Eficacia de hongos entomopatógenos y extractos vegetales para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) plaga de aguacate (*Persea americana*) cv Hass a nivel de laboratorio.

Sergio Andres Sanabria Pardo

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias

Medellín, Colombia

2025

Eficacia de hongos entomopatógenos y extractos vegetales para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) plaga de aguacate (*Persea americana*) cv Hass a nivel de laboratorio.

Sergio Andres Sanabria Pardo

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Entomología

Directora:

Adelaida María Gaviria Rivera, PhD.

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias

Medellín, Colombia

2025

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente: He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Sergio Andres Sanabria Pardo

Ingeniero Agrónomo

Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín

17/04/2025

A mis padres por siempre estar alentándome y apoyándome en cada meta propuesta, a mi familia y amigos por su entrega y ayuda en cada paso que doy. Somos el reflejo de lo que inspiramos en los demás.

Agradecimientos

Es imposible en este corto escrito agradecer a todas las personas que de alguna manera aportaron su grano de arena para poder llegar a este punto. Principalmente agradecer a mis padres Jairo y Olga por su incansable apoyo, por la gran motivación, por el amor incondicional y por formar a la persona que a día de hoy soy. A mi hermano Camilo que siempre aportó con su chispa y alegría en momentos difíciles. La presencia de todos en este camino ha sido fundamental para alcanzar cada logro. Agradecimiento especial a Anny Posada, quien fue mi motivación, soporte y un gran apoyo emocional y profesional, por su amor, enorme confianza en mí y por su incondicionalidad.

A mi directora de tesis Adelaida Gaviria, una persona increíble que me acompañó con sus enseñanzas y por su invaluable orientación, su paciencia y entrega incondicional. Una persona con una gran vocación de enseñanza y por ser un pilar importante en esta pasión por la entomología. Un agradecimiento a mis profesores Gonzalo Abril, Francisco Yépez y Magnolia Cano quienes con sus enseñanzas me guiaron por el camino de los insectos.

A Sáfer Agrobiológicos por permitirme utilizar sus instalaciones para desarrollar las diferentes investigaciones y aportar profesionalmente al agro colombiano, al Dr. William Cardona por la confianza en mí y a mis compañeros del Laboratorio quienes aportaron intelectual y operativamente en este trabajo, especialmente a Jenni García y Arjadis Rodríguez quienes fueron mi equipo de trabajo en todo momento.

Resumen

Eficacia de hongos entomopatógenos y de extractos vegetales para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) plaga de Aguacate (*Persea americana*) cv Hass a nivel de laboratorio.

El cultivo de aguacate cv. Hass reviste gran importancia para Latinoamérica. Colombia es el tercer productor mundial de aguacate de tipo exportación después de México, actualmente exporta cerca de 115.000 toneladas y tiene una demanda interna de cerca de 300 toneladas al año. El sistema productivo genera cerca de 16.200 empleos directos y más de 48.000 indirectos. Las enfermedades y plagas son la mayor limitante del cultivo, dentro de ellas, los trips que son insectos de riesgo cuarentenario en los países destino de las exportaciones y por ello revisten gran importancia. El método más común para el control de *Frankliniella occidentalis* es la aplicación de insecticidas de síntesis química. No obstante, en cultivos de exportación, las restricciones de trazabilidad y el cambio de paradigma hacia producciones limpias y amigables con el medio ambiente han llevado a los países a cancelar registros de productos, como los neonicotinoides. Bajo este contexto, el uso de microorganismos entomopatógenos y de extractos vegetales para su manejo, son una alternativa promisoria.

En esta investigación se evaluó la eficacia de 8 productos comerciales que contenían cepas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii y Metarhizium anisopliae* contra ninfas y adultos de *F. occidentalis* a nivel de laboratorio. Inicialmente, los productos se evaluaron a una concentración alta de 1x 10^9 esporas/ml y los de mayor eficiencia se utilizaron en un segundo bioensayo para calcular su DL50 y TL50. Los resultados evidenciaron

que los productos Sáfermix que contiene los hongos *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii, y Metarhizium anisopliae* y Bassar que contiene *Beauveria bassiana*, obtuvieron la menor concentración letal media y el tiempo letal medio, alcanzando una mortalidad hasta del 95% en 21 días después de su aplicación. La DL50 de los productos Sáfermix, Bassar y Tropimezcla se encontró en el rango de 1,47 $x10^4$ y 2,5 $x10^5$ esporas/ml y su TL50 entre 12 y 14 días, sin diferencias significativas entre los estados de desarrollo insecto, sugiriendo que los tres productos pueden ser una gran alternativa para el manejo integrado de *F. occidentalis* en estado de ninfa y de adulto.

Adicionalmente, en esta tesis se evaluó la actividad repelente y antialimentaria de Alisín, Bioneem, Capsialil, Rutinal y Sáfer SL, productos comerciales a base de extractos vegetales, con formulaciones a base de ají-ajo, neem, ruda y asteráceas. Se encontró que los productos con el extracto de ají-ajo, Alisín y Capsialil, tuvieron el mayor porcentaje de repelencia, con un índice de repelencia alta. No obstante, los demás extractos evaluados tuvieron diferencia significativa con respecto al control, exhibiendo un grado de repelencia suficiente para considerarlos como alternativas complementarias en el manejo integrado de este insecto. El índice anti alimentario indicó que el extracto Sáfer SL (a base de asteráceas) fue el mejor, con un índice anti alimentario del 76%. Los resultados de esta investigación perfilan a los productos entomopatógenos Sáfermix y Bassar, y a los extractos Alisín, Capsialil y Sáfer SL como excelentes alternativas para el manejo integrado de *F. occidentalis*.

Palabras Clave: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* DL50, LT50, extractos vegetales, actividad antialimentaria, índice de Repelencia.

Abstract

Efficacy of entomopathogenic fungi and plant extracts for the control of *Frankliniella occidentalis* (Pergande), a pest of avocado (*Persea americana*) cv Hass, in laboratory conditions.

The crops of Hass avocados are of great importance to Latin America. Colombia is the world's second-largest producer of export-grade avocados after Mexico, currently exporting around 115,000 tons and has a domestic demand of around 300 tons per year. The production system generates around 16,200 direct jobs and more than 48,000 indirect jobs. Diseases and pests are the greatest constraints on the crop. Thrips, among them, are quarantine-risk insects in export destination countries and are therefore of great importance. The most common method for controlling *Frankliniella occidentalis* is the application of synthetic chemical insecticides. However, in export crops, traceability restrictions and the paradigm shift toward clean and environmentally friendly production have led countries to cancel registrations and prohibit the use of products such as neonicotinoids. In this context, the use of entomopathogenic microorganisms and plant extracts for their management are a promising alternative.

In this study, eight commercial products containing strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* were evaluated for their efficacy against nymphs and adults of *F. occidentalis* under laboratory conditions. Initially, the products were evaluated at a high concentration of 1 x 10^9 spores/ml, and the most efficient products underwent a second bioassay to calculate their LD50 and LT50. The results showed that the products Sáfermix WP, containing the fungi *B. bassiana*, *L. lecanii*, and *M. anisopliae*, and Bassar WP, formulated with *B. bassiana*, had the lowest mean lethal concentration and mean lethal time, achieving up to 95% mortality within 21 days after application. The LD50 for the products Sáfermix WP, Bassar WP and Tropimezcla WP was found in the range from 1.47 x10^4 to 2.5 x10^5 spores/ml, with their TL50 values between 12 and 14 days. No significant differences were observed between developmental stages of the insect, suggesting that the three products could be a promising alternative for the integrated management of *F. occidentalis* in both nymph and adult stages.

Additionally, this research evaluated the repellent and antifeedant activity of, Alisín, Bioneem, Capsialil, Rutinal and Sáfer SL, commercial products made from plant extracts with formulations based on red chilli pepper and garlic, neem, rue and daisy-like plants. It was found that the products containing chilli-garlic extract, Alisin and Capsialil, exhibited the highest percentage of repellency, reaching a high repellency index. However, the other extracts evaluated showed a significant difference compared to the control, exhibiting a sufficient degree of repellency to consider them as viable alternatives and complementary strategies in the integrated management of this insect.

The antifeedant index indicated that the Sáfer SL extract (asteraceae-based) was the best evaluated extract, with an anti-feedant index of 76%. The results profile the entomopathogenic products Saphermix WP and Bassar WP, and the extracts Alisin EC, Capsialil SL and Sapher SL, as excellent alternatives for the integrated management of *F. occidentalis*.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* LD50, LT50, plant extracts, antifeedant activity, repellency index.

Contenido

Pág.

Resumen ..... **IX**

Lista de figuras ..... **XV**

Lista de tablas ..... **XVIII**

Introducción **1**

1. Marco teórico **7**
1.1 *Persea americana cv Hass* 7
1.2 *Frankliniella occidentalis (*Pergande). 9
1.3 Control de *F. occidentalis* 14
1.4 Hongos entomopatógenos 15
1.5 Extractos vegetales con actividad antialimentaria 19

2. Metodología **21**
2.1 Localización 21
2.2 Cría de Insectos 21
2.3 Bioensayos 25
2.3.1 Selección de las cepas de hongos más eficaces para el control de *F. occidentalis*. 25
2.3.2 Determinación de la concentración y el tiempo letal medio (DL50 y TL50) de las cepas más eficaces contra *F. occidentalis.* 28
2.3.3 Evaluación de la actividad antialimentaria de extractos vegetales contra *F. occidentalis* en condiciones de preferencia. 29
2.3.4 Evaluación de la actividad antialimentaria de extractos vegetales contra *F. occidentalis* en condiciones de no preferencia. 31

3. Resultados y discusión **35**
3.1 Cepas de hongos de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* más eficaces contra *F. occidentalis.* 35
3.2 DL50 de cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a ninfas y adultos de *F. occidentalis*. 41
3.3 TL50 de cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a ninfas y adultos de *F. occidentalis*. 52
3.4 Actividad antialimentaria de extractos vegetales en condiciones de preferencia: evaluación de repelencia 60
3.5 Actividad antialimentaria de extractos vegetales en condiciones de no preferencia: Evaluación de la inhibición alimentaria. 65

4. Conclusiones 73

5. Bibliografía 74

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Ciclo de vida *F.occidentalis*. 11
Figura 2. Caracteres diagnósticos de *F.occidentalis* (Campelo, Lorenzana, Fernandez, & Gómez, 2006) 12
Figura 3. Daños causados por trips en aguacate hass. a) fruto con deformaciones, b) botones florales manchados, c) hojas cloróticas..... 14
Figura 4. Fotografías satelitales de los cultivos de aguacate, Bola Roja y Cascajo Abajo muestreados para la obtención del pie de cría de *F. occidentalis*. 22
Figura 5. Fotografías de la cría de *F.occidentalis* en frutos de pepino baby. a) Pepinos baby ubicados en cajas plásticas. b) Ninfas de *F. occidentalis* alimentándose en pepino baby. c) Cajas plásticas con tapa hermética y malla antitrips para favorecer el intercambio gaseoso de los trips. 23
Figura 6. Establecimiento de la cría de *F. occidentalis* en flores de crisantemo. a) Esquejes en enraizamiento, b) siembra escalonada de esquejes en camas, c) Plantas con botones florales, d) Flores cosechadas y ubicadas en cajas plásticas. 25
Figura 7. Fotografías del proceso de aislamiento de las cepas de hongos entomopatogenos. a) Preparación de las diferentes soluciones a partir de los productos comerciales. b) Extracción con sacabocados para purificación de las cepas. c) montaje de purificación en cámara de flujo laminar. d) Zoom de las cepas. 27
Figura 8. Prueba de la actividad antialimentaria de preferencia de productos comerciales con extractos vegetales contra *F. occidentalis*. 30
Figura 9. Porcentaje de mortalidad acumulada por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml contra ninfas II de *F. occidentalis*... 36
Figura 10. Porcentaje de mortalidad acumulada por cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml contra adultos de *F. occidentalis.* 37
Figura 11.Patogenicidad de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* en ninfas y adultos de *F. occidentalis*. a) Ninfa II de *F. occidentalis* (control negativo); b-f) ninfa II parasitada por *B. bassiana 2*, *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 1 y *L. lecanii* 4, respectivamente. g) Adulto de *F. occidentalis* (control negativo); h-l) adulto parasitado por *B. bassiana* 2, *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 1 y *L. lecanii* 4, respectivamente. 38
Figura 12. Box plot de la mortalidad acumulada de las cepas de *B. bassiana* (bb), *M. anisopliae* (ma), *L. lecanii* (ll) y del control negativo (ct) a ninfas (izquierda) y adultos (derecha) de *F.occidentalis*. 40

Figura 13. Curvas de mortalidad de las ninfas de *F.occidentalis* y DL50 de las cepas de los hongos. a) *M. anisopliae* 1, b) *B. bassiana* 2, c) *B. bassiana* 4, d) *L. lecanii* 4, y e) *M. anisopliae* 3.....46
Figura 14.Curvas de mortalidad de adultos de *F.occidentalis* y DL50 de las cepas de hongos. a) *M. anisopliae* 1, b) *B. bassiana* 2, c) *B. bassiana* 4, d) *L. lecanii* 4 y e) *M. anisopliae* 3.....48
Figura 15. Curvas de mortalidad de ninfas de *F.occidentalis* y TL50 de las cepas de los hongos. a) *B.bassiana* 2, b) *L. lecanii* 4, c) *M. anisopliae* 1, d) *M. anisopliae* 3 y e) *B. bassiana* 4. 53
Figura 16. Curvas de mortalidad de adultos de *F.occidentalis* y TL50 de las cepas de los hongos. a) *B.bassiana* 2, b) *M. anisopliae* 1 c), *L. lecanii* 4, d) *M. anisopliae* 3 y e) *B. bassiana* 4. 56
Figura 17. Porcentaje de atracción de los extractos vegetales Alisín, Capsialil, Rutinal, Bioneem y Sáfer SL a ninfas de *F. occidentalis.* 61
Figura 18. Porcentaje de atracción de los extractos vegetales Alisín, Capsialil, Rutinal, Bioneem y Sáfer SL a adultos de *F. occidentalis*. 62
Figura 19. Fotografías del área foliar de las hojas de frijol con daño por la alimentación por ninfas de *F. occidentalis*. sin aplicación (izquierda) con aplicación del extracto vegetal (derecha): a) Sáfer SL (extracto de asteráceas), b) Alisín (extracto de ají-ajo), c) Rutinal (extracto de ruda), d) Bioneem (extracto de neem) y e) Capsialil (extracto de ají-ajo).....67
Figura 20. Índice de inhibición alimentario a ninfas de *F. occidentalis*, de los productos a base de extractos vegetales: Sáfer SL, Alisín, Rutinal, Bioneem y Capsialil. 69

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1. Productos comerciales y cepas de los hongos entomopatógenos aisladas.....26
Tabla 2. Productos comerciales con extractos vegetales evaluados contra *F. occidentalis* en pruebas de preferencia. 29
Tabla 3. Categorización de los índices de repelencia, según Mazzoneto y Vendramin (2003). 31
Tabla 4. Mortalidad ocasionada por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml a ninfas II y adultos de *F. occidentalis*. 35
Tabla 5. Porcentaje de mortalidad acumulada y comparación estadística de la actividad biológica de las cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* en ninfas y adultos de *F. occidentalis*. 39
Tabla 6. Porcentaje de mortalidad acumulada de ninfas de *F. occidentalis* por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a seis concentraciones diferentes, para determinar DL50 Y TL50.....41
Tabla 7 . Porcentaje de mortalidad acumulada de adultos de *F. occidentalis* por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a seis concentraciones diferentes, para determinar DL50 Y TL50.....43
Tabla 8. Concentración letal media (DL50) de las cepas de hongos contra ninfas de *F.occidentalis*. 46
Tabla 9. Concentración letal media (DL50) de las cepas de hongos contra adultos de *F.occidentalis*. 49
Tabla 10. Tiempo letal medio (TL50) de las cepas de hongos contra ninfas de *F.occidentalis*. 54
Tabla 11. Tiempo letal medio (TL50) de las cepas de los hongos contra adultos de *F.occidentalis*.....56
Tabla 12. Índice de Repelencia de extractos vegetales a ninfas de *F. occidentalis.* 61
Tabla 13. Índice de Repelencia de extractos vegetales a adultos de *F. occidentalis* 63
Tabla 14. Porcentaje de daño causado por ninfas de *F.occidentalis* en hojas de frijol, sin o con tratamiento de extractos vegetales. 68
Tabla 15. Índice de inhibición alimentario (IIA) a ninfas de *F. occidentalis* por productos comerciales a base de extractos vegetales. 69

Introducción

El cultivo del aguacate cv Hass en Latinoamérica ha incrementado significativamente el área sembrada y la producción con fines de exportación, principalmente a Estados Unidos y Europa, y en menor parte para suplir la demanda interna, en países como México, Perú, Chile y Colombia(Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, 2021). En la última década la producción de esta fruta a nivel mundial se ha duplicado, llegando a 8.06 millones de toneladas en el 2020(FAO, 2023). Colombia es el tercer país a nivel mundial en producción de fruta de aguacate cv Hass, después de México y República Dominicana(Analdex, 2023). Para el año 2022 el Instituto Colombiano Agropecuario reportó cerca de 80 mil hectáreas sembradas, alrededor del 50% corresponde a la variedad Hass y tan solo unas 20 mil hectáreas corresponden a predios registrados como exportadores(Cenes et al., 2023). Antioquia se encamina a ser el principal departamento productor de Aguacate hass. Municipios como Urrao y el Oriente Antioqueño tienen ventajas frente a otras zonas del país como la cercanía a aeropuertos y puertos marítimos que favorecen la exportación, principalmente a Estados Unidos y Europa (Países Bajos y Reino Unido)(Bernal-Estrada, 2017) .

El cultivo de aguacate tiene varias plagas de importancia económica, como *Stenoma catenifer*, *Heillipus* sp, *Copturus* sp, y los trips causando pérdidas entre el 35 y el 60% en la productividad de los cultivos(Fernando et al., 2020a). Los Thysanoptera provocan daños al alimentarse de tejidos tiernos como brotes foliares, florales, hojas jóvenes y frutos en desarrollo(Castañeda & Johansen, 2011). El género *Frankliniella* contiene alrededor de 230 especies descritas, la mayoría en el Neotrópico. *F. occidentalis*, es la especie más común, es polífaga, se alimenta de hojas, flores y frutos, además tiene la capacidad de trasmitir virus que ocasionan pérdidas considerables en los rendimientos, rentabilidad, calidad y conduce a la aplicación de medidas restrictivas en el mercado de exportación de una gran cantidad de cultivos, entre los que se destaca el aguacate y las flores(Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, 2021). A nivel mundial se han registrado 144 especies de trips en el cultivo de aguacate, 34 pertenecen al género *Frankliniella*

(Calixto, 2007). Otros géneros y especies son: *Heliothrips haemorrohidalis, Selenothrips rubrocinctus*, *Scirtothrips persea, S. aceri,* y *Liothrips perseae. Frankliniella* y *Scirtothrips* son los géneros que causan mayor daño al cultivo. *F. occidentalis* es la de mayor importancia, sus poblaciones se incrementan en periodos de floración y amarre de frutos(Maldonado Zamora et al., 2016). *Scirtothrips* está tomando relevancia ya que también se considera como plaga cuarentenaria, que causa más del 25% de pérdidas de rendimientos por disminución en la calidad de los frutos, sin considerar las perdidas por interceptaciones en puertos destino en países como Australia y Japón(Rivera-Martínez et al., 2017). En ataques de complejos de trips en los que destacan mayormente *Scirtothrips* sp. y *Frankliniella* sp., se han llegado a reportar reducciones del rendimiento entre un 50 y 80% en el cultivo debido al daño directo que ocasionan las malformaciones en frutos, caídas de frutos en llenado y reducción de la capacidad fotosintética de las hojas(Subhagan & Dhalin, 2020) .

Frankliniella occidentalis provoca daños directos al alimentarse del tejido vegetal y deformar frutos e incluso causa aborto prematuro de botones florales y frutos en llenado. Estos impactos negativos afectan la rentabilidad de los cultivos y la disponibilidad de un producto de calidad en el mercado(Palacios Jaramillo et al., 1994) (Alarcón et al., 2024).

El control de *F. occidentalis* se enfoca en aplicaciones de insecticidas de síntesis química, en muchas ocasiones de forma indiscriminada, por fechas calendario, que han inducido a la resistencia a moléculas como acrinatrín, formetanato y metiocarb(Espinosa et al., 2002) . Sumado a esto, muchos insecticidas tienen restricciones por daños a la salud humana o en el caso de neonicotinoides por efectos negativos a insectos benéficos como las abejas(Espinosa et al., 2005). Investigaciones enfocadas en el uso de imidacloprid mostraron una mortalidad del 80% en las primeras semanas de aplicaciones, pero pasadas 7 u 8, la mortalidad se redujo drásticamente debido a la resistencia de los individuos al producto químico(Zahn & Morse, 2013). En el Estado de Coatepec (México), los insecticidas paratión metílico y aceite parafínico tuvieron un control de *F. occidentalis* del 50 y 47% respectivamente, evidenciando poca eficacia, además de las consecuencias negativas para el medio ambiente(Castañeda Gonzalez E.L. et al., 2003) . En china se demostró la resistencia *de F. occidentalis* a siete de ocho insecticidas de síntesis química evaluados; los insectos fueron expuestos a spinosad, spinetoram, abamectina, benzoato-emamectina, clorfenapir, tiametoxam, β-cipermetrina y broflanilida. Los resultados de la

investigación evidenciaron una resistencia de todas las moléculas a excepción de broflanilida demostrando la perdida de eficacia del control químico sobre *F.occidentalis(Yuan et al., 2023).*

Ante este panorama la integración de estrategias biológicas surge como una alternativa clave. *Orius* sp. es una chinche que depreda diferentes insectos y es ampliamente usada en el control de insectos plaga, incluso se ha utilizado en rotación con neonicotinoides; en ensayos en campo se comprobó un control del 88% de *F. occidentalis con la mezcla de Acetamiprid y Orius* sp, el uso solamente de la molécula química solo controló el 24,7%, comprobando el uso de depredadores y el uso de tácticas de control biológico para un control eficiente de *F.occidentalis*(Q. cai Lin et al., 2021). Es necesario desarrollar programas de manejo integrado de trips en aguacate, que se fundamenten en el control biológico. En Costa Rica, se iniciaron capacitaciones y publicaciones para el manejo de trips en el cultivo de aguacate, enfocándose en alternar moléculas químicas con aplicaciones de hongos entomopatógenos, como *B. bassiana* y *M. anisopliae*, teniendo en cuenta la fenología de los cultivos y la distribución espacio-temporal de *F. occidentalis(Solis, 2016)*. Los hongos entomopatógenos no generan problemas graves como la resistencia del insecto, por lo cual pueden ser importantes para el manejo integrado de *F. occidentalis*.

