ramos, M.A. et al. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. 424 p.
- Delfino, MA., Monelos, H.L., Buffa, LM (2007). Áfidos (Hemiptera, Aphididae) de interés económico en la provincia de Santa Cruz. *RIA*, 36(1): 147-154
- Nieto Nafría, J.M & Mier Durante, M.P. (1985). *Tratado de Entomología*. Barcelona, Omega. 599 pp.
- Ortego, J. (1997). Pulgones de la Patagonia Argentina con la descripción de *Aphis intrusa* sp.n. (Homoptera: Aphididae). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 102(1): 59-80.
- Recalde, J. (2008) *Guía de reconocimiento de animales perjudiciales en cultivos frutales*. Inta EEA Esquel. 60 pp.
- Koul, O & Dhaliwal, G. S. 2003. *Predators and parasitoids*. Vol. 3. CRC Press. 208 p.
- Alomar Et Al. (2006). *Selection Of Insectary Plants For Ecological Infrastructure In Mediterranean Vegetable*.
- Vorburger, C., Lancaster, M., Sunnucks,P. 2003. Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two 'superclones' in Victoria Australia. *Molecular Ecology* 12:3493-3504.
- Peña-Martínez, R. & Acoltzi-Conde, M.C 2008. Registro de clones androcíclicos de *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) (Hemiptera: Aphididae) y sus épocas de vuelo en el Valle del Yaqui, Sonora, México. *Entomología Mexicana*. Vol. 7, pp. 974-977. ISBN 968839-357-6.
- NIETO NAFRÍA, J., DELFINO, M. A., MIER DURANTE, M. P. 1994. La afidofauna de la Argentina, su conocimiento en 1992. *Universidad de León, España*, 235 p.
- Quijano-Carranza, J. A., Pecina-Quintero, V. Bujanos -Muñiz, R., Marín -Jarillo, A. & Yáñez-López, R. 2017. *Guía 2017 para el manejo del pulgón amarillo del sorgo*. Comité técnico de pulgón amarillo del sorgo en Guanajuato. Folleto para productores No. 1. ISBN: 978-607-96123-4-4. Fundación Guanajuato Produce A.C. 36pp.
- Peña-Martínez, R., Muñoz-Viveros, A. L., Bujanos-Muñiz, R., Luévano-Borroel, J., Tamayo-Mejía, F & Cortez-Mondaca, E. 2016. *Formas Sexuales del Complejo Pulgón amarillo del Sorgo (Hemiptera: Aphididae) en México*. *Southwest Entomol*. Vol. 41 (1):127-131.



- St-Germain, G & Summerbell, R., Germain, G & Summerbell, R., Germain, G & Summerbell, R. (1996) "Identifying Filamentous Fungi - A Clinical Laboratory Handbook". 1º ed. Star Publishing Company, Belmont, California.
- Whittaker, R.H. 1969. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, 163: 150-160.
- Deacon, J. 2006. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing, Malden, MA, EU.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. & Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. & Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. CABI Publishing. Ingraterra.
- PUCHETA DIAZ, M., FLORES MACIAS, A., RODRIGUEZ NAVARRO, S., DE LA TORRE, M. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *INCI*, v. 31, n. 12, p. 856-860, 2006.
- ASAFF, T. A., REYES, V. Y., LOPEZ, L. V. E., DE LA TORRE, M. M. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva*, v. 21, p. 291-295, 2002.
- KHACHATOURIANS, G. G. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. In: ARORA, D. K.; AJELLO, L.; MUKERJI, K. G. (Eds.). *Handbook of applied mycology*. Nueva York: Dakker, 1991. p. 613-661. vol. II: humans, animals and insects.
- St-Germain, G & Summerbell, R., Germain, G & Summerbell, R., Germain, G & Summerbell, R. (1996) "Identifying Filamentous Fungi - A Clinical Laboratory Handbook". 1º ed. Star Publishing Company, Belmont, California.
- Arenas, R. (2011) *MICOLOGÍA MÉDICA ILUSTRADA*, Capitulo 23 Aspergilosis, Cuarta Edición McGrawHill: México, DF. pag 269 – 279. 425p.
- Pontón, J; Moragues, MD., Gené, J., Guarro, J., Quindós, G. Hongos y actinomicetos alergénicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, 2002.
- Ehrlich, KC (2014) Non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* to prevent aflatoxin contamination in crops: advantages and limitations. *Front Microbiol* 5:50. doi:10.3389/fmicb.2014.00050
- Vu, V., Hong, I. & Kim, K. (2007). Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 104:498-505.
- Saranya, S., Ushakumari, R., Sosamma, J & Babu, M. (2010). Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *Journal of Biopesticides*.3:138-142.

El presente trabajo evalúa la eficacia que presentan una serie de hongos entomopatógenos en la mortalidad de una población de insectos pertenecientes a la familia *Aphididae*. La principal finalidad de dicho trabajo es contribuir al control biológico, con el objetivo de encontrar organismos que consigan reducir y eliminar una de las plagas de insectos que afecta en gran medida a los cultivos de nuestra zona.

Para ello, se han llevado a cabo una serie de objetivos: captura de las diferentes especies de insectos utilizados, aislar las diferentes especies fúngicas que se quieren analizar, observar y evaluar la acción parasítica de los microorganismos sobre los insectos.

The present work evaluates the efficacy of a series of entomopathogenic fungi in the mortality of a population of insects belonging to the *Aphididae* family. The main purpose of this work is to contribute to biological control in order to find organisms that manage to reduce and eliminate one of the insect pests that greatly affects crops in our area.

To do this, a series of objectives have been carried out: capture of the different species of insects used, isolate the different fungal species to be analyzed, observe and evaluate the parasitic action of microorganisms on insects.