Adicionalmente, los hongos entomopatógenos pueden presentar sinergia con depredadores y enemigos naturales de las plagas. En una investigación en la que se evaluaron 28 cepas de *B. bassiana* con el ácaro depredador *Neoseiulus barkeri* para el control de *F. occidentalis* se encontró que algunas cepas causaban hasta el 96% de mortalidad en 4 días, sin afectar al ácaro depredador(Wu et al., 2017). De igual manera *B.bassiana* y el acaro depredador *Amblyseius swirskii* produjeron hasta un 73% de control de adultos de *F.occidentalis* y un 85% de ninfas, sin embargo *B. bassiana* solamente llevo a un control 65% de adultos y del 72% en ninfas indicando que el ácaro depredador contribuyo muy poco a la reducción de las poblaciones(Castillo & Rodríguez, 2021).

El uso de hongos entomopatógenos para el manejo de plagas es una táctica de bajo impacto ambiental. *B. bassiana* y *M. anisopliae* han mostrado eficacia contra trips y otros insectos plaga(Urrea et al., 2020). *L. lecanii* ha sido menos estudiado para el control de *F. occidentalis*, sin embargo, algunos reportes indican que es un buen biocontrolador de esta

especie. En el Oriente Antioqueño indujo una mortalidad de hasta el 74,28 % a una concentración alta, de $1x10^9$ esporas/ml, en cultivos de Crisantemo(Rodas & Calle, 2016) . La cepa CQMa421de *M. anisopliae* ocasiono una mortalidad del 100% de *F.occidentalis*, después de siete días de aplicación, a una concentración de $1x10^8$ conidias/ml en condiciones de laboratorio y del 80 % en condiciones de campo(Li et al., 2021) .

Por otro lado, los extractos vegetales con propiedades insecticidas y/o disuasoras de la alimentación han sido poco estudiados para el control de *F. occidentalis*. Muchas sustancias de origen vegetal previenen o reducen la alimentación en insectos como resultado de efectos pre y/o posdigestivos, son disuasorios de la alimentación o son tóxicos(Gío-Trujillo et al., 2023). Estos compuestos químicos con actividad antialimentaria son metabolitos secundarios producidos por las plantas para su defensa(Klocke & Kubo, 1991). Los primeros estadios biológicos de los insectos son más sensibles. La respuesta del insecto al mismo compuesto químico puede diferir dependiendo del estímulo o sustrato, de manera que un compuesto puede ser inactivo si se mezcla en una dieta artificial o efectivo como antialimentario si se aplica sobre tejido vegetal o viceversa(SCHOONHOVEN, 1982). La eficacia de estos compuestos para el manejo de insectos depende de factores como su velocidad de acción, rango de especificidad y costo de apliación(Caballero & Garcia, 2004).

Los metabolitos secundarios se evalúan a través de bioensayos de corta duración con discos foliares como sustrato(Mei-Ying et al., 1993). En ensayos de preferencia el insecto tiene la posibilidad de elegir entre discos foliares tratados y no tratados con los compuestos y en ensayos de no preferencia, no tiene posibilidad de elegir. Los ensayos de preferencia permiten determinar la capacidad del insecto para discriminar sustancias, aunque la situación de no preferencia es la más común en un sistema agrícola(SCHOONHOVEN, 1982). La comparación de índices nutricionales durante periodos de tratamiento y postratamiento permite determinar si la actividad antialimentaria ocasionada por un metabolito es debida a su efecto disuasorio o si es consecuencia de un modo de acción tóxico(Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2013)

En este proyecto de investigación se evaluó la eficacia de hongos entomopatógenos y extractos vegetales contra *F. occidentalis* bajo condiciones de laboratorio, con el fin de aportar al manejo integrado de la plaga mediante alternativas con baja probabilidad de generar resistencia en la plaga, amigable con el ambiente y libres de trazas que puedan afectar la exportación de aguacate, teniendo en cuenta las restricciones del uso de insecticidas en las cadenas de exportación a los Estados Unidos y a la Unión Europea.

Hipótesis de investigación

Las cepas de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii* de algunos productos biológicos comerciales disponibles en Colombia ejercen una mortalidad significativa contra *F. occidentalis* y algunos extractos vegetales comerciales tienen efectos repelentes o inhibitorios en la alimentación de *F. occidentalis.*

Objetivos

Objetivo general.

Evaluar la eficacia de cepas de *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae* aisladas a partir de formulaciones comerciales y el efecto repelente e inhibitorio de la alimentación de extractos vegetales contra *Frankliniella occidentalis* bajo condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos.

• Evaluar la mortalidad causada por cepas de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii* de diferentes formulaciones comerciales contra *Frankliniella occidentalis*.

• Determinar la concentración y el tiempo letal medio (DL50 y TL50, respectivamente) de las cepas de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*, seleccionadas por su alta mortalidad contra *F. occidentalis*.

• Determinar el efecto repelente e inhibitorio de la alimentación de extractos vegetales contra *F. occidentalis*.

1. Marco teórico

1.1 *Persea americana cv Hass*

El centro de origen del cultivo de aguacate (*Persea americana* Laurácea) es Centro América, específicamente México, hace aproximadamente diez mil años(López et al., 1999). Después de la colonización, el fruto se dispersó por Centro y Sur América y posteriormente los españoles lo distribuyeron fuera del continente(Limón et al., 2010). En toda esta fase de distribución del aguacate, se conocen tres razas ecológicas: mexicana, guatemalteca y antillana. La mexicana es de frutos pequeños y alto contenido de aceite, la guatemalteca de frutos grandes y menor contenido de aceite y, la antillana tiene el menor contenido de aceite y se adapta a zonas cálidas y húmedas(Bernal et al., 2020b). El aguacate hass, denominado en honor a Rudolf Hass, que encontró que esta variedad tiene una productividad alta, calidad en la pulpa y madurez tardía, se considera una variedad 90% guatemalteca y 10% mexicana(Bernal et al., 2020a).

El aguacate posee una raíz principal corta, con raíces superficiales de alrededor de 1,5 metros; tronco leñoso, suberoso, mayormente liso, poco agrietado; las hojas son simples, alternas, elípticas pedunculadas; las flores hermafroditas, simétricas y agrupadas en racimos, presentan dicogamia, los órganos masculinos se abren a tiempos diferentes que los femeninos para evitar la autopolinización(Limón et al., 2010). El fruto es una drupa carnosa en forma de pera, en su interior es de color verde a crema, de cascara coriácea, textura rugosa, superficie granular y con una tonalidad verde al estar inmaduro y se oscurece a morada al final de su punto de madurez. Es un cultivo de alta demanda de agua, requiere entre 1200 a 1800 mm anuales; en suelos arcillosos se pueden afectar sus raíces. Además, exige una gran cantidad de labores culturales como podas de formación, plateo, fertilización y control de malezas(Bartoli, 2008)

Con el uso de injertos y el mejoramiento genético se ha logrado reducir la etapa vegetativa e iniciar la reproductiva y la producción, de 15 años a tan solo de 2 a 5 años(Araújo et al.,

2018). Las condiciones ambientales son un factor determinante de la productividad de los cultivos. En Antioquia se tienen dos etapas de producción, la cosecha principal se presenta en los meses de octubre a marzo con picos en diciembre, y la cosecha traviesa desde mayo a agosto. Estos ciclos suelen estar bien definidos para zonas como el Eje Cafetero, Antioquia y Tolima, y pueden ser diferentes para otras zonas del país(Aza , 2023). México y Colombia tienen las áreas de cultivo más grandes del mundo, con unos rendimientos cercanos a las 11 toneladas de fruta por hectárea. Sin embargo, Indonesia o incluso Estados Unidos llegan a las 15 toneladas por hectárea(Aza, 2023), por lo cual se han realizado investigaciones para determinar la fenología del cultivo en diferentes regiones, así como los requerimientos nutricionales con el fin de mejorar la productividad en estos países(Bernal et al., 2020b). En departamentos como Antioquia y el Valle del Cauca se evidencian la existencia de zonas con condiciones ambientales poco favorables para el cultivo de aguacate Hass con suelos demasiado arcillosos y temperaturas muy altas, lo que limita su productividad(Bernal et al., 2020a). Estos trabajos son importantes para desarrollar un paquete tecnológico adaptado a cada zona geográfica, que permita superar limitantes y fortalecer la productividad(MIn Agricultura, 2013).

El aguacate está adaptado a diversas zonas ecológicas tropicales, por lo que se cultiva en más de 60 países en todo el mundo(Araújo et al., 2018). México es el mayor productor y exportador de aguacate y se ha mantenido así al menos durante la última década, seguido por República dominicana, Colombia y Perú. Colombia produjo cerca de 260 mil toneladas de fruta en 2014(Bernal-Estrada, 2017) y su producción ha seguido creciendo, hasta triplicar la producción con más de 661 mil toneladas en 2021(Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, 2021), gracias a las excelentes oportunidades económicas en los mercados externos y a una importante demanda interna insatisfecha(FAO, 2003). Del año 2023 al 2024 la exportación se incrementó en un 20% en volumen y un 54,3% en ventas, alcanzando unos 304 millones de USD, lo que destaca la importancia y el potencial que tiene el país en la producción de Aguacate(Analdex, 2024). La variedad Hass es la de mayor área cultivada en el país llegando a un 40%(ICA,2024), en zonas de clima frio por encima de los 2000 msnm; principalmente para la exportación a los Estados Unidos, Europa y China(Bernal-Estrada, 2017). La producción de aguacate genera más de 16.200 empleos directos en las zonas productoras y más de 48 mil indirectos(Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, 2021). A pesar del aumento de la superficie

sembrada, el sistema de producción tiene limitaciones tecnológicas y de siembra en áreas no apropiadas, que han llevado a que algunas inversiones terminen en fracaso o baja sostenibilidad(Ramírez-Gil et al., 2017). Aumentar las áreas de cultivo puede acarrear la aparición o cambios en las densidades de población de insectos plaga o de fitopatógenos limitantes. Dentro de las plagas y enfermedades del aguacate se encuentran *Stenoma catenifer, Heilipus lauri, Monalonion velezangeli, Phytophthora* sp*. y Fusarium* sp(Subhagan & Dhalin, 2020)*.* Se han registrado alrededor de 29 especies de trips, de las cuales las pertenecientes al género *Scirtothrips* y algunas de *Frankliniella*, como *F. occidentalis* y *F. parvula* son plagas cuarentenarias y restringidas en muchos países por el riesgo de ingreso(Zamora et al., 2016). Las interceptaciones generan pérdidas económicas y pueden llegar a cerrar mercados entre naciones(Urrea et al., 2020).

Actualmente el Instituto Colombiano Agropecuario ICA y el mercado internacional exige que la fruta exportada cumpla con los Límites máximos de Residuos (LMR) de insecticidas, estos varían según el destino, Colombia utiliza los LMR establecidos por el Codex Alimentarius a menudo 0,01mk/kg de insecticida; para el mercado Estadounidense se encuentran restringidos clorpirifos en el 2021 y DDT principalmente(ICA,2020). En el uso de insecticidas nacionales el ICA restringió el uso de plaguicidas como dieldrin,clordano, heptacloro, lindano todos organoclorados y otros pesticidas como dicofol y pentaclorofenol. Sumado a esto el ICA por medio de sus resoluciones 1507 de 2016 y 2191 de 2024 regulan las plagas cuarentenarias y de control oficial del país, entre ellas se destacan stenoma catenifer, algunas especies del género *Heillipus* sp. y la regulación de la vigilancia fitosanitaria de trips (*Frankliniella occidentalis*) en el sector de flores de exportación principalmente en Colombia (ICA,2024).Las certificaciones como Rainforest y BPA buscan soportar el uso condicionado de agroquímicos y adoptar alternativas de manejo y control de plagas y enfermedades más inocuas, sin residualidad y con protocolos estrictos de prácticas agrícolas y de manufactura.(USDA, 2016)

1.2 ***Frankliniella occidentalis (*Pergande)*.**

Frankliniella occidentalis pertenece al orden Thysanoptera, un grupo relativamente antiguo de insectos con alas provistas de flecos. Dentro del orden se distinguen dos subórdenes: Terebrantia y Tubulifera, este último posee el abdomen en forma de tubo y las hembras carecen de ovipositor mientas que los Terebrantia tienen el último segmento abdominal de forma cónica y las hembras poseen un ovipositor bien desarrollado, como en el caso de

Frankliniella sp. Este ovipositor posee estructuras que permiten rasgar y ovipositar dentro de los tejidos vegetales(Borror et al., 1989; Rotenberg et al., 2020). Se conocen 8 familias de trips y alrededor de 7700 especies(Kumar & Omkar, 2021), cerca de 30 son de importancia económica, en su mayoría por ser plagas agrícolas y un umbral de daño de cerca de 86 trips/ha (Alvarez & Rengifo, 2020). El género más diverso es *Frankliniella* y la especie polífaga y cosmopolita *F. occidentalis* es la más reportada a nivel mundial porque afecta más de 200 de cultivos.(Rodríguez-Arrieta et al., 2023)

El ciclo de vida de *F. occidentalis* comprende huevo, ninfa (con dos instares), prepupa, pupa y adulto. La duración del ciclo y la fecundidad depende en gran medida de la temperatura, a mayor temperatura el ciclo de vida es más corto(Palacios Jaramillo et al., 1994). En la Figura 1 se observan los diferentes estados biológicos y su duración a una temperatura media de 23°C determinado en este estudio. Los huevos son hialinos y reniformes, con una longitud de 200 µm(Cardenas & Corredor, 1989). La hembra pone los huevos dentro del tejido vegetal para conferir protección frente a los posibles depredadores o parasitoides(Pardey, 2009) (Ixchop & Sosof, 2024). Las ninfas neonatas son blanquecinas, miden alrededor de 400 µm y las de segundo instar son amarillas, en este estado se percibe un dimorfismo sexual. Las hembras en segundo instar (ninfa II) poseen una longitud de 1,33 mm mientras que los machos ninfa II son de 1,02 mm aproximadamente; en ambas se distinguen los esbozos alares y los caracteres sexuales, hembras de mayor tamaño y con el extremo del abdomen apuntado, mientras que los machos son más pequeños y el abdomen es redondeado(Zahn & Morse, 2013).

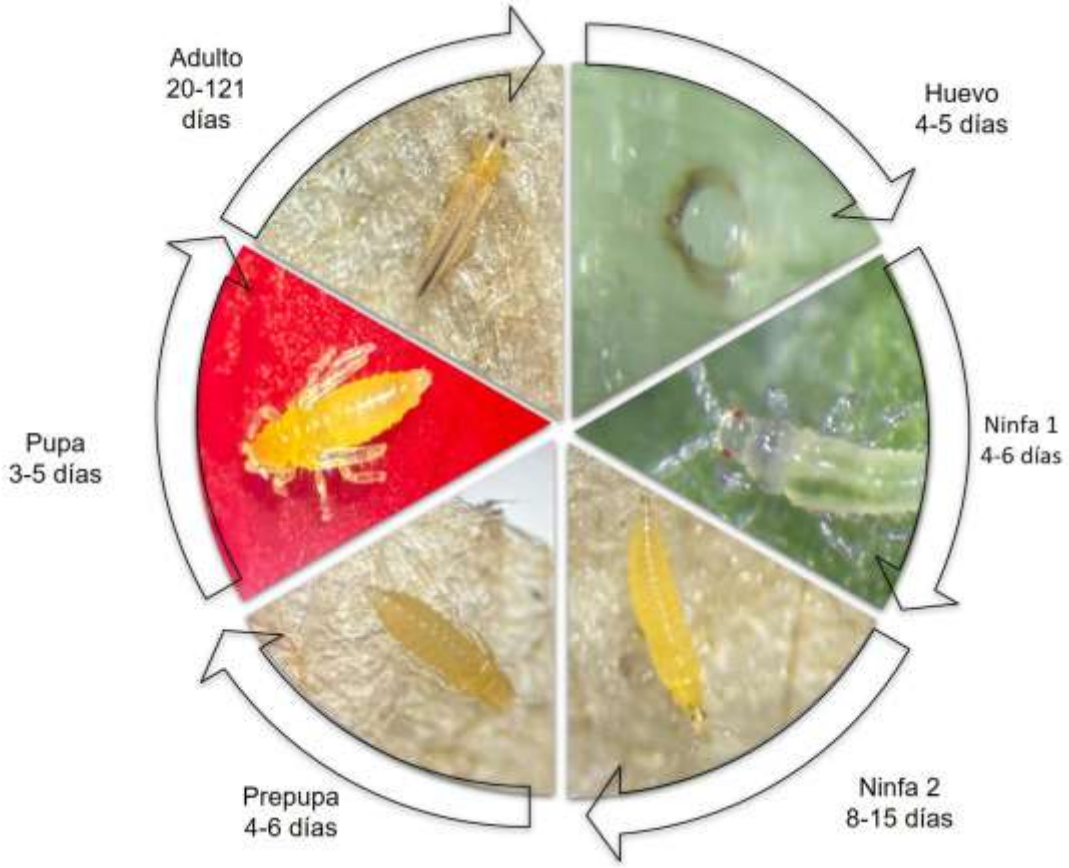


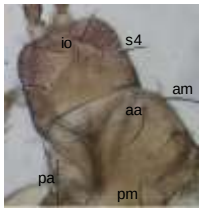
Figura 1. Ciclo de vida de *F.occidentalis*.

La ninfa II no presenta ocelos ni ojos compuestos, las antenas tienen cinco segmentos con pocas setas, su cono bucal es más esclerotizado que otras partes de la cabeza y son más voraces que la ninfa I. Poseen la mayor actividad alimenticia, mientras que en los estados de prepupa y pupa no se alimentan(Van Driesche, 2023). Las prepupas, son poco móviles, empiezan a mostrar los esbozos alares, generalmente se desarrollan en el suelo después de caer de la parte aérea de la planta(Rodas & Calle, 2016) . La pupa tampoco se alimenta y tiene baja movilidad, presenta ocelos, pero no se observan omatidios. Las antenas se dirigen hacia atrás sobre la cabeza cubiertas por una membrana blanca(Nondillo et al., 2009) .

Los adultos emergen en el suelo y se dirigen hacia la parte aérea de la planta, pueden tener una longevidad de hasta 121 días a una temperatura media de 21°C (Cardenas & Corredor, 1989); Las hembras miden entre 1,2 y 1,6 mm, por lo general presentan cabeza y protórax de colores amarillentos mientras que su abdomen presenta una coloración parda o café sobre la parte posterior, los machos miden de 0,8 a 0,9 mm y presentan la misma

coloración que las hembras(Nondillo et al., 2009). En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se detallan los diagnósticos de la especie para el estado adulto(Muñoz et al., 2008). En la cabeza las setas interocelares son casi del doble de tamaño que las anterocelares y las anteras marginales de los ocelos posteriores con su base distanciadas entre sí, tienen 6 o menos pares de setas postulares; en el abdomen se consideran las ctenidias laterales y anteriores al espiráculo del octavo tergito (Jaramillo et al., 1994).

Cabeza	Antenas	8 artejos, artejos III y IV con canas sensoriales bifurcados, el VIII ligeramente mas largo que el VII	
	Sedas	Interocelares (io)	Situadas en Posicion 2
			De longitud igual al doble de la distancia entre sus bases.
		Postoculares (s4)	Casi tan largas como las interocelares
Torax	Pronoto	Margen anterior	Sedas angulares (aa) casi tan largas como las marginales (am)
			Dos pares de pequelas sedas entre las marginales
		Margen posterior	Dos pares de largas sedas angulares (pa)
			Un par de pequeñas sedas entre las marginales(pm)
	Alas anteriores	Nervadura principal con una línea continua de 14 a 22 sedas oscuras regularmente espaciadas.	
Abdomen	Esternitos III a VII	En los machos poseen cada uno areas glandulares pequeñas, ovales y en posición transversal	
	Terguito VII	Ctenidias en situacion antelorateral respecto al espiráculo	
		Las hembras presentan en el borde posterior un peine continuo de 10 a 14 microsedas de base ancha	
	Terguito IX	Sedas b1 ligeramente mas cortas que b2 y b3	



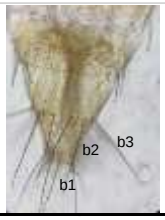


Figura 2. Caracteres diagnósticos de *F. occidentalis* (Muñoz et al., 2008).

F. occidentalis es conocido a nivel mundial como el trips occidental de las flores (WFT por sus siglas en inglés), debido a su aparición inicial en el occidente de los Estados Unidos, pero una vez colonizo todo Estados Unidos llegó a Canadá y a otros países por fuera de su rango natural de origen (Nancy & FCAF, 1998). En 1983 se reportó atacando algodón, alverjas, habichuelas y maní en el estado de Georgia(Beshear., 1983). En 1985 se reportó en Europa y un año después los investigadores Allen y Broadbent (1986) determinaron que *F. occidentalis* era el vector del virus del bronceado del tomate (TSWV) que provocó grandes pérdidas en cultivos de tomate y ornamentales bajo invernaderos durante 1984 en Ontario.

F. occidentalis puede afectar hasta 200 especies vegetales, a través de daños directos e indirectos(Calixto & Claudia, 2005) (Calixto, 2007). Los daños directos son debidos a su alimentación y a los efectos de su oviposición dentro del tejido vegetal. La alimentación de los adultos y las ninfas produce la decoloración del tejido afectado. Inicialmente se

observan manchas con puntos plateadas y más tarde color marrón, de tamaño variable y contorno irregular pero bien definido. En estas manchas se observan pequeños puntos de color verde oscuro que corresponden a excretas que permite distinguirlas de las causadas por ácaros (Robb & Parella, 1986). Cuando inserta el estilete en tejidos jóvenes u órganos en crecimiento provoca deformaciones o distorsiones, sobre todo en flores y frutos, y puede llegar a provocar abortos (Rodríguez-Arrieta et al., 2023). La oviposición produce pequeños cráteres o verrugas en el tejido, con un halo blanquecino alrededor(Solis, 2016). Los daños indirectos son debidos a la infección de hongos y bacterias a través de las heridas por alimentación y oviposición, y también por ser transmisor de virus. *F. occidentalis* es el principal vector del virus TSWV; sólo las ninfas pueden adquirir y transmitir el virus, de forma circulativa (el insecto permanece infectado después de la muda y el virus se replica en su interior)(Zhen et al, 2020).

En el cultivo de aguacate los daños causados por trips se pueden evidenciar en hojas, flores y frutos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Con su aparato bucal picador-chupador se alimentan de savia y causan deformaciones que dañan directamente el fruto y reducen su calidad(Rivera-Martínez et al., 2017). En el fruto los daños pueden ser: el manchado de la cascara con coloraciones plateadas, aborto temprano, frutos pequeños, con grietas, entre otros. En las hojas afectadas se forman áreas cloróticas, que las secan y generan su caída, reduciendo la capacidad fotosintética de los árboles y el rendimiento del cultivo(Inés & Quiroz, 2015). Los daños en flores se evidencian por una decoloración o manchas oscuras producidas por la fenolización del tejido. En México se han reportado daños por trips hasta en un 25% de los frutos, llegando al punto de no poderse exportar y venderse a menor precio en el mercado local, con una reducción en los ingresos de hasta un 50%(Castañeda & Johansen, 2011).

Figura 3. Daños causados por trips en aguacate hass. a) fruto con deformaciones, b) botones florales manchados, c) hojas cloróticas.

1.3 **Control de *F. occidentalis***

Los trips se caracterizan por ser difíciles de controlar debido a su biología y los hábitos del insecto, ovipositan dentro del tejido vegetal, parte de su ciclo de vida está en el suelo y tienen alta movilidad. Para su control se utilizan tácticas como el control químico, cultural y biológico(Bravo, 2019). La táctica más común es el uso de insecticidas de síntesis químico, que puede incrementar los costos de producción en hasta un 23%(Alvarez & Rengifo, 2020), sin garantía del control total (Yuan et al., 2023). En cultivos de hortalizas, productos como el imidacloprid, clorfluazuron, flufenoxuron han tenido eficacias entre el 40 y el 80% con aplicaciones cada 5 días contra *F. occidentalis* (Lee et al., 1991). En México, se reportan moléculas como dimetoato, parátión metílico y aceite parafínico de petróleo con valores de eficacia del 77%, 50% y 47%, respectivamente contra *F. occidentalis*(Castañeda. et al., 2003). Sin embargo, se ha reportado resistencia de la especie a moléculas como acrinatrín, formetanato y metiocarb, en gran medida por las aplicaciones consecutivas sin rotación del ingrediente activo(Espinosa et al., 2002). En la actualidad se encuentran otras moléculas químicas como el spinosad, spinetoram, abamectina, benzoato-emamectina, clorfenapir, tiametoxam, y β-cipermetrina, a las que *F. occidentalis* tiene resistena,(Yuan et al., 2023).

Adicionalmente, muchos insecticidas tienen restricciones por daños a la salud humana, o por efectos negativos a insectos benéficos como las abejas, con de los neonicotinoides (Espinosa et al., 2005). Asimismo, el mercado internacional exige que los frutos no tengan trazas de ningún insecticida que pueda atentar a la salud humana, por esta razón se recomiendan alternativas como el control biológico y/o cultural(Jacobson, 1989). Por otra parte, cada país importador tiene la potestad de exigir que los frutos de aguacate no contengan residuos de algunas moléculas en específico, que generan restricciones al uso del control químico(Bartoli, 2008).

Para el manejo de trips, también se ha recomendado el uso de trampas de colores, azul o blanco, siendo más orientadas al monitoreo(Renato & Pilar, 2018). En frutales se encontró que es más eficiente, el uso de trampas azules, amarillas y blancas sobre otras trampas de colores como rojas verdes y negras; su uso combinado con semioquimicos como el Lurem-TR puede triplicar la captura de individuos de *F. occidentalis*. (S)-2-methylbutanoate, comercializada como Thripline, funciona como feromona de agregación, para la captura de hembras y machos de *F. occidentalis(Hamilton et al., 2005)*.. Para el control biológico de *F. occidentalis* se han recomendado ácaros depredadores como *Neoseiulus* sp., *Amblyseius* sp., y el chinche *Orius* sp.(Castillo & Rodriguez, 2021). Los hongos entomopatógenos, han sido poco estudiados, aunque algunos estudios como (Fernández Guagalango, 2020; Meyling & Eilenberg, 2007) y (Wu et al., 2017; Z. Zhang et al., 2021) usan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y *Paecilomyces fumoroseus* obteniendo resultados óptimos cercanos al 80% en el control de trips en cultivos como el pimiento(Guagalango, 2020).

1.4 Hongos entomopatógenos

El control biológico, debe asumirse como una de las principales tácticas del manejo integrado de plagas en conjunto con el control cultural. Hace aproximadamente 130 años se iniciaron investigaciones con hongos(Zimmermann, 2007) y hoy en día son una alternativa ampliamente utilizada por ser ambientalmente sostenible y ejercer un control eficiente de plagas agrícolas en el mundo(Fernández, 2020).

Un entomopatógeno eficaz debe ser resistente a condiciones ambientales adversas como radiación UV, altas temperaturas y desecación, ser persistente, generar estructuras de resistencia en condiciones adversas, y tener una alta virulencia de manera que su dosis

letal media (DL50) sea baja para garantizar alta patogenicidad. Si bien algunas especies de hongos cumple con estas características, al momento de hacerlos comerciales se debe garantizar que su formulación debe mantenerlos viables en diferentes condiciones ambientales(Tanada & Kaya, 2012). *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* tienen gran capacidad de causar mortalidad a muchos insectos plaga(Portes et al., 2023).

La patogenicidad depende de propiedades intrínsecas del hongo. Se conoce el gran potencial del género *Beauveria*, por la especie *B. bassiana*, sin embargo, especies como *B. asiática, B. australis* y *B. brongniartii* también tienen capacidades entomopatógenas(Jaronski, 2022). La patogenicidad puede ser muy variable entre cepas de una misma especie, además de la virulencia se pueden diferenciar en una mayor producción de esporas y en la capacidad de adaptación a diferentes ambientes(Becerra et al., 2007). Las cepas pueden presentar diferencias en la producción de enzimas que degradan la quitina de una manera más rápida y así causar infección en menor tiempo, otras pueden tener mayor capacidad de dispersión (Carlos Espinel et al., 2009).El origen de donde se aíslan las cepas es de gran importancia, si son aisladas del suelo, pueden conferir mejor resistencia a ambientes adversos, si son asiladas de insectos parasitados pueden ser más específicas para este insecto o grupo de plagas similares(Kocacevik et al., 2015). Adicionalmente, el estado de desarrollo del insecto, su susceptibilidad, la densidad poblacional y las condiciones ambientales (la humedad relativa y la temperatura, principalmente) son determinantes para causar infección y mortalidad(Camilo et al., 2008; Gouli et al., 2008).

El proceso infeccioso de *Beauveria bassiana* inicia con la adhesión de los conidios a la cutícula del insecto, particularmente en zonas con pliegues o irregularidades que facilitan el anclaje (Q. Zhang et al., 2025). Posteriormente, los conidios germinan y generan tubos germinativos que, mediante la acción combinada de presión mecánica y secreción de enzimas hidrolíticas, logran penetrar la cutícula. A nivel histopatológico, hacia las ocho horas postinoculación la mayoría de los conidios se encuentran germinados y algunas hifas atraviesan la epicutícula (Z. Zhang et al., 2021). Entre las 12 y 24 horas, el hongo invade el hemocelo y se diferencia en cuerpos hifales (hyphal bodies), los cuales se diseminan a través del cuerpo graso, el intestino medio, los túbulos de Malpighi y los ovarios. En fases más avanzadas (48–72 horas), la infección generalizada conduce a la muerte del insecto

y a la posterior emergencia de hifas externas sobre el cadáver, completando el ciclo entomopatogénico (Ramírez-Gómez et al., 2021).

Paralelamente, la progresión de la infección está acompañada por una regulación diferencial de genes de virulencia. Durante las primeras 24 horas se incrementa significativamente la expresión de genes asociados con la degradación de la cutícula y la colonización inicial, como Pr1 (proteasa serina), CYP52X1 y CYP5293A (citocromos P450 implicados en la degradación de lípidos cuticulares), así como la síntesis del metabolito tóxico beauvericina. Genes relacionados con la respuesta al estrés y la señalización celular, como Hog1 (MAPK) y PKA (quinasa dependiente de AMPc), presentan picos de expresión entre las 48 y 72 horas, coincidiendo con la proliferación interna del hongo (Gómez et al., 2014). Otros genes, como Pdr5 (bomba de eflujo) y Perilipina, mantienen una expresión sostenida, lo que sugiere su participación en la defensa frente a compuestos insectiles y en la movilización de lípidos durante la colonización. En conjunto, la evidencia histológica y molecular indica una coordinación estrecha entre los mecanismos de penetración, adaptación fisiológica y virulencia fúngica a lo largo del proceso infeccioso (Ramírez-Gómez et al., 2021). Con base en este mecanismo de infección, diversos hongos entomopatógenos han sido estudiados como alternativas para el control biológico de insectos plaga. Entre ellos *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*

Beauveria bassiana (Ascomycota: Cordycipitaceae) es un hongo cosmopolita, se reproduce asexualmente por medio de conidios individuales, esféricas, globosas, hidrofóbicas y ovales, de color blanco; se caracteriza por tener células conidiógenas con cuello corto, que forman grandes grupos, conidióforos apiñados formando sinemas(Salazar et al., 2008). *B. bassiana* se ha aislado de más de 200 especies de insectos(Gómez et al., 2014). En medio de cultivo, es de color blanquecino con coloraciones amarillas al reverso de la placa, con textura polvorienta (Rodas & Calle, 2016). Este hongo es uno de los patógenos de insectos más importante para el control de plagas a nivel mundial (Acuña Jimenez, 2015). Su importancia radica en la inducción de epizootias que a su vez depende en gran medida de la humedad, la cual facilita su esporulación(Vázquez, 2011). La solanina y tomatina son alcaloides que pueden ocasionar efectos negativos en el crecimiento de *B. bassiana* y reducir su desarrollo dentro del insecto (Castillo L. C., 2012).

De igual manera el hongo *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Clavicipitaceae), cosmopolita, anamorfo, saprófito, con propiedades entomopatógenas. Presenta micelio septado, conidióforos con fiálides cilíndricas, conidios blásticos de manera basipeta, cilíndricos u ovoides, hialinos, que se adhieren en masas paralelas. Este hongo afecta más de 300 especies de insectos de diversos órdenes(Ge et al., 2020). La colonia inicia de un color blanco y posteriormente se torna verde olivo a verde oscuro, cuando forma los conidios. *M. anisopliae* es usado ampliamente para el control de larvas de coleópteros en el suelo y de salivazo en caña de azúcar (*Aeneolamia* sp.)(Avila Ybañez, 2013).

B. bassiana y *M. anisopliae* han sido estudiados y evaluados para el control de plagas limitantes en cultivos agrícolas y plantaciones forestales(Jiménez et al., 2022)(Madrigal, 2003). *B. bassiana* ha mostrado ser más efectivo que *M. anisopliae* en el control de insectos plaga. La eficacia de cepas de *B. bassiana y M. anisopliae* se ha evaluado contra una gran cantidad insectos plagas, logrando hasta un 93 % de micosis en *F. occidentalis* bajo condiciones de laboratorio(Schreiter et al., 1994). En otros estudios se ha reportado que *B. bassiana* ocasiona una mortalidad del 87% de trips en 6 días(Ugine et al., 2005; Wraight et al., 2016) y *Metarhizium* sp., del 74,5% en ninfas y adultos de trips(Ugine et al., 2005) . La efectividad de los dos patógenos se puede incrementar con la concentración de los tratamientos y la temperatura (Ozdemir et al., 2020).

Otro de los hongos entomopatógenos más importante en el manejo de plagas es *Lecanicillium lecanii* (Ascomycota: Cordycipitaceae), denominado anteriormente como *Verticillium lecanii*, controlador de áfidos(Martinez., 2018), cóccidos, aleyrodidos y en general insectos con cutículas débiles (Cortez, 2007). Presenta micelio tabicado, conidióforos verticilados, delgados en los extremos y anchos en la base, posee fiálides cortas, hialinas, y verticiladas con cabezuelas mucilaginosas en las que se agrupan conidios cortos, de forma elipsoidal con bordes redondeados (Martinez., 2018). En medio de cultivo el micelio es blanco o crema algodonoso con un halo notable. Este hongo ha alcanzado un gran potencial como regulador de plagas agrícolas; hay reportes de mortalidad de *F. occidentalis* hasta de un 93% después de 5 días de aplicación (Schreiter et al., 1994)

1.5 **Extractos vegetales con actividad antialimentaria**

Un biopesticida es un producto de origen natural, organismos vivos o sustancias sintetizadas por ellos, que se usa para el control de plagas o enfermedades de las plantas o animales de interés económico y antropocéntrico(Arias et al., 2017). Muchos insecticidas orgánicos son producidos a base de extractos de plantas, entre los que se destacan el ají (*Capsicum annuum)* -ajo (*Allium sativum*), las asteráceas como el crisantemo, el neem y el tabaco (Sanchez, 2002). Estas plantas producen metabolitos secundarios para su defensa (Klocke & Kubo, 1991), que previenen o reducen la alimentación, obran como disuasorios o son tóxicos para los insectos; sus efectos pueden ser pre y/o pos-digestivos (Gil & Casas-, 2023). Los primeros estadios biológicos de los insectos son más sensibles. La respuesta del insecto al mismo compuesto puede diferir dependiendo del estímulo o sustrato, de manera que un compuesto puede ser inactivo si se mezcla en una dieta artificial y efectivo como antialimentario si se aplica sobre tejido vegetal o viceversa (Schoonhoven, 1982). La comercialización depende de su rápida acción, rango amplio de especificidad y costo (Caballero Garcia, 2004).

La azadiractina, nimbina y salanina que se encuentran en el neem (*Azadirachta indica*), interfieren con los receptores que controlan el apetito de los insectos, inhiben las síntesis de ecdisona (hormona encargada de regular las mudas y desarrollo de los insectos) (Matamoros, 2022). La capsaicina y alicina, ingredientes activos del ají-ajo, respectivamente, afectan las vías nerviosas de los insectos; la alicina desnaturaliza enzimas y puede llegar a provocar daño celular por disrupción de las membranas, o alterar las actividades fisiológicas, puede incluso causar la muerte del insecto (Silva, Lagunes, Rodríguez, & D., 2002). Las furocumarinas, flavonoides y alcaloides, encontrados en los extractos de ruda (*Ruta graveolens*), afectan la actividad nerviosa de los insectos llegando a causar parálisis e incluso la muerte; estos compuestos volátiles tienen propiedades repelentes y pueden afectar las etapas iniciales de desarrollo(Bravo, 2019). Algunos extractos de asteráceas contienen terpenos, como piretrinas orgánicas, alcaloides que bloquean los canales de sodio del sistema nervioso y causan parálisis y muerte de los insectos; los terpenos emiten olores que funcionan como repelentes e incluso pueden tener efectos alelopáticos frente a otras especies de plantas, como malezas(Rodríguez-Montero et al., 2020). Muchos extractos vegetales tienen capacidad biocida, de repelencia o afectan los hábitos de los insectos, por lo cual son una alternativa confiable y eficaz para el manejo integrado de plagas(Rodríguez-Montero et al., 2020).

Para la evaluación de metabolitos secundarios contra insectos se han realizado bioensayos que tienen en cuenta los hábitos de alimentación y simulan las condiciones de campo. Los ensayos de corta duración con discos foliares como sustrato permiten una buena evaluación de la actividad antialimentaria(León-Islas et al., 2025) pueden ser de preferencia (el insecto tiene posibilidad de elegir entre discos foliares tratados y no tratados con los compuestos) y de no preferencia (sin posibilidad de elección) (Mei-Ying et al., 1993. Los ensayos de preferencia permiten determinar la capacidad del insecto para discriminar sustancias, pero la situación de no preferencia es el caso más común en un sistema agrícola(Bustamente & Uribe, 2024). La comparación de los índices antialimentarios durante periodos de tratamiento y postratamiento permiten determinar si el efecto ocasionado por un aleloquímico es de tipo disuasorio o si es consecuencia de un modo de acción tóxico(Matamoros & Ileer , 2022).

2. Metodología

2.1 Localización

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de SÁFER Agrobiológicos SAS, ubicado en el corregimiento de San Cristóbal, km 1 en la antigua vía al mar, Medellín, Colombia.

2.2 Cría de Insectos

Para la obtención del pie de cría de *F. occidentalis* se recolectaron individuos adultos de trips en dos cultivos de aguacate var. Hass en etapa productiva, ubicados en los municipios de Abejorral y Marinilla, Oriente Antioqueño; predio “Bola Roja” de una extensión de 14 hectáreas en Abejorral, coordenadas geográficas 5°57’07.47” N y 75°24’13,23” O, y predio “Cascajo Abajo” de una extensión de 4 ha en Marinilla, coordenadas 6°07’52.86”N, 75°19’42,35”O (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) Para ambos predios se encontró una altitud de 2350m.s.n.m, en promedio unos 230 mm anuales de precipitación y una temperatura de 16.5°C. Para la recolección de los trips se seleccionaron 20 árboles al azar(Alvarez & Rengifo, 2020), y cuatro ramas por árbol (una por cada punto cardinal y en diferente estrato del árbol) se sacudieron sobre una tela blanca(E. A. Silva et al., 2020). En total se hicieron 6 recolecciones de pie de cría en campo, cada 15 días entre los meses de enero a marzo del año 2023 época de floración del cultivo y en donde se presenta mayor incidencia de trips(Alvarez & Rengifo, 2020).

Figura 4. Fotografías satelitales de los cultivos de aguacate, Bola Roja y Cascajo Abajo muestreados para la obtención del pie de cría de *F. occidentalis*.

Los individuos se depositaron en cajas plásticas con tapa hermética, con orificios cubiertos con malla antitrips para su transporte al laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de Sáfer Agrobiológicos. De cada pie de cría se identificaron 10 insectos con las claves taxonómicas de Campelo et al., 2006, Cavalleri, Mound,2012, Mound and Nakahara 1994 y Ravello et al 2019. Los especímenes se aclararon con KOH al 10% por 3 días en tubos Eppendorf, luego se montaron en placas de vidrio con glicerina y sus caracteres diagnósticos se observaron con la ayuda de un microscopio óptico (Olympus CX31).

Cada cría en laboratorio se inició con 50 individuos traídos de campo, dispuestos en cajas plásticas con papel absorbente en el fondo y con una tapa con orificios con malla anti trips. Los insectos se alimentaron con pepinos *baby* de marca Sunset, y con polen de higuerilla extraído de flores frescas de arbustos sembrados dentro de los predios de SÁFER Agrobiológicos. En cada caja plástica se introdujeron dos pepinos y se adicionaron 3 gramos de polen, el alimento se cambió cada ocho días, tan pronto el pepino empezaba a mostrar signos de descomposición. Para el cambio se removieron todas las ninfas y adultos de trips posados en cada pepino con un pincel fino y se reubicaron en el nuevo alimento. Después de 28 días los adultos se retiraban y se ubicaban en cajas nuevas para obtener una nueva generación de insectos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). A partir de esta nueva generación, se completó un ciclo de vida adicional pues ya se tenía estandarizada la cría, limitando la posible carga química de campo que poseían los insectos de campo (E. A. Silva et al., 2020) y de esta manera con las nuevas ninfas y adultos se realizaron los bioensayos con los hongos entomopatógenos.

Adicionalmente, se estableció la cría de trips con flores de crisantemos como alimento debido a la preferencia de los trips por estas flores, facilidad y rapidez en conseguir estos botones(Buitrago et al., 2010) y por ser otro hospedero importante para la cría de insectos, para los bioensayos de actividad antialimentaria por extractos vegetales, con el fin de habituar los insectos y realizar las pruebas utilizando pétalos y flores, que facilitan este tipo de evaluaciones(Buitrago et al., 2010).

Figura 5. Fotografías de la cría de *F.occidentalis* en frutos de pepino baby. a) Pepinos baby ubicados en cajas plásticas. b) Ninfas de *F. occidentalis* alimentándose en pepino baby. c) Cajas plásticas con tapa hermética y malla antitrips para favorecer el intercambio gaseoso de los trips.

Los crisantemos se cultivaron en los invernaderos de Sáfer, delimitados con malla antitrips, en 5 camas de 3,50 m x 1,50 m, con siembra escalonada para tener botones florales de manera continua a partir de los dos 2 meses. Se usaron 200 esquejes de Crisantemo variedad Celebrate cultivados en la vereda Boquerón del municipio de San Cristóbal. Los esquejes se pusieron en bandejas de enraizamiento con arena como sustrato y se les aplico Sáferoot en la base para propiciar el enraizamiento, por 12 días con riego diario.

Luego se sembraron en las camas, de forma escalonada cada 15 días, a una densidad de 50 esquejes por cama, con alrededor de 18 horas de luz y 6 de oscuridad. Los crisantemos tuvieron fertilización edáfica, manejo mecánico de enfermedades y cada 4 días se inspeccionaban para garantizar que no tuvieran ningún tipo de plagas, sin recurrir a aplicaciones de pesticidas. Una vez abiertos los botones florales se cortaron con tijeras de poda, se sumergieron por un minuto en hipoclorito al 5% y se dejaron secar totalmente por 4 horas aproximadamente. Luego se depositaron en las cajas plásticas con maya antitrips para los bioensayos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). En una caja plástica con papel absorbente, se pusieron 6 flores con 50 adultos de *F. occidentalis* recolectados en campo como pie de cría. Con estos se inició el ciclo de vida para obtener individuos criados en laboratorio para los bioensayos. Cada ocho días se remplazaron las flores para que tuvieran alimento fresco. Las flores en proceso de descomposición se sacudían en la caja plástica para mover las ninfas y adultos sobre las flores frescas. Para iniciar los bioensayos, las flores con los trips se sacudían en cajas Petri y luego se

separaban ninfas I y II (instar I y II) de los adultos, mediante el uso de un estereoscopio binocular (Olympus).

Figura 6. Establecimiento de la cría de *F. occidentalis* en flores de crisantemo. a) Esquejes en enraizamiento, b) siembra escalonada de esquejes en camas, c) Plantas con botones florales, d) Flores cosechadas y ubicadas en cajas plásticas.

2.3 Bioensayos

2.3.1 Selección de las cepas de hongos más eficaces para el control de *F. occidentalis*.

Las cepas de los hongos entomopatógenos *B. bassiana, L. lecanii y M. anisopliae* se aislaron a partir de ocho productos comerciales disponibles en Colombia (**¡Error! No se**

encuentra el origen de la referencia.) y al estar reportados como biocontroladores de *F. occidentalis* (Z. Zhang et al., 2021). **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**Con cada uno de los productos se preparó una solución: se tomaron 0,2 g de producto con una balanza de precisión (Ruishan) y se diluyeron en 20 ml de agua destilada con Tween 80 al 5%. Se tomó 1000 µl de cada dilución y se sembraron en cajas Petri con medio PDA (papa-dextrosa-agar) en cámara de flujo laminar (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Las cajas se rotularon con el nombre de cada producto comercial y se dejaron en incubadora a 27°C y 75% de humedad relativa por 12 días para que los hongos crecieran y esporularan(Inés & Quiroz, 2015; Z. Zhang et al., 2021).

Tabla 1. Productos comerciales y cepas de los hongos entomopatógenos aisladas

Producto comercial	**Cepas aisladas**
Tropimezcla (Invesa)	*Beauveria bassiana* 1
	Metarhizium anisopliae 1
	Paecilomyces lilacinus *
Bassar WP (Natural Control)	*Beauveria bassiana* 2
BIolecani (Bio protección)	*Lecanicillium lecanii* 1
Vercani WP (Natural Control)	*Lecanicillium lecanii* 2
Lecanicillium lecanii Green (Green Import solutions)	*Lecanicillium lecanii* 3
Biotech (Fagro)	*Beauveria bassiana* 3
	Metarhizium anisopliae 2
Sáfermix (Sáfer Agrobiológicos)	*Beauveria bassiana* 4
	Lecanicillium lecanii 4
	Metarhizium anisopliae 3
Raxter Biocrop	*Metarhizium anisopliae 4*

*No se purificó

Posteriormente, con la ayuda de un sacabocados estéril, se hicieron repiques de las colonias formadas a nuevas cajas de Petri con medio PDA, con el fin de aislar cada una

de las cepas provenientes de un mismo producto. Las nuevas cajas Petri se llevaron a incubadora con las mismas condiciones de temperatura y humedad relativa por 12 días. Con cada aislamiento se preparó una suspensión de conidios: se agregaron 5 ml de solución de agua estéril con Tween 80 al 5% a la caja de Petri, se raspó y se filtró el contenido con una gasa estéril a un tubo Falcon de 20 ml. La concentración de cada suspensión se determinó por conteo en cámara de Neubauer (Goettel & Inglis, 1997), para llevarla a una concentración final de $1x10^9$ conidios/ml(C. E. Castillo et al., 2014; Inés & Quiroz, 2015).

Figura 7. Fotografías del proceso de aislamiento de las cepas de hongos entomopatogenos. a) Preparación de las diferentes soluciones a partir de los productos comerciales. b) Extracción con sacabocados para purificación de las cepas. c) montaje de purificación en cámara de flujo laminar. d) Zoom de las cepas.

A continuación, se inició el bioensayo de selección de las cepas de hongos más eficaces por la mortalidad causada a ninfas II y adultos *de F. occidentalis* a una concentración alta, de $1x10^9$ conidios/ml. En total se evaluaron 12 cepas, cuatro de cada especie: *B. bassiana*, *L. lecanii* y *M. anisopliae* (Tabla 1). La unidad experimental fue de 10 individuos, de ninfas II o de adultos, dispuestos en cajas Petri con pétalos de crisantemo previamente desinfectados mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 5% durante un minuto, seguido de alcohol al 70% por un minuto y, finalmente, enjuague con agua estéril por un minuto y

papel absorbente en la base de la caja. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con tres repeticiones y las 12 cepas como tratamientos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Las cepas en solución se asperjaron con aerógrafo, como control negativo se aplicó agua estéril. La mortalidad se registró diariamente, durante 21 días y los individuos que se encontraban muertos se removían con pinceles estériles y se ubicaban en otra caja Petri, con papel absorbente humedecido con agua destilada estéril, para facilitar el proceso de esporulación del hongo y verificar la infección del insecto. Al finalizar el bioensayo se calculó el porcentaje de mortalidad de cada cepa(García & Pedraza, 2021).

Los tratamientos de las cepas contra *F. occidentalis* se compararon por medio de un análisis de varianza y una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Previamente, se verificó la distribución normal de los residuales y la homogeneidad de varianzas de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk; en caso de que los datos no fueran normales, se realizó una transformación box-cox para ajustar la normalidad y estabilizar las varianzas. Finalmente se realizaron pruebas no paramétricas. Los análisis se hicieron con el Software Rstudio V.4.4.1 (R Core Team, 2020). Posteriormente, para continuar con el bioensayo siguiente, de las 12 cepas evaluadas se seleccionaron las 5 que causaron el mayor porcentaje de mortalidad a ninfas II y adultos de *F. occidentalis* a la concentración alta de $1x10^9$ conidios/ml.

2.3.2 Determinación de la concentración y el tiempo letal medio (DL50 y TL50) de las cepas más eficaces contra *F. occidentalis*.

Para determinar la concentración letal media y el respectivo tiempo letal medio de cada una de las 5 cepas seleccionadas en el ensayo anterior, se evaluó su mortalidad a ninfas y adultos de *F. occidentalis* a 6 diferentes concentraciones, desde $1x10^4$ hasta $1x10^9$ conidias/mL. La unidad experimental, la forma de aplicación de cada tratamiento, el número de repeticiones y el control negativo, fue igual al bioensayo anterior. Igualmente, la mortalidad se registró diariamente por un lapso de 21 días y los individuos muertos se llevaban a nuevas cajas de Petri, con papel absorbente húmedo en la base, para verificar la esporulación del entomopatógeno como agente causal de la mortalidad.

Para los dos bioensayos anteriores se realizó una corrección de la mortalidad con la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** (Abbott, 1925):

$$Mortalidad\ corregida\ (\%) = \frac{Mortalidad\ de\ tratamiento\ (\%) - Mortalidad\ de\ control\ (\%)}{100 - Mortalidad\ de\ control}\ x\ 100$$

Ecuación 1.Corrección de la mortalidad a partir del control negativo (Abbott 1925).

La dosis letal media y el tiempo letal medio se determinaron por el método Probit (Finney, 1975), que genera un ajuste de la curva de mortalidad y traza un modelo logarítmico. Con este modelo se calculó la dosis y el tiempo requerido de cada cepa para causar la mortalidad del 50% de la población de ninfa II y adultos de trips. El Software R- Studio V4.4.1 se utilizó para modelar y calcular la DL50 y el TL50 (R Core Team, 2020).

2.3.3 Evaluación de la actividad antialimentaria de extractos vegetales contra *F. occidentalis* en condiciones de preferencia.

La actividad antialimentaria de cinco productos comerciales disponibles en Colombia con extractos vegetales de ají-ajo, asteráceas, ruda y neem (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) contra *F. occidentalis* se evaluó en condiciones de preferencia, con posibilidad de elegir entre alimento con tratamiento y sin tratar (Caballero Garcia, 2004).

Tabla 2. Productos comerciales con extractos vegetales evaluados contra *F. occidentalis* en pruebas de preferencia.

Producto comercial	Extracto vegetal	Dosis de campo recomendada para trips
Alisín	Ají-ajo	1 cc/l
Capsialil	Ají-ajo	0.7 cc/l
Sáfer SL	Asteráceas	2 cc/l
Bioneem	Neem	4 cc/l
Rutinal	Ruda	4cc/l

La concentración utilizada de cada uno de los productos fue la dosis comercial de campo recomendada para el control de trips, teniendo en cuenta metodologías reportadas(Arias P et al., 2017). Para cada tratamiento se utilizaron tres cajas de Petri, dispuestas de manera que una permanecía en el centro y se conectaba con las dos laterales mediante tubos plásticos transparentes; en la caja del centro se ubicaron 30 trips, en una caja de los extremos se colocó el tratamiento que constaba de cinco pétalos de crisantemo previamente sumergidos en uno de los 5 productos comerciales a la dosis recomendada, y en la otra caja se dispuso el control negativo, cinco pétalos de crisantemo que habían sido sumergidos en agua destilada estéril y secados por 30 minutos a temperatura ambiente. La tapa de cada caja Petry tenía una apertura con maya antitrips para facilitar el intercambio gaseoso (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

En total se hicieron cinco repeticiones por tratamiento (5 productos) y en cada una se utilizaron 30 insectos, ninfas II o adultos. Para calcular el porcentaje de individuos repelidos o atraídos por el tratamiento o por el control negativo se registró el número de individuos en cada caja de los extremos laterales. Entre cada tratamiento se lavaban las cajas Petri tres veces, con jabón neutro sin olor y posterior al lavado y secado se realizaba la siguiente prueba. Con el fin de no tener sesgos por olores residuales, para cada extracto vegetal se hizo el montaje de las tres cajas Petri conectadas. La temperatura, humedad relativa y luminosidad fueron las mismas en todo el bioensayo.

Figura 8. Prueba de la actividad antialimentaria de preferencia de productos comerciales con extractos vegetales contra *F. occidentalis*.

Cada repetición del ensayo tuvo una duración promedia de 40 minutos, tiempo en el que más del 90% de los 30 individuos ubicados en el disco de la mitad se había desplazado a una de las cajas de los extremos. Con los datos de atracción o repelencia, discriminados

para ninfa II y adultos, se calculó el índice de repelencia, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** (Mazzoneto & Vendramin, 2003), y se estableció la categoría o grado de repelencia de cada extracto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

$$Indice\ de\ repelencia\ (IR) = \frac{2G}{G+P}$$

Ecuación 2. Índice de Repelencia (IR) (Mazzoneto y Vendramin, 2003).

Donde, G= Porcentaje de insectos atraídos por el tratamiento y P= porcentaje de individuos atraídos por el control negativo.

Tabla 3. Categorización de los índices de repelencia, según Mazzoneto y Vendramin (2003).

Valor del Índice de Repelencia (IR)	Categoría
≥1	Sin repelencia
0.76-0.99	Repelencia débil
0.51-0.75	Repelencia moderada
0.26-0.50	Repelencia alta
0.0-0.25	Repelencia muy alta

El análisis de este bioensayo se hizo por comparaciones pareadas simples, aleatorizado. El mejor o los mejores extractos evaluados se determinaron por comparaciones entre tratamientos mediante pruebas de Tukey ($P \leq 0.05$). Previamente, se verificó la distribución normal de los residuales y la homogeneidad de varianzas de los datos a través de las pruebas de Shapiro-Wilk. Para estos análisis se usó el Software Rstudio V4.4.1. (R Core Team, 2020).

2.3.4 Evaluación de la actividad antialimentaria de extractos vegetales contra *F. occidentalis* en condiciones de no preferencia.

La evaluación antialimentaria en condiciones de no-preferencia, sin posibilidad de elección, indica el potencial de un compuesto o extracto vegetal para inhibir la alimentación del

insecto en situaciones en las que no puede elegir el alimento (Caballero Garcia, 2004). Se evaluaron los 5 productos comerciales del bioensayo anterior (con extractos vegetales de ají-ajo, asteráceas, neem y ruda (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Este bioensayo partió de la metodología usada por el laboratorio de investigación y desarrollo agrícola S.A.S con modificaciones. Se usaron 30 plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cargamanto rojo, de cuatro semanas de germinado, sembradas en macetas de 1 kg con suelo de vivero rico en materia orgánica. De cada planta, se podaron todas las hojas, excepto la más joven completamente desarrollada. La unidad experimental fue una planta con la hoja y 30 individuos de trips en ninfa II. A cada planta se le aplicó por aspersión el extracto vegetal correspondiente a cada tratamiento, y a la planta control sin tratamiento se le asperjo solo agua destilada estéril. Se usaron 15 plantas, para los 5 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, y 15 plantas como control negativo por repetición. Las plantas se distribuyeron de manera aleatorizada. Después de la aplicación de los tratamientos, a la hoja en las plantas, se dejaron secar a temperatura ambiente por una hora. Luego cada hoja fue fotografiada con un IPhone 15 Pro Max, como momento inicial del bioensayo. Seguidamente, en cada hoja de cada planta, se ubicaron con un pincel 30 individuos de ninfa II de *F. occidentalis*, criados en las cajas de Petri con pétalos de crisantemos. Cada planta fue aislada con acetatos transparentes en forma de cilindro adheridos con cauchos y tapas de malla antitrips para evitar que los insectos escaparan.

Todas las plantas se dejaron en un invernadero, con temperatura y humedad relativa controlada (25°C y 75% HR), diariamente se regaron en las horas de la tarde por capilaridad; un plato ubicado en la parte inferior de las macetas se llenaba de agua, de esta manera se evitó asperjar las hojas y causar un daño a los insectos. Después de 6 días se retiraron los trips de cada planta y se tomó nuevamente una fotografía de cada hoja, con o sin tratamiento, para contrastar los síntomas de consumo, clorosis y entorchamientos ocasionados por los trips. Con el Software Adobe Photoshop 24.1.1 del 2023, se retiró el fondo de la fotografía de cada hoja y con la imagen se creó un mapa de calor, convirtiendo las zonas cloróticas y con malformaciones en tonos grises y blancos, mientras que las zonas verdes (no afectadas por los trips) se les dio una tonalidad negra. Por medio del Software Image J154 del 2023 se calculó el área foliar de la hoja en la fotografía inicial y de igual manera el área foliar de la hoja afectada pasados los seis días. Posteriormente, para cada hoja, tratada o sin tratar, de las tres repeticiones, se halló el área foliar consumido por los trips. Con los datos promedio por tratamiento del área foliar

afectada por hoja, tanto de las plantas tratadas con los extractos vegetales, como de las no tratadas o control, se calculó el Índice de Inhibición Alimentario (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**)(Rossetti et al., 2008).

$$IIA(\%) = \left(1 - \frac{CT}{CC}\right) * 100$$

Ecuación 3. Índice de Inhibición alimentario (Rossetti et al 2008).

Donde: CT= consumo promedio del área foliar de la hoja tratada luego de seis días de exposición; CC= Consumo promedio de área foliar de la hoja no tratada (control negativo) luego de seis días de exposición.

Finalmente, se hizo un análisis estadístico para determinar si había diferencias significativas entre tratamientos por medio de pruebas Tukey ($p \leq 0{,}05$) con el Software Rstudio V4.4.1. Previamente, se verificó la distribución normal de los residuales y la homogeneidad de varianzas de los datos a través de las pruebas de Shapiro-Wilk; para estos análisis se usó el Software Rstudio (R Core Team, 2020).

3. Resultados y discusión

3.1 Cepas de hongos de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* más eficaces contra *F. occidentalis.*

Doce cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* aisladas a partir de 8 productos comerciales disponibles en Colombia fueron evaluadas a una concentración alta de $1x10^9$ esporas/ml, con el fin de seleccionar las más eficaces contra ninfas y adultos de *F. occidentalis* (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 4. Mortalidad ocasionada por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml a ninfas II y adultos de *F. occidentalis*.

Cepa	Producto comercial	Mortalidad acumulada de ninfas (%)	Mortalidad acumulada de adultos (%)
B. bassiana 1	Tropimezcla (Invesa)	**55**	**55**
M. anisopliae 1		**73**	**66**
B. bassiana 2	Bassar WP (Natural Control)	**90**	**86**
L. lecanii 1	Biolecani (Bio protección)	**42**	**40**
L. lecanii 2	Vercani WP (Natural Control)	**48**	**41**
L. lecanii 3	*Lecanicillium lecanii* Green (Green Import solutions)	**42**	**38**
B. bassiana 3	Biotech (Fagro)	**60**	**56**
M. anisopliae 2		**46**	**48**

B. bassiana 4	Sáfermix (Sáfer Agrobiológicos)	**85**	**84**
L. lecanii 4		**75**	**76**
M. anisopliae 3		**85**	**83**
M. anisopliae 4	Raxter Biocrop	**58**	**58**
Control (-)	N/A	**0**	**0**

Todas las cepas tuvieron la capacidad de infectar y causar mortalidad a ninfas de segundo instar y adultos de *F. occidentalis*, con diferencia significativa del control que obtuvo un 0% de mortalidad. Las tres cepas más patogénicas contra ninfas fueron *B. bassiana* 2 con un 90% de mortalidad a los 21 días, a los 11 días supero el 80%; seguido de *M. anisopliae* 3 con el 85% a partir de los 12 días; y *B. bassiana 4* con el 85% a partir de los 18 días. Las cepas *L. lecanii* 4 y *M. anisopliae* 1 alcanzaron una mortalidad del 75 y 73%a los 18 y19 días, respectivamente. Las demás cepas tuvieron una mortalidad entre el 42 y el 60%. (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

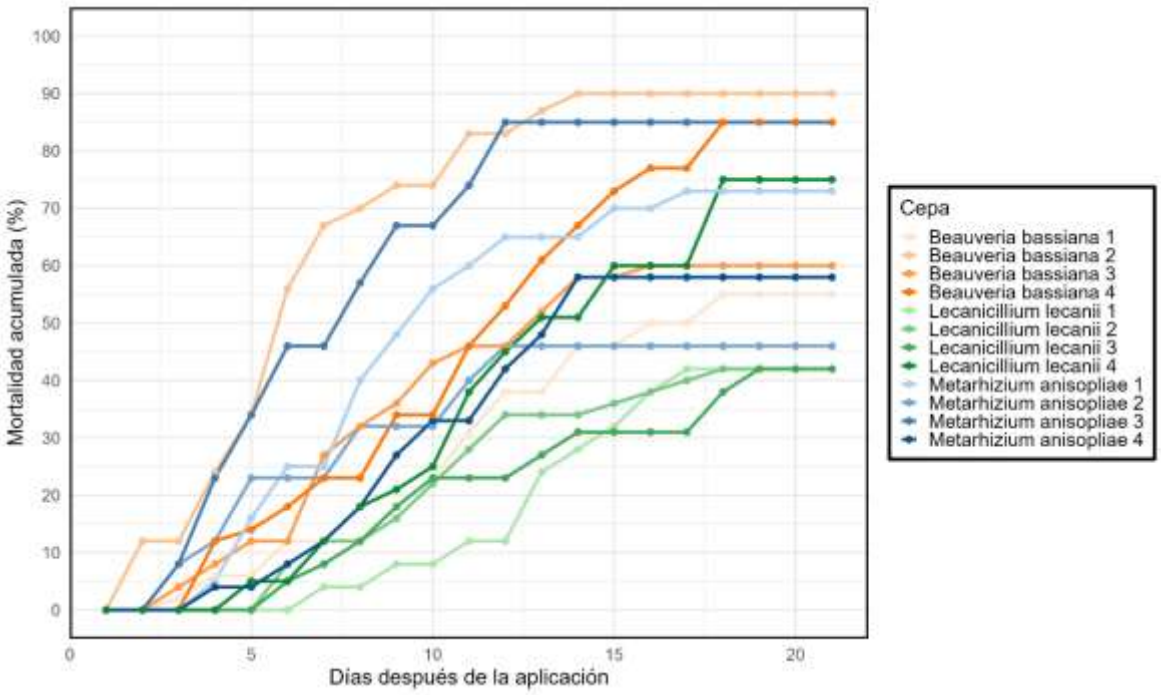


Figura 9. Porcentaje de mortalidad acumulada por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml contra ninfas II de *F. occidentalis*.

La mortalidad ocasionada por las cepas contra el estado adulto de *F. occidentalis* fue similar al obtenido en ninfas. Las cepas que indujeron mayor mortalidad acumulada fueron: *B. bassiana* 2, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 3, *L. lecanii* 4 y *M. anisopliae* 1 con 86, 84, 83, 76, y un 66%, respectivamente. Las demás cepas produjeron una mortalidad entre el 38 y el 58 % (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Para los dos estados biológicos, ninfa II y adulto, las cepas que indujeron mayor mortalidad a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml fueron las mismas: dos cepas de *B. bassiana* (2 y 4), dos de *M. anisopliae* (1 y 3) y una de *L. lecanii* (4).

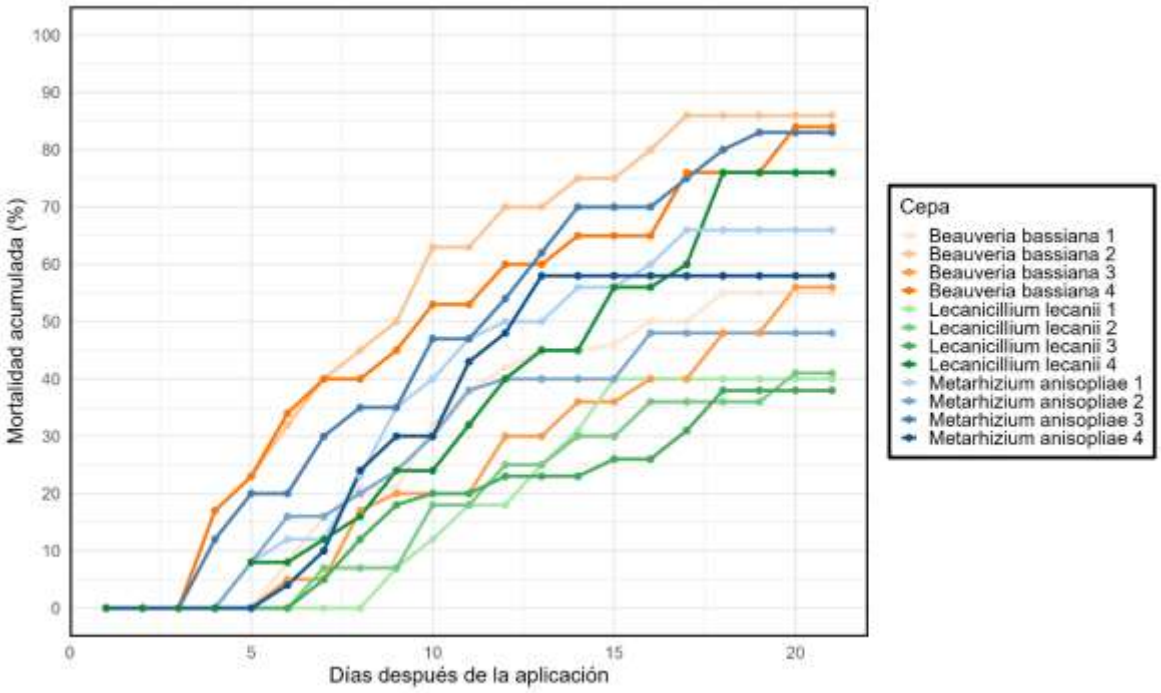


Figura 10. Porcentaje de mortalidad acumulada por cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a una concentración de $1x10^9$ esporas/ml contra adultos de *F. occidentalis.*

La mortalidad de los hongos contra ninfas II inició a partir del segundo día con la cepa *B. bassiana* 2, con los demás hongos empezó desde el tercer al sexto día de evaluación. Mientras que para el estado adulto inició el cuarto día con las cepas *B. bassiana* 2, *B. bassiana* 4 y *M. anisopliae* 3; otras cepas iniciaron el efecto biocida entre el quinto y el octavo día (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se**

encuentra el origen de la referencia.). Los hongos produjeron una mortalidad más rápida a ninfas que a adultos, lo cual se explicaría porque su integumento y/o sistema inmune es más débil(Rodriguez et al., 2022). En promedio, la mortalidad de adultos se redujo en un 5% con relación a la de las ninfas 2. Posterior a los 18 días de la aplicación de los hongos, no se presentó un incremento en la mortalidad de ninfas, ni adultos.

La esporulación de los hongos en los insectos muertos, trasladados a las cámaras húmedas, se empezó a evidenciar a partir de los 3 días tanto para ninfas como para adultos de *F. occidentalis*. Las cepas de las tres especies de hongos, *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii*, lograron parasitar y esporular los dos estados de desarrollo del insecto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

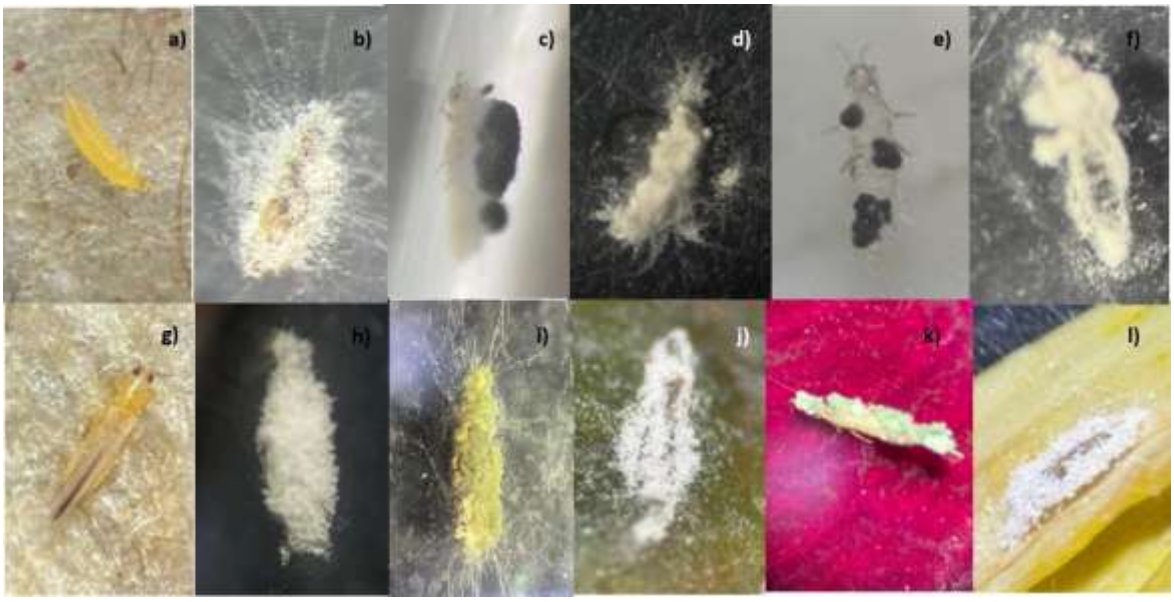


Figura 11.Patogenicidad de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* en ninfas y adultos de *F. occidentalis*. a) Ninfa II de *F. occidentalis* (control negativo); b-f) ninfa II parasitada por *B. bassiana 2*, *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 1 y *L. lecanii* 4, respectivamente. g) Adulto de *F. occidentalis* (control negativo); h-l) adulto parasitado por *B. bassiana* 2, *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 1 y *L. lecanii* 4, respectivamente.

Mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk se encontró un valor p de 0.01, mayor que el nivel de significancia α de 0.05, por lo tanto, se confirmó que los datos tienen una

distribución normal. Por otro lado, con la prueba de Levene se encontró un valor p de 0.67, superior al nivel de significancia α de 0.05, lo que implica que no se rechaza la hipótesis nula, no hay evidencia para afirmar que las varianzas difieren entre los grupos, se confirmó la homogeneidad de varianzas. Por lo tanto, se hizo el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de Tukey para realizar comparaciones múltiples entre los tratamientos ($P \leq 0.05$). Una vez realizado el análisis se determinó que sí hay diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$).

Las pruebas de Tukey mostraron que todos los tratamientos fueron significativamente diferentes del control tanto para ninfa II como para adultos. Esto indica que todas las 12 cepas evaluadas tienen un efecto significativo para causar mortalidad a insectos de *F. occidentalis*. En las comparaciones entre tratamientos se encontró que tres cepas obtuvieron el mejor resultado, con una diferencia significativa con respecto a las demás: *B. bassiana 2* con una mortalidad acumulada de 90 y 86% a ninfas y adultos, respectivamente, seguida de *B. bassiana* 4 con 85 y 84% y *M. anisopliae* 3 con 85 y 83% (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). El segundo grupo de cepas con una mortalidad sobresaliente incluyo las siguientes: *L. lecanii* 4 con una mortalidad de 75 y 76% a ninfas y adultos, respectivamente, seguido de *M. anisopliae* 1 con 73 y 66%. El tercer grupo, con diferencia estadística al anterior, incluyo a *B. bassiana* 3, con 60 y 56% y *M. anisopliae* 4 con 58% para los dos estados de desarrollo. En un cuarto grupo, con actividad biológica aceptable, estuvieron: *B, bassiana* 1, *M. anisopliae* 2 y *L. lecanii* 2; y finalmente en el último grupo estadístico *L. lecanii* 1 y *L. lecanii* 3 (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad acumulada y comparación estadística de la actividad biológica de las cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* en ninfas y adultos de *F. occidentalis. Grupos estadisticos sobresalientes marcados con(**) y aceptables con (*) (Pvalue<0,05)*.

Cepa	Dia 1		Dia 8		Dia 15		Dia 21		Grupos
	Ninfa II	Adulto	Ninfa II	Adulto	Ninfa II	Adulto	Ninfa II	Adulto	
*M. anisopliae 1**	0	0	40	23	70	56	73	66	bc
B. bassiana 1	0	0	12	21	46	46	55	55	cde
L. lecanii 1	0	0	4	0	32	40	42	40	f
M. anisopliae 2	0	0	32	20	46	40	46	48	def

*B. bassiana 2*****	0	0	70	45	90	75	90	86	a
L. lecanii 2	0	0	12	7	36	30	42	41	ef
*M. anisopliae 3*****	0	0	57	35	85	70	85	83	a
B. bassiana 3	0	0	32	17	58	36	60	56	cd
L. lecanii 3	0	0	12	12	31	26	42	38	f
M. anisopliae 4	0	0	18	24	58	58	58	58	cd
*B. bassiana 4*****	0	0	23	40	73	65	85	84	a
*L. lecanii 4**	0	0	18	16	60	56	75	76	ab
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	g

Se confirmó que todas las cepas de los hongos tienen la capacidad de causar mortalidad a ninfas y adultos de *F. occidentalis*, con diferencias significativas frente al control, y que las cepas de los diferentes productos comerciales difieren en su virulencia a esta especie. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se destacan las cepas con mejor comportamiento. Los grupos estadísticos con la misma letra no difieren significativamente, grupos con dos o más letras tienen similitud entre sí, los grupos estadísticos sobresalientes y aceptables se encuentran sombreados de color gris y marcados con (**) para sobresalientes y (*) para aceptables. Para confirmar los grupos estadísticos y seleccionar las 5 mejores cepas se realizó un gráfico box-plot para ninfas II y para adultos, destacándose las mismas cepas para ambos estados de desarrollo (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), y algunas presentaron una mortalidad muy similar.

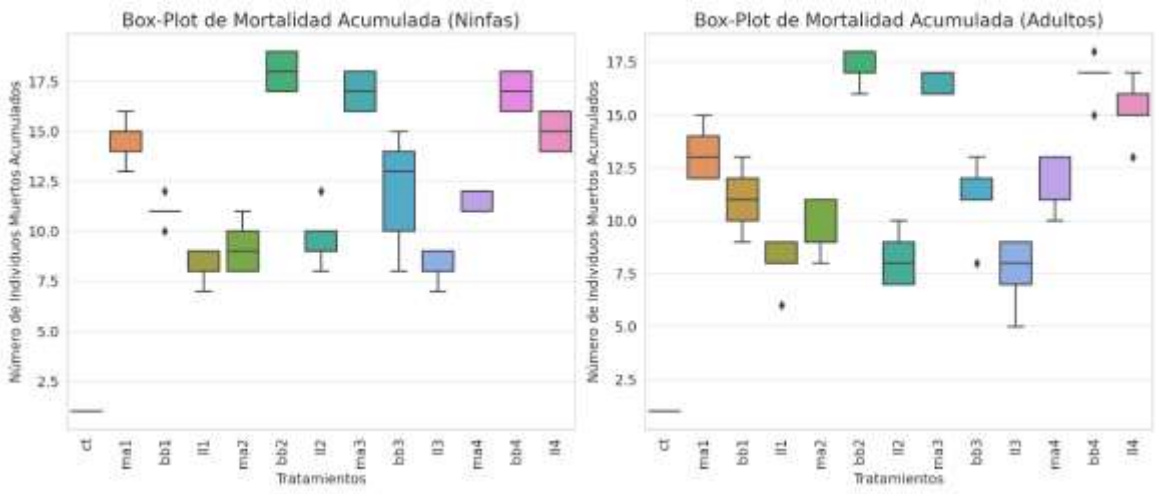


Figura 12. Box plot de la mortalidad acumulada de las cepas de *B. bassiana* (bb), *M. anisopliae* (ma), *L. lecanii* (ll) y del control negativo (ct) a ninfas (izquierda) y adultos (derecha) de *F. occidentalis*.

Las 5 cepas más eficaces tanto para ninfas y adultos de *F. occidentalis* en orden de mortalidad fueron: *B. bassiana* 2, *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4, *M. anisopliae* 1 y *L. lecanii* 4. Estas cepas se seleccionaron para el segundo bioensayo, con el fin de determinar su Dosis Letal Media (DL50) y Tiempo Letal Medio (TL50). En síntesis, de un total de 8 productos comerciales se aislaron 12 cepas, y las 5 que causaron mayor mortalidadad provienen de solo tres productos comerciales, a saber: Bassar Wp, Sáfermix y Tropimezcla. Bassar Wp es un producto que solo contiene *B. bassiana* 2, Sáfermix posee *B. Bassiana* 4, *M. anisopliae* 3 y *L. lecanii* 4, y Tropimezcla posee *M. anisopliae* 1 (aunque también *B. bassiana*1 y *Paecilomyces lilacinus*).

Es posible que las cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* seleccionadas tengan mayor capacidad para adherirse, germinar, penetrar el tegumento de estados inmaduros y adultos de *F. occidentalis* y posteriormente causar infección y su muerte. Es importante resaltar el producto Bassar WP que solo tiene una cepa y fue la que produjo la mortalidad más alta, y también al producto Sáfermix que es una mezcla que contiene tres de las cinco cepas con mayor eficacia, que destaca esta formulación.

3.2 DL50 de cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a ninfas y adultos de *F. occidentalis*.

A las cepas *B. bassiana* 2 (Bassar), *M. anisopliae* 3, *B. bassiana* 4 y *L. lecanii* 4 (Sáfermix), y *M. anisopliae* 1 (Tropimezcla), seleccionadas por causar la mayor mortalidad a una concentración alta ($1x10^9$) a ninfas y adultos de *F. occidentalis*, se les determinó la concentración letal media (DL50) y el tiempo letal medio (TL50); es decir la concentración y tiempo mínimos para matar el 50% de la población de la plaga. Cada una de las 5 cepas se evaluó a 6 concentraciones diferentes, en un rango de $1x10^4$ a $1x10^9$. Además, con la gráfica de los datos se obtuvo el modelo logarítmico que predice la dosis y tiempo letal medio para cada cepa, el modelo explica de forma acertada la relación dosis-respuesta (Ortega & Cayuela, 2020). La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** evidencian que a medida que la concentración de las esporas aumentó, la mortalidad de ninfas y adultos también y que el tiempo en días requerido para alcanzar la mortalidad del 50% de la población disminuyo.

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad acumulada de ninfas de *F. occidentalis* por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a seis concentraciones diferentes, para determinar DL50 Y TL50

Hongo	Concentración	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
B. bassiana 2	1,00E+04	0,00	10,00	26,67	50,00	50,00
	1,00E+05	0,00	20,00	41,67	51,67	55,00
	1,00E+06	3,33	11,67	36,67	60,00	63,33
	1,00E+07	1,67	28,33	50,00	71,67	76,67
	1,00E+08	6,67	31,67	60,00	76,67	90,00
	1,00E+09	5,00	31,67	71,67	90	91,67
Hongo	**Concentración**	**Dia 4**	**Dia 8**	**Dia 12**	**Dia 16**	**Dia 20**
B. bassiana 4	1,00E+04	1,67	15,00	30,00	45,00	50,00
	1,00E+05	1,67	16,67	30,00	43,33	53,33
	1,00E+06	0,00	15,00	33,33	50,00	60,00
	1,00E+07	6,67	33,33	46,67	66,67	70,00
	1,00E+08	3,33	20,00	46,67	71,67	85,00
	1,00E+09	6,67	33,33	46,67	73,33	85,00
Hongo	**Concentración**	**Dia 4**	**Dia 8**	**Dia 12**	**Dia 16**	**Dia 20**

M. anisopliae 3	1,00E+04	0,00	13,33	20,00	30,00	30,00
	1,00E+05	0,00	13,33	26,67	41,67	43,33
	1,00E+06	0,00	18,33	41,67	55,00	68,33
	1,00E+07	3,33	23,33	53,33	70,00	80,00
	1,00E+08	1,67	31,67	53,33	80,00	86,67
	1,00E+09	1,67	28,33	48,33	78,33	88,33
Hongo	**Concentración**	**Dia 4**	**Dia 8**	**Dia 12**	**Dia 16**	**Dia 20**
M. anisopliae 1	1,00E+04	0,00	15,00	31,67	45,00	50,00
	1,00E+05	1,67	18,33	45,00	55,00	56,67
	1,00E+06	3,33	25,00	45,00	63,33	65,00
	1,00E+07	3,33	18,33	46,67	63,33	73,33
	1,00E+08	1,67	30,00	55,00	76,67	81,67
	1,00E+09	3,33	35,00	51,67	75,00	86,67
Hongo	**Concentración**	**Dia 4**	**Dia 8**	**Dia 12**	**Dia 16**	**Dia 20**
L. lecanii 4	1,00E+04	0,00	16,67	30,00	35,00	38,33
	1,00E+05	5,00	20,00	40,00	50,00	51,67
	1,00E+06	3,33	26,67	45,00	61,67	66,67
	1,00E+07	3,33	26,67	51,67	68,33	75,00
	1,00E+08	3,33	23,33	50,00	68,33	81,67
	1,00E+09	5,00	33,33	60,00	73,33	85,00

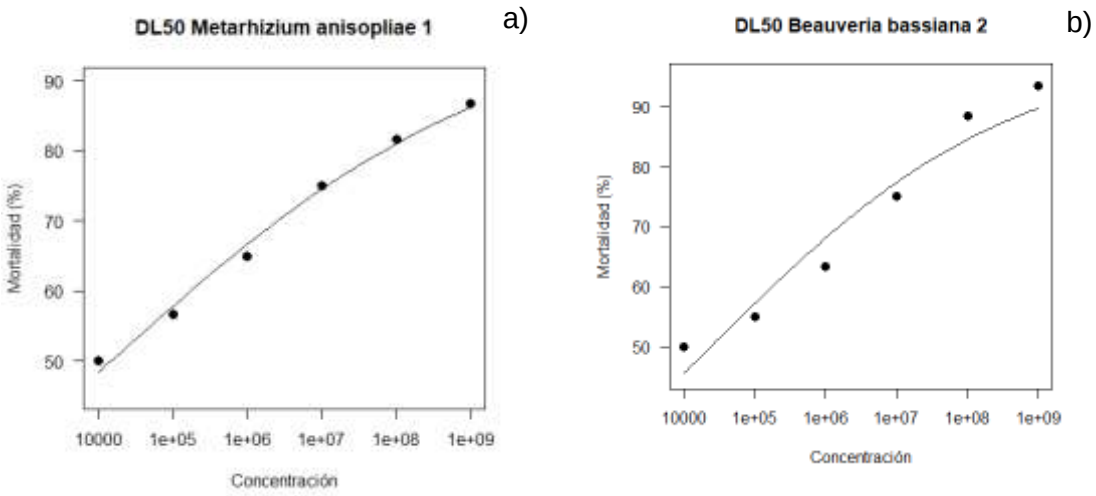
Para el caso de las ninfas, la cepa *B. bassiana* 2, y las cepas *B. bassiana* 4 y *M.anisopliae*1, alcanzaron la DL50 a la concentración mínima evaluada de $1x10^4$ en 16 días, y 20 días, respectivamente; en cambio, las cepas *L.lecanii* 4 y *M.anisopliae* 3 a concentraciones mínimas de $1x10^5$ y $1x10^6$ en 16 días, respectivamente. Por supuesto, al incrementarse la concentración el tiempo letal medio se redujo para todas las cepas (Tabla 6). Con relación a los adultos, las cepas B.bassiana 2, *M.anisopliae* 1 y *L.lecanii* 4 alcanzaron la DL50, o un poco más de este nivel de mortalidad, a la concentración de $1x10^5$ en 16 días; y las cepas *M.anisopliae* 3 y *B.bassiana* 4 a $1x10^6$ en 12 y 16 días, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 7 . Porcentaje de mortalidad acumulada de adultos de *F. occidentalis* por cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* a seis concentraciones diferentes, para determinar DL50 Y TL50.

Hongo	Concentración	Día 4	Día 8	Día 12	Día 16	Día 20
B.bassiana 2	1,00E+04	0,00	8,33	28,33	45,00	46,67
	1,00E+05	1,67	21,67	40,00	50,00	50,00
	1,00E+06	3,33	15,00	38,30	53,33	58,33
	1,00E+07	3,33	31,66	53,33	66,67	70,00
	1,00E+08	5,00	26,67	61,67	76,67	78,30
	1,00E+09	6,67	33,33	53,33	80,00	83,33
Hongo	**Concentración**	**Día 4**	**Día 8**	**Día 12**	**Día 16**	**Día 20**
B.bassiana 4	1,00E+04	1,67	18,33	36,67	46,67	48,33
	1,00E+05	1,67	11,67	26,67	43,33	46,67
	1,00E+06	0,00	16,67	31,67	46,67	55,00
	1,00E+07	0,00	25,00	45,00	61,67	65,00
	1,00E+08	1,67	21,66	45,00	75,00	80,00
	1,00E+09	3,33	26,67	53,33	76,67	80,00
Hongo	**Concentración**	**Día 4**	**Día 8**	**Día 12**	**Día 16**	**Día 20**
M. anisopliae 3	1,00E+04	1,67	10,00	23,33	30,00	30,00
	1,00E+05	1,67	16,67	31,67	45,00	46,67
	1,00E+06	8,33	25,00	50,00	56,67	60,00
	1,00E+07	6,67	31,67	58,33	68,33	70,00
	1,00E+08	5,00	21,66	53,33	75,00	76,67
	1,00E+09	0,00	25,00	50,00	76,66	83,33
Hongo	**Concentración**	**Día 4**	**Día 8**	**Día 12**	**Día 16**	**Día 20**
M. anisopliae 1	1,00E+04	1,67	18,33	35,00	46,67	48,33
	1,00E+05	0,00	18,33	43,33	53,33	55,00
	1,00E+06	3,33	25,00	40,00	56,67	58,33
	1,00E+07	0,00	18,33	38,33	61,67	68,33
	1,00E+08	1,67	25,00	51,67	71,67	78,33
	1,00E+09	5,00	36,67	56,67	78,33	85,00
Hongo	**Concentración**	**Día 4**	**Día 8**	**Día 12**	**Día 16**	**Día 20**
L. lecanii 4	1,00E+04	0,00	15,00	31,67	35,00	38,33
	1,00E+05	3,33	18,33	40,00	51,67	51,67
	1,00E+06	0,00	25,00	41,67	61,67	63,33
	1,00E+07	1,67	18,33	46,67	66,67	66,67
	1,00E+08	1,67	21,67	50,00	70,00	75,00
	1,00E+09	5,00	33,33	61,67	73,33	81,67

Los datos de las Tablas 6 y 7 se analizaron a través del modelo Log-logistic con el Software R Studio, para trazar la curva dosis-respuesta (concentración – mortalidad) de cada una de las 5 cepas contra ninfas y adultos de *F. occidentalis*. Todas las curvas se ajustaron de manera adecuada al modelo logarítmico; la pendiente de cada modelo fue altamente significativas ($p < 0.05$), con una relación directamente proporcional y robusta entre la concentración de la cepa del hongo y la mortalidad de la plaga (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y 14). Esto confirmó la eficacia de las cepas contra *F. occidentalis*.

Para el caso de las ninfas, las DL50 encontradas variaron entre $1{,}47 \times 10^4$ y $1{,}33 \times 10^5$ esporas/ml. En orden creciente, las DL50 fueron: $1{,}47 X 10^4$, $2{,}4 X 10^4$, $3{,}31 X 10^4$, $6{,}94 X 10^4$ y $1{,}33 X 10^5$ esporas/ml para las cepas *M. anisopliae* 1, *B.bassiana* 2, *B.bassiana* 4, *L.lecanii* 4 y *M. anisopliae* 3, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, Tabla 8), sin diferencia significativa ($p<0{,}05$) entre las DL50 de las 5 cepas; *M. anisopliae* 3 y *L. lecanii* 4 tuvieron las dosis más elevadas y la de *L. lecanii* 4 se incrementó diez veces más.



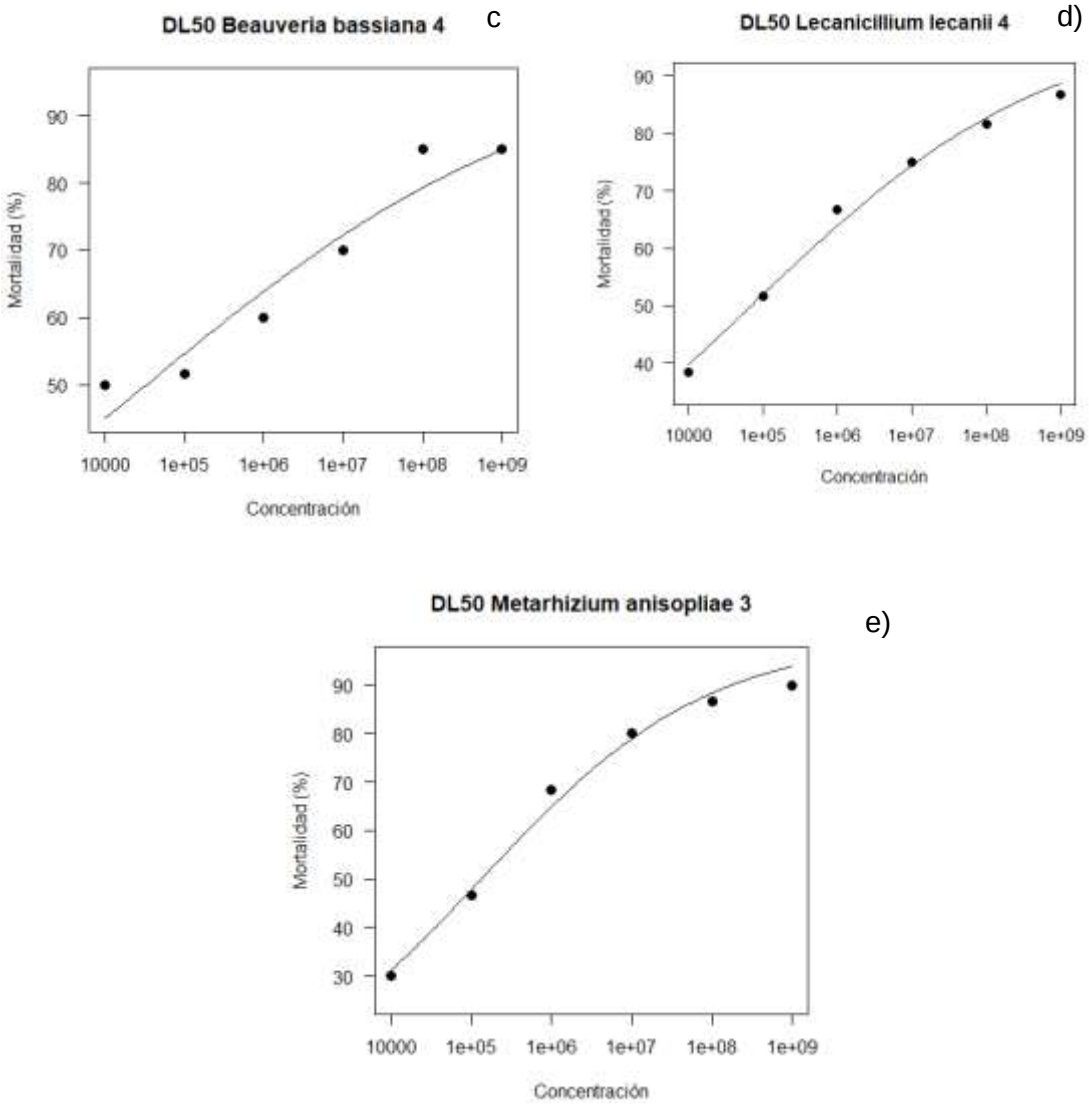


Figura 13. Curvas de mortalidad de las ninfas de *F.occidentalis* y DL50 de las cepas de los hongos. a) *M. anisopliae* 1(P value =0.0013), b) *B. bassiana* 2(P value =0.025), c) *B. bassiana* 4(P value =0.0012), d) *L. lecanii* 4 (P value =0.0033), y e) *M. anisopliae* 3(P value =0.0014)

Tabla 8. Concentración letal media (DL50) de las cepas de hongos contra ninfas de *F.occidentalis*.

Cepa	DL50	Grupo estadístico
M. anisopliae 1	1,47E+04	a

B.bassiana 2	2,40E+04	a
B.bassiana 4	3,31E+04	a
L. lecanii 4	6,94E+04	ab
M. anisopliae 3	1,33E+05	ab

Para el caso de los adultos de *F. occidentalis* el modelo Log-logistic evidenció que la DL50 se incrementó para todas las cepas evaluadas, lo que indica que se requieren más esporas por mililitro para obtener la mortalidad del 50% de los individuos; sin embargo, el incremento no fue de un exponencial (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Las DL50 encontradas variaron entre $3{,}06x10^4$ y $2{,}51x10^5$ esporas/ml. En orden creciente, las DL50 fueron: $3{,}06X10^4$, $5{,}42X10^4$, $6{,}95X10^4$, $6{,}95X10^4$ y $2{,}51X10^5$ conidias/ml para las cepas *M. anisopliae* 1, *B. bassiana* 2, *B. bassiana* 4, *L. lecanii* 4 y *Metarhizium anisopliae* 3, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), sin diferencia significativa entre estas, y se destacó el mismo orden de las 5 cepas hallado para las ninfas.

El leve incremento de las DL50 de los adultos con relación a la de las ninfas se podría explicar porque los adultos tienen un sistema inmunológico y defensas a la adhesión de esporas más desarrollados(Rutkowski & McNamara, 2023). Las setas posteromarginales abdominales funcionan como una barrera parcial que protegen de las adhesiones de conidias y dificultan la penetración del hongo e incrementan el tiempo para empezar la infección(Iwama & Moran, 2023) (Cerenius & Söderhäll, 2004). Sumado a esto también hay evidencia que permite demostrar que la microbiota de los insectos puede ser una relación simbiótica que permite desarrollar resistencia a insecticidas e incluso a infecciones por hongos entomopatógenos. En el caso de *Spodoptera frugiperda* resistentes a lambda-cihalotrina, deltametrina, clorpirifos etil, spinosad y lufenurón encontraron 10 aislamientos de bacterias intestinales que degradaban estos compuestos químicos y así mismo les conferían dicha resistencia a los insectos.(De Almeida et al., 2017)

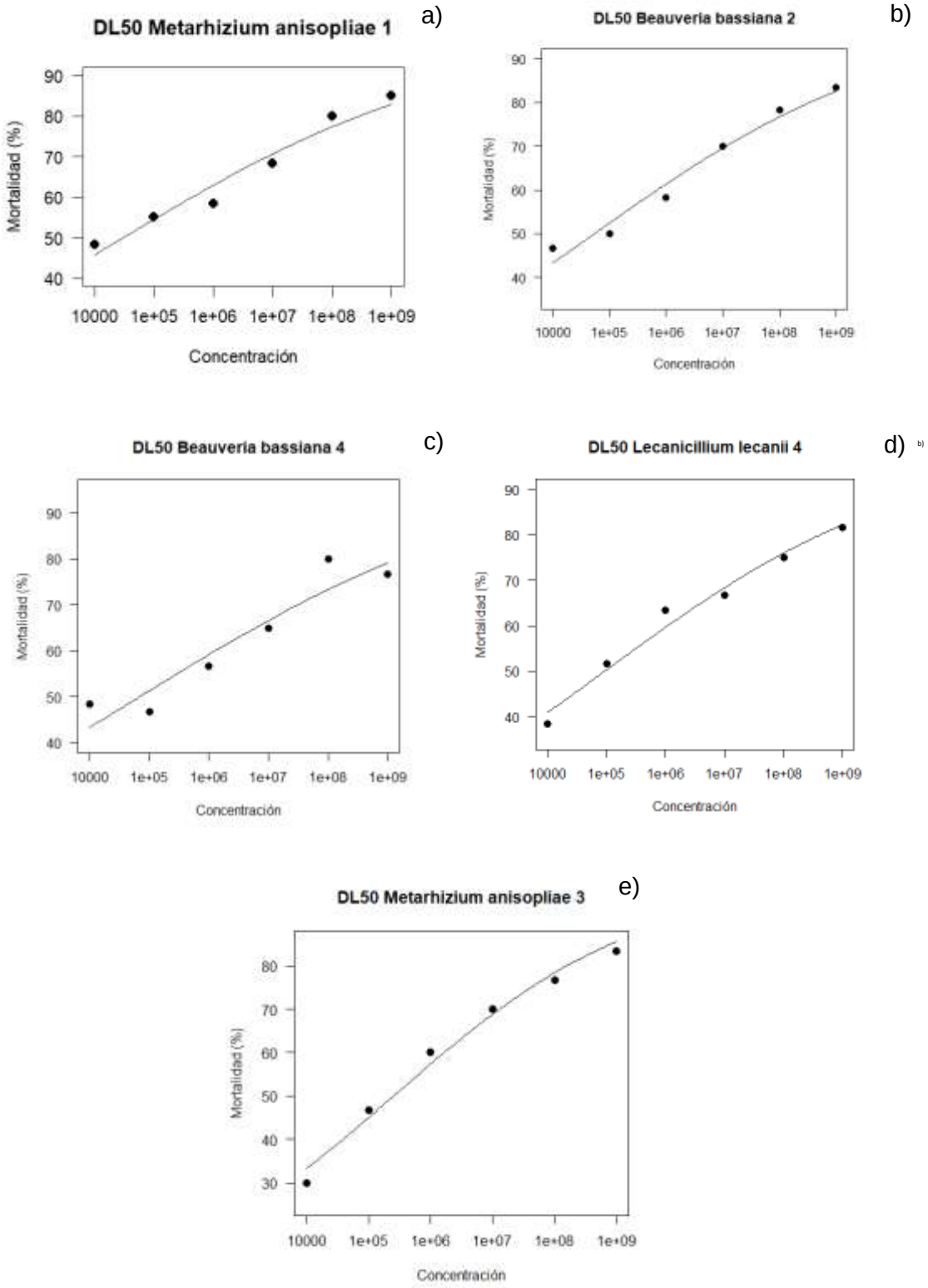


Figura 14.Curvas de mortalidad de adultos de *F.occidentalis* y DL50 de las cepas de hongos. a) *M. anisopliae* 1(P value =0.000163), b) *B. bassiana* 2 (P value =0.007413), c)

B. bassiana 4(P value =0.000163) , d) *L. lecanii* 4 (P value =8.2X10^{-7}) y e) *M. anisopliae* 3(P value =1.72X10^{-7}).

Tabla 9. Concentración letal media (DL50) de las cepas de hongos contra adultos de *F.occidentalis*.

Cepa	DL50	Grupo estadístico
M. anisopliae 1	3,06E+04	a
B.bassiana 2	5,42E+04	a
B.bassiana 4	6,95E+04	a
L. lecanii 4	6,95E+04	a
M. anisopliae 3	2,51E+05	ab

La Tabla 9 evidencia que no hubo diferencia significativa entre las cepas. *M. anisopliae* 3 es la menos eficiente de las evaluadas, con una DL50 de 10^5 en contraste a las demás que son de 10^4, sin embargo, hace parte del producto Safermix, que contiene también las cepas *B.bassiana* 4 y *L. lecanii* 4.

En la Universidad de Vermont, se evaluaron cepas de *M. anisopliae*, *L. muscarium*, *B.bassiana* y *Trichoderma viride,* a dosis de 1,25x10^6, 2,5x10^6 y 5,5x10^6 y 6,5x10^6 conidias.ml^{-1}, respectivamente, contra ninfas II de *F. occidentalis*, con mortalidades de 50, 35, 40 y 10%, respectivamente (Gouli, y otros, 2008), que sugiere que las DL50 halladas en esta investigación son bajas. Además, en esa investigación se encontró que la mezcla de los hongos condujo a una mortalidad superior al 90%(Svetlana Gouli et al., 2008), confirmando la ventaja de productos comerciales con mezclas de hongos entomopatógenos, como Safermix.

En la evaluación de cinco asilamientos de *B. bassiana* para el control de adultos de *F.occidentalis* se encontraron DL50 del orden de 2,87 X10^7 hasta 8,28x10^9 conidios/ml (Rajput, 2007). Estas dosis son superiores a las DL50 determinadas en esta investigación. En la investigación de Raiput (2007) evaluaron concentraciones desde1x10^6 hasta 1x10^8 conidios/ml y con base en estas se calcularon las DL50, destacando la importancia de evaluar un rango mayor de concentraciones para tener datos suficientes y generar un

modelo más confiable, como se hizo en esta investigación. Una dosis tan alta para reducir una población de un insecto plaga al 50% puede ser económicamente inviable. Las DL50 halladas en esta investigación son semejantes a otras reportadas para la misma zona geográfica, como la realizada en el Oriente Antioqueño, donde se evaluaron dos cepas de *L. lecanii* y dos cepas de *M. anisopliae* contra *Frankliniella* sp. aisladas en el cultivo de aguacate, obteniendo DL50 de $1,69X10^5$ y $1,02x10^5$ conidios/ml para las cepas de *L, lecanii* y de $3,91x10^4$ y $3,92x10^4$ para las cepas de *M. anisopliae* en condiciones de laboratorio(Inés & Quiroz, 2015) (Restrepo & Arango, 2015).

La DL50 de hongos entomopatógenos para el control de *F.occidentalis* no ha sido ampliamente estudiada. Las investigaciones se han centrado en la mortalidad del insecto usando diferentes cepas a concentraciones por encima de $1x10^8$ conidias/ml, por supuesto con mortalidades altas, comparables a las obtenidas con insecticidas de síntesis química(Ixchop Ordóñez, 2024; Pardey, 2009).

B. bassiana y *M. anisopliae* produjeron mortalidades cercanas al 60% con concentraciones de $1x10^4$ conidias/ml contra *Scirtothrips* sp., en aguacate(Zahn & Morse, 2013), comparables con las encontradas para *F.occidentalis* en este trabajo y demostrando que los hongos entomopatógenos pueden producir mortalidades significativas de trips en aguacate a bajas dosis.

La eficacia de los hongos entomopatógenos puede llegar a valores comparables o incluso superiores a los de insecticidas de síntesis química. *M. anisopliae* a concentraciones de $1x10^7$ y $1x10^{10}$ esporas/ml tuvo un control del 70 y 90% frente a pupas de *F. occidentalis*, superiores al imidacloprid; y al mezclar el hongo con dosis subletales del insecticida los resultados no tuvieron diferencias significativas con el uso del hongo solo, por lo que se ha recomendado en aplicaciones en drench al suelo(Ansari et al., 2007).

Dentro de las ventajas que tiene usar productos con mezclas de hongos se tienen que con una sola aplicación se puede disminuir los costos de manejo y la cantidad de aplicaciones, mientras se maximiza el impacto sobre la plaga e incluso sobre otras plagas(Jaronski, 2010, 2022). Por otro lado, se tienen varios mecanismos de acción con diferentes metabolitos o baterías enzimáticas, afectando de manera sinérgica el mismo blanco biológico, en este caso *F. occidentalis* en diferentes estados de desarrollo. El uso de

diferentes hongos entomopatógenos también puede limitar en mayor medida la resistencia de los insectos a un solo hongo o producto comercial(Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2013).

Las cepas de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* tuvieron una mayor eficacia que las de *L. lecanii*. Comercialmente se encuentran productos con la mezcla de dos o más de estos hongos entomopatógenos. Una gran alternativa para el control de insectos plagas. En campo sería una ventaja importante tener dos o más agentes biocontroladores en el mismo producto, con mortalidades altas como las encontradas en esta investigación. Hay diferencias entre la actividad entomopatógena de los hongos. Se ha sugerido que *M. anisopliae* tiene una capacidad proteolítica más alta que *B. bassiana* debido a un pico de lipasas mayor, de manera que dependiendo del blanco biológico *M. anisopliae* podría causar enfermedad más rápido que *B. bassiana(Giraldo et al., 2001)*.

En esta investigación se encontró que mientras *M. anisopliae* 1 tiene las DL50 más bajas, tanto para ninfas como para adultos de *F. occidentalis*, cepas como *B. bassiana* 4 o *M. anisopliae* 3, alcanzaron mortalidades mayores a concentraciones del orden de $1x10^8$ conidias/ml o a concentraciones menores. A esta concentración alta, *B. bassiana* 2 llego al 91,67% a los 20 días de evaluación *M. anisopliae* 3, al 88,33%, seguido de *M.anisopliae* 1 con un 86,67 %, *B.bassiana* 4 con 85 % al igual que *L. lecanii* 4 en el mismo tiempo, demostrando que pese a que la cepa de *M. anisopliae* 1 tuvo la menor dosis letal media no hubo una diferencia significativa entre todas las dosis con las demás cepas evaluadas, por otro lado, las cepas de *B. bassiana* 2 y *B.bassiana* 4, tienen mejor comportamiento en concentraciones más altas, cercanas a las usadas en campo llegando a un 90% de mortalidad en la evaluación realizada con las concentraciones de $1x10^8$ conidias/ml. Los hongos como *B. bassiana* y *M. anisopliae* causan una alta mortalidad en concentraciones de alrededor de $1x10^7$conidias/ml, incluso reportan mortalidades de más del 90% con una sola aplicación de estos hongos, demostrando la importante actividad biológica que ejercen sobre *F.occidentalis*, incluso por encima de otros hongos entomopatógenos como *Cordyceps* sp., *Paecilomyces* sp. e *Hisutella* sp. que solo lograron un 65, 55 y 15 % de mortalidad en este insecto(Panyasiri et al., 2007).

Los productos Bassar, Sáfermix y Tropimezcla poseen una concentración garantizada de $1x10^8$ esporas/gramo de cada cepa y su dosis recomendada en campo es de 1 o 2 g/L según la incidencia del insecto plaga. Esto indica que en campo se recomiendan

concentraciones de $1x10^5$ esporas/ml para llegar a mortalidades superiores al 80% y se demuestra que es una dosis adecuada para ejercer un control sobre las poblaciones de *F.occidentalis*TL50 de cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a ninfas y adultos de *F. occidentalis*.

3.3 TL50 de cepas de *B. bassiana, M. anisopliae* y *L. lecanii* a ninfas y adultos de *F. occidentalis*.

El tiempo letal medio (TL50) de cada una de las cepas se determinó con los datos de la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** para las ninfas y de la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** para los adultos. Una vez establecidas las curvas del tiempo letal medio (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y 16), se determinó el intercepto en el 50% de mortalidad. Las curvas de tiempo letal medio de infección de los hongos tienen una forma sigmoidal, al principio, mientras se adhieren al insecto y penetran la cutícula la mortalidad es muy baja, posteriormente una vez penetran e inician la colonización y la síntesis de metabolitos secundarios, la mortalidad aumenta a una tasa constante hasta que finalmente, la acción de los hongos se ve interrumpida por la muerte de los insectos, llegando al punto máximo de mortalidad donde la curva tiende a estabilizarse (**Figura 15**. Curvas de mortalidad de ninfas de *F.occidentalis* y TL50 de las cepas de los hongos. a) *B.bassiana* 2, b) *L. lecanii* 4, c) *M. anisopliae* 1, d) *M. anisopliae* 3 y e) *B. bassiana* 4. Figura 15). A la misma concentración, la mortalidad de los individuos se incrementa a medida que transcurre el tiempo de evaluación, tanto para ninfas como para adultos.

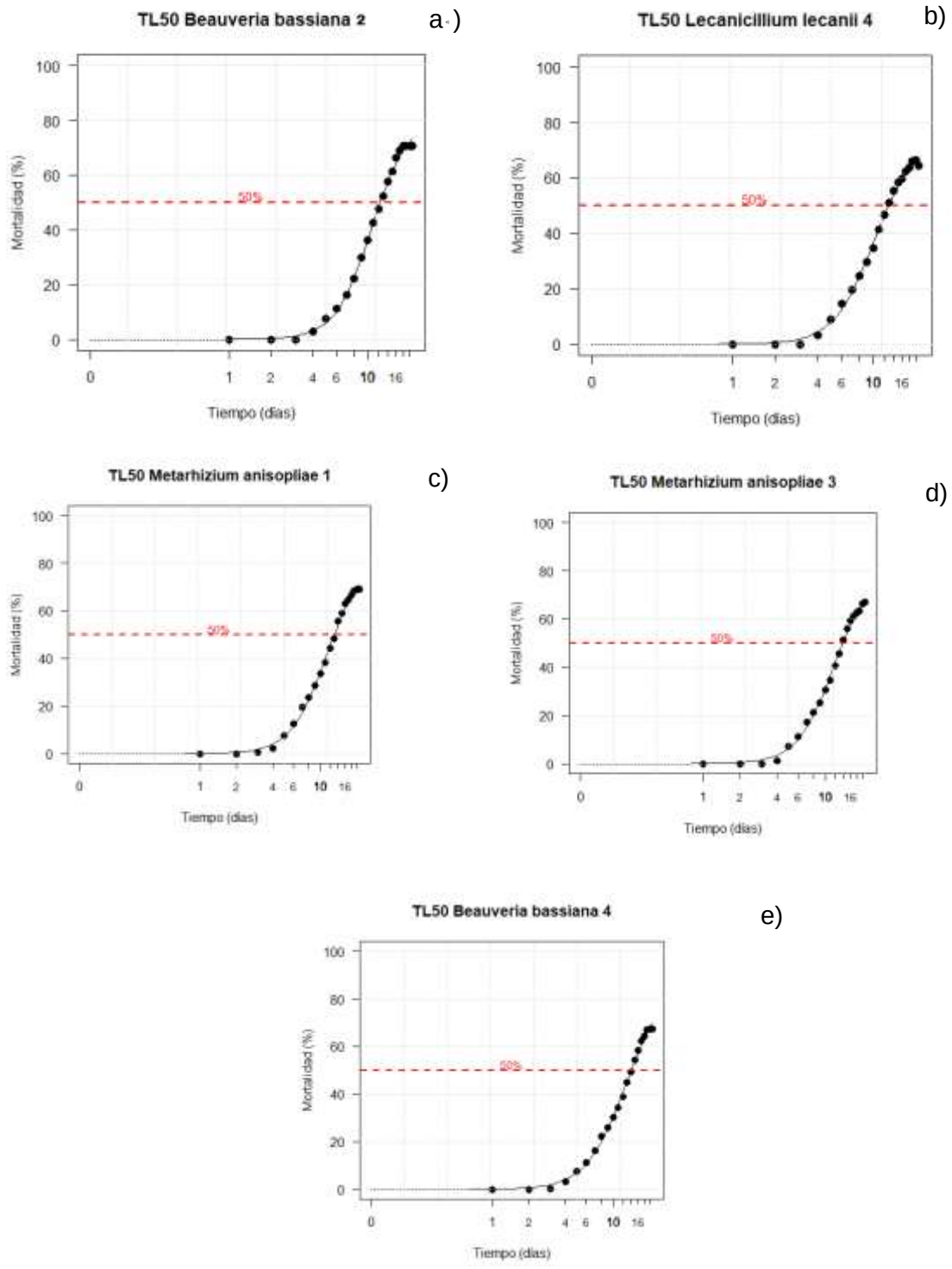


Figura 15. Curvas de mortalidad de ninfas de *F.occidentalis* y TL50 de las cepas de los hongos. a) *B.bassiana* 2, b) *L. lecanii* 4, c) *M. anisopliae* 1, d) *M. anisopliae* 3 y e) *B. bassiana* 4.

Para las ninfas de *F. occidentalis*, los TL50 (tiempo en días para llegar a la DL50) de las cepas fluctuaron entre 12,3 días y 14 días. Los TL50 en orden creciente fueron: 12,26; 12,79; 13; 13,8; y 14 días para *B. bassiana* 2, *L. lecanii* 4, *M. anisopliae* 1, *M.anisopliae* 3 y *B.bassiana* 4, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), sin diferencia significativa entre estos. Sin embargo, se distinguieron dos grupos estadísticos, el de más bajo TL50 estuvo conformado por *B. bassiana* 2, *L. lecanii* 4, *M. anisopliae* 1, y el otro por *M. anisopliae* 3 y *B.bassiana* 4 (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

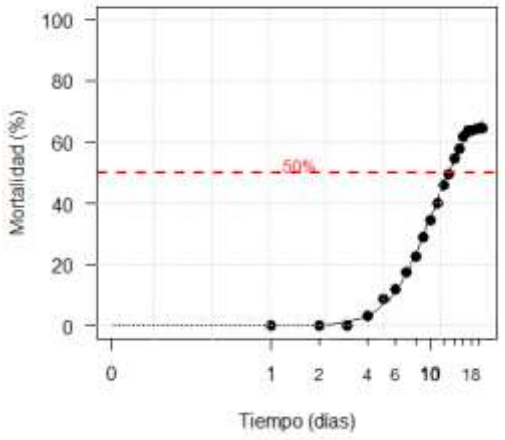
Tabla 10. Tiempo letal medio (TL50) de las cepas de hongos contra ninfas de *F.occidentalis*.

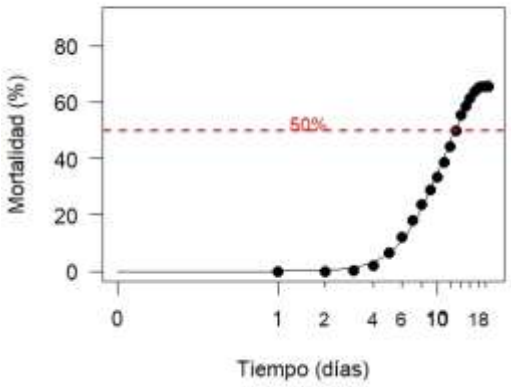
Cepa	**TL50 (días)**	**Grupo estadístico**
B.bassiana 2	12,26	a
L. lecanii 4	12,79	a
M. anisopliae 1	13	a
M. anisopliae 3	13,8	ab
B.bassiana 4	14	ab

En adultos de *F. occidentalis*, los TL50 de las 5 cepas evaluadas fluctuaron entre 12,89 días y 14 días. Los TL50 en orden creciente fueron: 12,89; 12,9; 13,1; 13,16; y 14 días para *B. bassiana* 2, *M. anisopliae* 1, *L. lecanii* 4, *M.anisopliae* 3 y *B.bassiana* 4, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), sin diferencia significativa entre estos. Sin embargo, tal como se dio en ninfas, se distinguieron dos grupos estadísticos, el de más bajo TL50 estuvo conformado por *B. bassiana* 2, *L. lecanii* 4, *M. anisopliae* 1, y el otro por *M. anisopliae* 3 y *B.bassiana* 4 (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

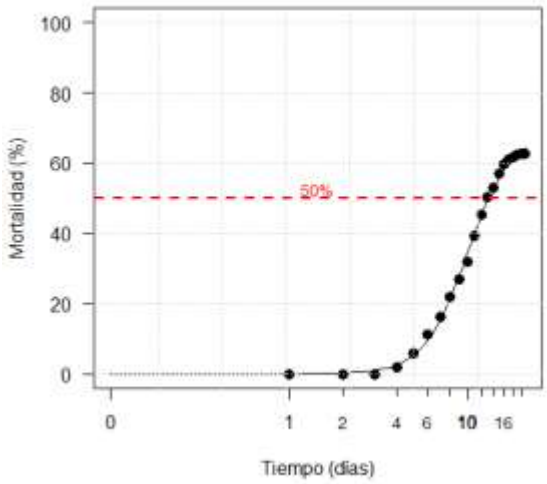
b)

a)

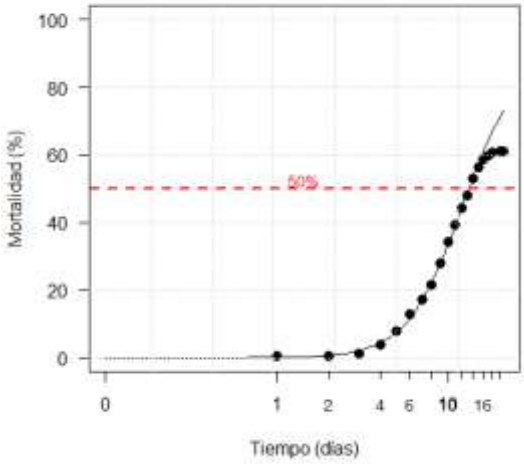

TL50 Beauveria bassiana 2
Mortalidad (%)
50%
Tiempo (días)


TL50 Metarhizium anisopliae 1
Mortalidad (%)
50%
Tiempo (días)

c)


TL50 Lecanicillium lecanii 4
Mortalidad (%)
50%
Tiempo (días)

d)


TL50 Metarhizium anisopliae 3
Mortalidad (%)
50%
Tiempo (días)

e)

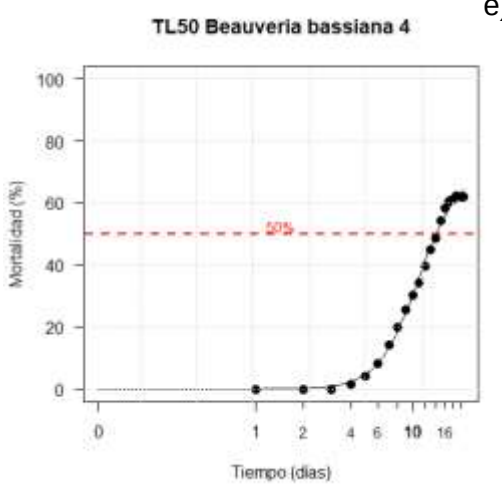


Figura 16. Curvas de mortalidad de adultos de *F.occidentalis* y TL50 de las cepas de los hongos. a) *B.bassiana* 2, b) *M. anisopliae* 1 c), *L. lecanii* 4, d) *M. anisopliae* 3 y e) *B. bassiana* 4.

Tabla 11. Tiempo letal medio (TL50) de las cepas de los hongos contra adultos de *F.occidentalis*

Cepa	**TL50 (días)**	**Grupo estadístico**
B.bassiana 2	12,89	a
M. anisopliae 1	12,9	a
L. lecanii 4	13,1	a
M. anisopliae 3	13,16	a
B.bassiana 4	14	ab

Las gráficas de los modelos del LT50 evidencian que la mortalidad para los dos estados de desarrollo tiene su mayor acumulación entre los días 8 y 18, posteriormente la pendiente disminuye y se alcanzar el porcentaje máximo de mortalidad entre el 80 y 90%.

La diferencia en el tiempo letal medio entre ninfas (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**5 y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) y adultos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**6 y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) fue baja, en promedio para llegar a la mortalidad del 50% de las poblaciones,

los hongos necesitaron un día más en comparación con las ninfas. Sin embargo, un día más de vida de una hembra adulta poniendo huevos aumenta la población de la siguiente generación, en consecuencia, el uso de hongos entomopatógenos se debe enfocar a los primeros estadios de desarrollo y realizar una segunda aplicación cuando se empiecen a encontrarse adultos en campo.

La diferencia encontrada entre la mortalidad y el tiempo de acción de los hongos en los dos estados de desarrollo evaluado se puede explicar por a aspectos biológicos, fisiológicos y de comportamiento de los insectos(Fernández Guagalango, 2020). La cutícula los protege y en estados inmaduros generalmente no está completamente formada o no es tan gruesa como la de los adultos, por lo cual las esporas pueden germinar y penetrar más fácil el integumento del insecto (Vázquez, 2011) (Fernández R. M., 2019) (Wraight, Ramos,, & Sparks, 2001), por otro lado el sistema inmunológico de estados inmaduros no está completamente desarrollado y el hongo puede sobrepasar las defensas del insecto más fácil por medio de sus metabolitos secundarios; por ejemplo, la beauvericina producida por *B. bassiana*, debilita la capacidad de las células inmunológicas del insecto para reconocer y eliminar el hongo, permitiendo una infección más rápida y completa(Fernando et al., 2020b; Jacobson, 1989). La inhibición de las funciones celulares por parte de esta toxina facilita la propagación del hongo dentro del insecto; además, por medio de la inhibición de síntesis de proteínas genera muerte celular, desequilibrios en el sistema nervioso de los insectos y contribuye en gran medida a la muerte de estos(Fernando et al., 2020b). Otro factor que interviene en las defensas de los insectos frente a ataques por hongos entomopatógenos o moleculas de insecticidas es la microbiota, se han reportado algunas bacterias capaces de degradar quitina y algunas moleculas quimicas que estan relacionadas con la resistencia de insectos a plaguicidas, en insectos como *S.frugiperda* se han reportado 10 filotipos de de bacterias capaces de degradar moleculas como deltametrin, algunos clorpirifos,spinosad y lufenuron(De Almeida et al., 2017). En áfidos del guisante *Acyrthosiphon pisum* se encontraron bacterias capaces de degradar el hongo *Pandora neoaphidis*, estas bacterias *Regiella insecticola*, ha mostrado la supervivencia de este afido a aplicaciones con este hongo entomopatógeno. Otras bacterias como Spiroplasma, *Rikettsia* y endosimbiontes como *Rikettsiella* también proporcionan protección frente a infecciones fúngicas a otros géneros de áfidos(Vorburger et al., 2010). Si bien no se han hecho estudios referentes a la microbiota de *F. occidentalis*

los anteriores estudios demuestran que estas asociaciones con bacterias en los insectos pueden mitigar las infecciones por hongos entomopatógenos.

En este ensayo los resultados de todos los hongos en la gran mayoría de concentraciones tuvieron un mejor comportamiento en ninfas que en adultos(Carlos Espinel et al., 2009; Gulzar et al., 2021), significando así que realizar aplicaciones de hongos entomopatógenos en etapas de ninfa puede ser una alternativa de control eficiente en el cultivo de aguacate(Bernal et al., 2020a). Si tenemos en cuenta que este tipo de cultivos al tratarse de frutos para exportaciones principalmente a Estados Unidos y Europa, en donde la residualidad de moléculas químicas no es permitida en frutos por atentar a la salud humana(ICA 2020 &USDA 2016), y que en Colombia también se está restringiendo el uso de moléculas químicas como los neonicotinoides y piretroides, se disminuyen las opciones de los productores para el control de diferentes plagas, por esta razón es necesario encontrar alternativas de control eficientes y amigables con el ambiente.

Los tiempos letales medios encontrados en este ensayo oscilaron entre 12 y 14 días para los dos estados de desarrollo, bastante contrastantes con otros estudios que han reportado TL50 mucho más cortos. Uno de estos estudios reportó que en condiciones de laboratorio, el uso de cepas de *B.bassiana* (SZ16) logró obtener un 96% de mortalidad en adultos de *F. occidentalis* en 4 días a una concentración de $1x10^7$ conidias/ml en contraste con otra cepa del mismo hongo (SDJN-2) que solo causo el 20% de mortalidad en el mismo insecto(Q. Zhang et al., 2025), demostrando que cada cepa tiene una capacidad virulenta diferente y demostrando la importancia de analizar productos comerciales en el mercado para determinar la viabilidad de usar estos productos. En otra investigación realizada en China, se evaluó una cepa de *M. flavoviride* (WSWL51721) contra ninfas de segundo instar de *F.occidentalis* encontrando una mortalidad del 77% y un tiempo letal medio de 2,06 días y de 2,26 días para adultos del mismo insecto trabajando a una concentración de $1,2x10^6$ esporas/ml comparables a la acción de insecticidas como el imidacloprid(Ge et al., 2020), demostrando que es posible que hayan otras especies de *Metarhizium* que puedan ser más eficaces para el control de *F. occidentalis*, que aún no se consiguen comercialmente.

La gran diferencia entre los tiempos letales medios encontrados en literatura (Eski et al., 2022) (Ge et al., 2020)y en el ensayo realizado se atribuye a diferencias en la metodología, en los ensayos de Shengyonget al. y(Wu et al., 2017), la aplicación de los hongos

entomopatógenos se realizó sumergiendo los insectos en solucion por 30 segundos, garantizando asi contacto de las esporas en todo el cuerpo del insecto facilitando la adhesion y penetracion de las esporas posteriormente. Efectivamente, en un ensayo que se realizo en el Oriente Antioqueño cen inmersión de los insectos a soluciones con *Lecanicillium* sp. y para *Metarhizium* sp, los LT50 fueron muy reducidos, de 2,8 y 2,4 días, respectivamente, contra trips del género *Frankliniella* sp

En el ensayo realizado en esta investigación el método de aplicación fue por aspersion simulando mejor las condiciones de campo. En una investigación realizada bajo condiciones de campo, se hicieron aspersiones de *Lecanicillium* sp y *B. bassiana* a una concentración de $1x10^5$ conidias/ml, con mortalidades cercanas al 50% después de ocho días de evaluación (Restrepo & Arango, 2015). En otros ensayos de campo, usando cepas de *B. bassiana* a concentraciones de $1x10^5$ conidias/ml asperjadas a plantas de pepino (*Cucumis sativus*) se obtuvieron controles de *F.occidentalis* del 57% después de 21 días de aplicación (Mendoza & Toledo, 2019). Estos resultados son comparables con los obtenidos con el tiempo letal medio de 13 días hallados en esta investigación.

En el manejo integrado de plagas es importante seleccionar productos que puedan controlar los insectos en el menor tiempo posible(Fernando et al., 2020a). En este estudio los TL50 de las cepas estuvieron entre 12 y 14 días, sin diferencia significativa entre estas. En este tiempo una ninfa de *F. occidentalis* puede pasar al siguiente estado de desarrollo, por lo cual es importante reducir sus poblaciones teniendo concentraciones como las DL50 entre $1x10^4$ y $1x10^5$ esporas/ml.
Los modelos evidenciaron una relación directa entre concentración y mortalidad, por lo cual, al aumentar la dosis de los productos comerciales a los valores sugeridos, y muy por encima de las DL50 halladas en esta investigación, se debería tener un efecto considerable, tanto en la mortalidad de individuos como en el tiempo de acción del hongo(Ugine et al., 2005).

El conocimiento de la biología y ecología del insecto es fundamental para el manejo integrado. Las ninfas y adultos de *F. occidentalis* se encuentran en el follaje de los árboles, mientras que las prepupas y pupas en el suelo. Con la evaluación de 36 cepas de hongos entomopatógenos a una DL50 de $1x10^7$ esporas/ml se encontró que para *B. bassiana* y *M.*

anisopliae los tiempos letales medios variaron entre 3,5 y 4,2 días para estados ninfales y 4,40 y 5,27 días para estados adultos de *F.occidentalis(Sengonca et al., 2006)*, esta diferencia de un día para cada estado de desarrollo es similar a la encontrada en esta investigación evidenciando que los hongos entomopatógenos afectan en menor tiempo los primeros estados de desarrollo de los insectos. Los resultados de esta investigación sugieren que las aplicaciones de los hongos serían más eficientes si se dirigen a las ninfas. Los hongos entomopatógenos dependen de la velocidad de propagación dentro del huésped para completar su ciclo, las etapas más jóvenes suelen morir antes, permitiendo que los hongos puedan esporular y dispersarse más rápidamente(Abalo et al., 2022) (Zakhary, 1996). La acción de los hongos entomopatógenos es más rápida en los primeros estados de desarrollo.

Los hongos entomopatógenos son una gran alternativa para el manejo integrado de plagas y se ha comprobado que en conjunto con otros enemigos naturales como los depredadores (Castillo & Rodriguez, 2021)(Vázquez, 2011)(Castillo & Rodriguez, 2021). El uso de ácaros depredadores de la especie *Amblyseius swirskii* en conjunto con *B. bassiana* reporto una reducción del 85 y 73% de ninfas y adulto de *F.occidentalis*, respectivamente(Castillo & Rodriguez, 2021).

3.4 Actividad antialimentaria de extractos vegetales en condiciones de preferencia: evaluación de repelencia

La actividad antialimentaria de extractos vegetales en condiciones de preferencia, en las cuales el insecto puede seleccionar entre el alimento con tratamiento (con el extracto) y sin tratamiento (con agua destilada), es un indicativo de la repelencia que puede ocasionar un compuesto. Los resultados de los extractos vegetales evaluados, Alisín (ají-ajo), Capsialil (ají-ajo), Sáfer SL (asteráceas), Rutinal (ruda) y Bioneem (neem), evidenciaron que los cinco extractos tienen propiedades repelentes de moderada a alta, tanto para ninfas como para adultos de *F. occidentalis*.

En el bioensayo con ninfas, utilizando las dosis recomendadas de cada producto comercial, se encontró que el mejor extracto fue Alisín, con una diferencia significativa frente a los demás productos, seguido por Capsialil y Rutinal, en un grupo estadístico intermedios y, finalmente por los extractos de Sáfer SL y Bioneem, en un grupo con la menor acción repelente. Sin embargo, estos últimos tratamientos tuvieron un índice de repelencia media.

En el bioensayo se encontró que las ninfas prefirieron en un 82% más los pétalos tratados con agua destilada, hacía los cuales se desplazaron, que a los pétalos tratados con Alisín; seguidamente en un 81; 75; 68,8; y 66% a los pétalos con agua, que a los tratados con Rutinal, Capsialil (ají-ajo de otra casa comercial), Bioneem; y Sáfer SL, respectivamente. En algunos casos, una muy pequeña cantidad de ninfas no se movió de la caja de Petry central, ni hacia los pétalos sin tratar o tratados (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

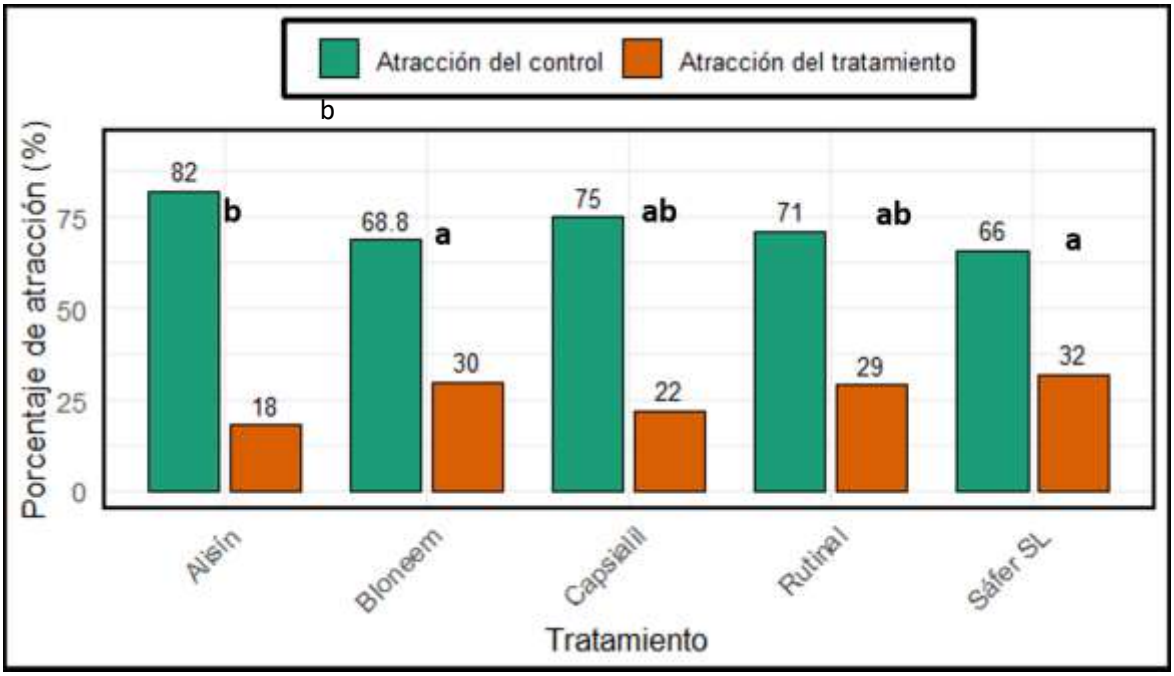


Figura 17. Porcentaje de atracción de los extractos vegetales Alisín, Capsialil, Rutinal, Bioneem y Sáfer SL a ninfas de *F. occidentalis.*

Con los porcentajes de atracción de cada extracto vegetal se obtuvo su índice de repelencia. En la Tabla 10 se detallan los índices de repelencia de cada extracto, con su respectiva categorización, a ninfas de *F. occidentalis*. Los valores cercanos a cero indican una repelencia muy alta y los cercanos a uno una repelencia débil o nula. Los extractos Alisín y Capsialil tuvieron una repelencia alta con un índice de 0,37 y 0,47, respectivamente; seguido de Rutinal, Bioneem y Sáfer SL, con una repelencia moderada, de 0,58; 0,6; y 0,62, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 12. Índice de Repelencia de extractos vegetales a ninfas de *F. occidentalis.*

Producto	**índice de Repelencia**	**Categoría**	**Grupos**
Alisín	0,37	Repelencia Alta	b
Capsialil	0,45	Repelencia Alta	ab
Rutinal	0,58	Repelencia moderada	ab
Bioneem	0,6	Repelencia moderada	a
Sáfer SL	0,65	Repelencia moderada	a

La repelencia en adultos, utilizando las dosis recomendadas por cada casa comercial, fue similar a la repelencia encontrada para las ninfas. En su orden los mejores extractos fueron: Alisín y Capsialil, con una repelencia alta, seguidos por Rutinal, Bioneem y Sáfer con repelencia moderada. Los adultos prefirieron desplazarse en un 86 % más hacia los pétalos con agua que a los tratados con Alisín; seguido de un 77,2 % para Capsialil; 74 % para Rutinal y 73,6 Bioneem y Sáfer SL, respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

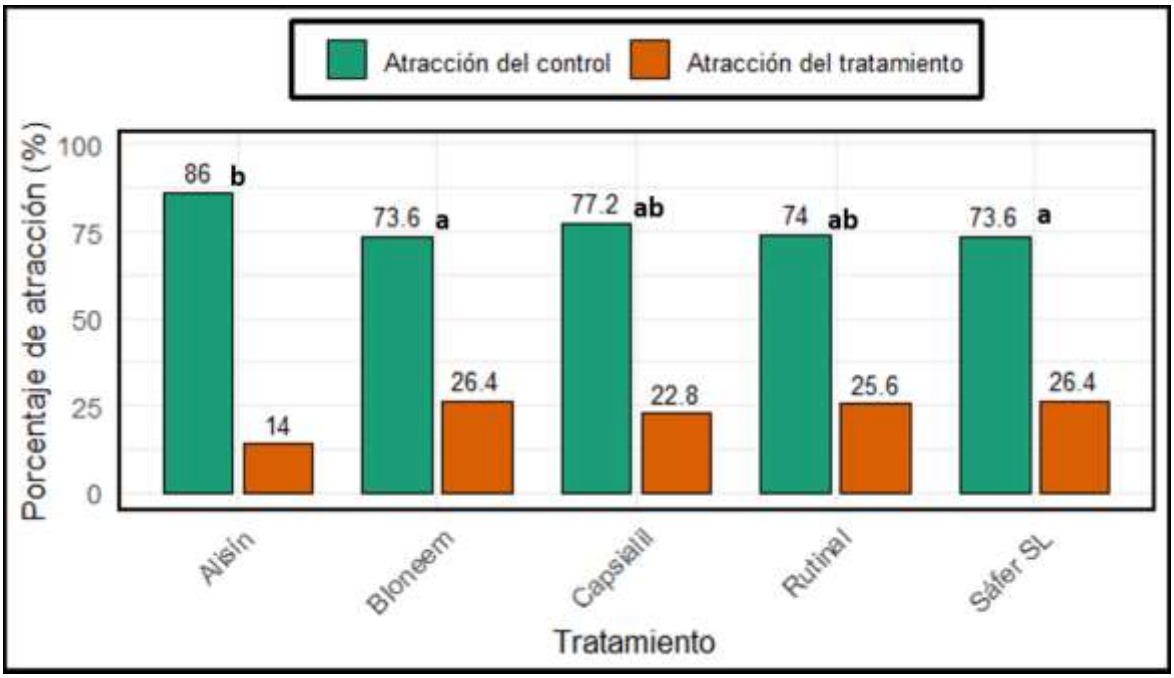


Figura 18. Porcentaje de atracción de los extractos vegetales Alisín, Capsialil, Rutinal, Bioneem y Sáfer SL a adultos de *F. occidentalis*.

Estadísticamente se diferenciaron tres grupos, el primero con el producto Alisín con repelencia alta y mejor índice de repelencia (IR= 0,29); seguido del grupo conformado por Capsialil y Rutinal (con IR de 0,46 y 0,51, respectivamente), que a pesar de estar en el mismo grupo estadístico, el primero tuvo repelencia alta y el segundo moderada, Finalmente, el otro grupo con los extractos Bioneem y Sáfer SL (con IR de 0,53 y 0,54, respectivamente), con repelencia moderada (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 13. Índice de Repelencia de extractos vegetales a adultos de *F. occidentalis*

Producto	índice de Repelencia	Categoría	Grupos
Alisín	0,29	Repelencia Alta	b
Capsialil	0,46	Repelencia Alta	ab
Rutinal	0,51	Repelencia moderada	ab
Bioneem	0,53	Repelencia moderada	a
Sáfer SL	0,54	Repelencia moderada	a

Los estudios de repelencia por extractos vegetales a *F. occidentalis* son pocos. En la evaluación de extracto de mole se reportó un índice de repelencia de 0, muy alta, a *F. occidentalis*. Sin embargo, con la disminución de su concentración el índice llegó a 0,95, que indicó repelencia nula (Bravo, 2019). Esto sugiere que la concentración del extracto determina el nivel de repelencia (Arias, y otros, 2017). En esta investigación se utilizaron las dosis recomendadas para campo por cada casa comercial, y los resultados confirmaron la capacidad repelente de todos los extractos vegetales, destacándose los dos extractos de ají-ajo.

El nivel de repelencia de macerados de crisantemo y extracto de semillas de neem contra la mosca blanca, *Bemisia tabaci*, en cultivos de pimiento (*Capsicum annuum*) indicó que los individuos repelieron las plantas tratadas con los dos extractos, con diferencia significativa con el control (Matamoros, 2022). A los 90 días de aplicación, se encontraron 4,8, 8,8 y 20 ninfas en las plantas con el extracto de neem, crisantemo y control, respectivamente. En este caso el extracto de neem fue un gran repelente, seguido del crisantemo contra *B. tabaci*; en esta investigación Rutinal y Bioneem tuvieron una repelencia moderada para ninfas y adultos de *F. occidentalis.* El nivel de repelencia de un extracto depende del insecto o especie plaga. Los resultados confirman que los extractos de asteráceas y de neem sí actúan como repelentes y son una alternativa limpia para la protección de los cultivos y del ambiente(Carpinel & Palacios, 2014).

El efecto repelente de los extractos de ají-ajo, ruda-margarita rastrera, y manzanilla (asterácea) contra el Aleyrodidae *Aleurotrachelus socialis* en el cultivo de yuca tuvo diferencias significativas con el control; se encontraron 26, 30, 32 y 124 adultos del insecto, en las plantas con los extractos de manzanilla, ají-ajo, ruda, y control, respectivamente (Perdomo & Pineda, 2015). Estos resultados confirman la actividad repelente del ají-ajo y de la ruda encontrada en esta investigación contra *F. occidentalis*.

La composición de los ingredientes activos es determinante en la repelencia de los extractos. Los resultados obtenidos en este estudio no mostraron diferencia significativa entre los dos extractos de ají-ajo, con los mismos ingredientes activos, Alisín y Capsialil, sin embargo, el producto Alisín tuvo un mayor efecto repelente, y se ubicó en un grupo diferente tanto en ninfas como adultos, por lo cual otros factores de la formulación, como

el método de extracción y la concentración de estas moléculas, influye en la eficacia del producto frente a un insecto. La ficha técnica de Alisín indica que tiene un periodo de reentrada (tiempo que debe transcurrir entre una aplicación de un plaguicida y el ingreso al área sin riesgos para la salud humana) de solo 2 horas, mientras que el producto Capsialil de 12 horas. En cultivos como el aguacate, dependientes de labores culturales como podas, control de arvenses, fertilización y cosecha, el tiempo de reentrada puede ser un factor determinante para seleccionar un producto, por lo tanto el producto Alisín presenta una ventaja sobre el Capsialil y a estos dos con relación a los insecticidas.

En esta investigación los extractos vegetales tuvieron un mayor efecto repelente (menor índice de repelencia) contra adultos de *F. occidentalis* que contra ninfas de instar II. Esto seguramente se explica desde el punto de vista biológico y comportamental. Los adultos de *F. occidentalis* poseen mayor densidad y diversidad de receptores olfativos que las ninfas, por lo cual tienen mayor capacidad de percibir los compuestos volátiles de los extractos vegetales(Bravo, 2019). Adicionalmente, son mucho más móviles que las ninfas; deben encontrar mejores fuentes de alimento y refugio con el fin de proveer las mejores condiciones para su descendencia, mientras que las ninfas suelen establecerse en los lugares inmediatos o cercanos a la eclosión del huevo (Bravo, 2019). Los trips, principalmente los adultos, además de savia se pueden alimentar de polen, de manera que buscan hábitats mejores y más variados para alcanzar un clímax poblacional(Rodas & Calle, 2016)(Espinosa et al., 2005).

En esta investigación se encontró el mayor efecto repelente con los dos extractos de ají-ajo, atribuidos a los capsaicinoides, específicamente a la capsaicina del ají y a la alicina del ajo, que pueden ser irritantes para muchos animales, incluidos los insectos, que afectan los receptores nerviosos asociados con el dolor y la irritación, pero también pueden alterar la capacidad olfativa del insecto al bloquear o sobresaturar los receptores químicos olfativos(G. Silva et al., 2002). La alicina puede actuar como un disruptor olfativo para los insectos, confundiendo sus señales químicas y dificultando la detección de alimentos, parejas, o lugares de oviposición(G. Silva et al., 2002). Los demás productos estudiados, Rutinal (extracto de ruda), Sáfer SL (extracto de asteráceas), y Bioneem (extracto de neem) también exhibieron propiedades repelentes. Las furocumarinas, flavonoides y alcaloides de la ruda afectan la actividad nerviosa de los insectos(Á. Celis et al., 2008). Los terpenos, como piretrinas orgánicas (de extractos de asteráceas), son alcaloides que

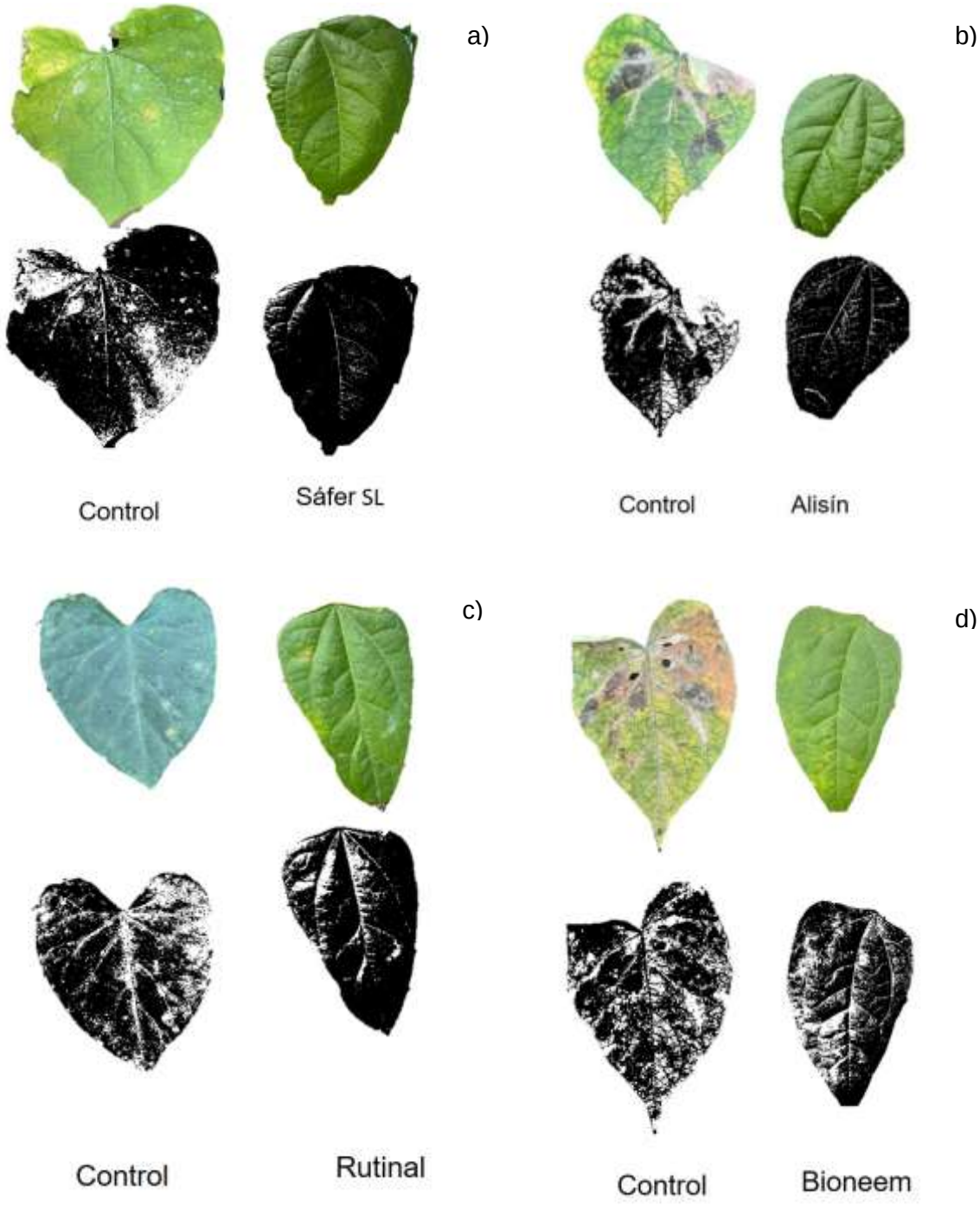
bloquean los canales de sodio del sistema nervioso, causan parálisis y pueden conducir a la muerte del insecto; además, emiten olores que funcionan como repelentes e incluso pueden tener efectos alelopáticos frente a otras especies de plantas como malezas(Gil & Casas, 2023). La azadiractina, nimbina y salanina que se encuentran en el neem, interfieren con los receptores que controlan el apetito de los insectos e inhiben las síntesis de ecdisoma, hormona encargada de regular la muda y el desarrollo de los insectos(Matamoros & Ileer, 2022).

Teniendo en cuenta que todos los extractos evaluados en esta investigación tuvieron un efecto repelente, se recomienda su uso dentro de un programa de manejo integrado de *F. occidentalis* en aguacate, con rotaciones de los extractos para limitar la capacidad del insecto de adaptarse a una molécula especifica.

3.5 Actividad antialimentaria de extractos vegetales en condiciones de no preferencia: Evaluación de la inhibición alimentaria.

Los extractos vegetales pueden causar mortalidad directa, repelencia, y/ o inhibir la alimentación del insecto. En los bioensayos de no preferencia los insectos no tienen la posibilidad de elegir el alimento, por lo tanto, permiten evaluar la capacidad antialimentaria de un producto.

Los ensayos de inhibición de la alimentación se han hecho básicamente para insectos defoliadores, por la facilidad de calcular el área foliar consumida, después de aplicado el tratamiento. *F. occidentalis* es un insecto chupador. Por lo tanto, en esta investigación la inhibición de la alimentación se estimó a partir de un mapa de calor en escala de grises del área foliar, producto del cambio en la coloración por el alto consumo de savia en las hojas no tratadas (control) con relación a las tratadas con extractos vegetales (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).


a)
Control
Sáfer SL
b)
Control
Alisín
c)
Control
Rutinal
d)
Control
Bioneem

e)

Figura 19. Fotografías del área foliar de las hojas de frijol con daño por la alimentación por ninfas de *F. occidentalis*. sin aplicación (izquierda) con aplicación del extracto vegetal (derecha): a) Sáfer SL (extracto de asteráceas), b) Alisín (extracto de ají-ajo), c) Rutinal (extracto de ruda), d) Bioneem (extracto de neem) y e) Capsialil (extracto de ají-ajo).

El análisis de los datos de la relación entre el porcentaje de área foliar consumido con tratamiento y sin tratamiento (agua destilada), evidencio que todos los extractos estudiados tuvieron un afecto antialimentario contra las ninfas de *F. occidentalis* (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y 15). Sáfer SL fue el producto que causo la mayor inhibición de la alimentación, con diferencia estadística frente a los demás tratamientos, solo el 22,6 % del área foliar fue dañada en contraste al 94,66 % del área dañada en la hoja sin tratamiento. Seguidamente, y en orden decreciente, los mejores productos fueron: Alisín, Rutinal, Bioneem y Capsialil, con un porcentaje de área foliar dañado de 30, 31, 39 y 52,3%, respectivamente. Estadísticamente, se diferenciaron cuatro grupos, el primero conformado por Sáfer SL, el segundo por Alisín y Rutinal, el tercero por Bioneem y el cuarto por Capsialil; todos presentaron diferencia significativa con respecto al control (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 14. Porcentaje de daño causado por ninfas de *F.occidentalis* en hojas de frijol, sin o con tratamiento de extractos vegetales.

Extracto evaluado	Producto comercial	Daño área foliar control(%)	Daño área foliar tratada(%)	Grupo estadístico

Asteráceas	Sáfer SL	94,66	22,67	a
Ají-ajo	Alisín	92,36	30	b
Ruda	Rutinal	91,33	31	b
Neem	Bioneem	93	39	bc
Ají-ajo	Capsialil	93,33	52,33	c

A partir de la relación entre el porcentaje de área foliar con daño, con y sin tratamiento, de cada producto comercial (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), se calculó el índice de inhibición alimentaria (IIA, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Todos los productos mostraron diferencia significativa con respecto al control. El producto Sáfer SL, con extracto de asteráceas, tuvo el índice anti alimentario más alto, de 76,1%, con una diferencia significativa frente a los demás tratamientos evaluados; seguido por Alisín, Rutinal, Bioneem y Capsialil con IIA de 67,5, 66,1, 58,1 y 43,9%, respectivamente. Estadísticamente, se diferenciaron cuatro grupos, el primero conformado por Sáfer SL, el segundo por Alisín y Rutinal, el tercero por Bioneem y el cuarto por Capsialil; todos presentaron diferencia significativa con respecto al control (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabla 15. Índice de inhibición alimentario (IIA) a ninfas de *F. occidentalis* por productos comerciales a base de extractos vegetales.

Producto comercial	Extracto vegetal	índice inhibición alimentaria(%)	Grupos estadísticos
Sáfer SL	Asteráceas	76,1	a
Alisín	Ají-ajo	67,5	b
Rutinal	Ruda	66,1	b
Bioneem	Neem	58,1	bc
Capsialil	Ají-ajo	43,9	c

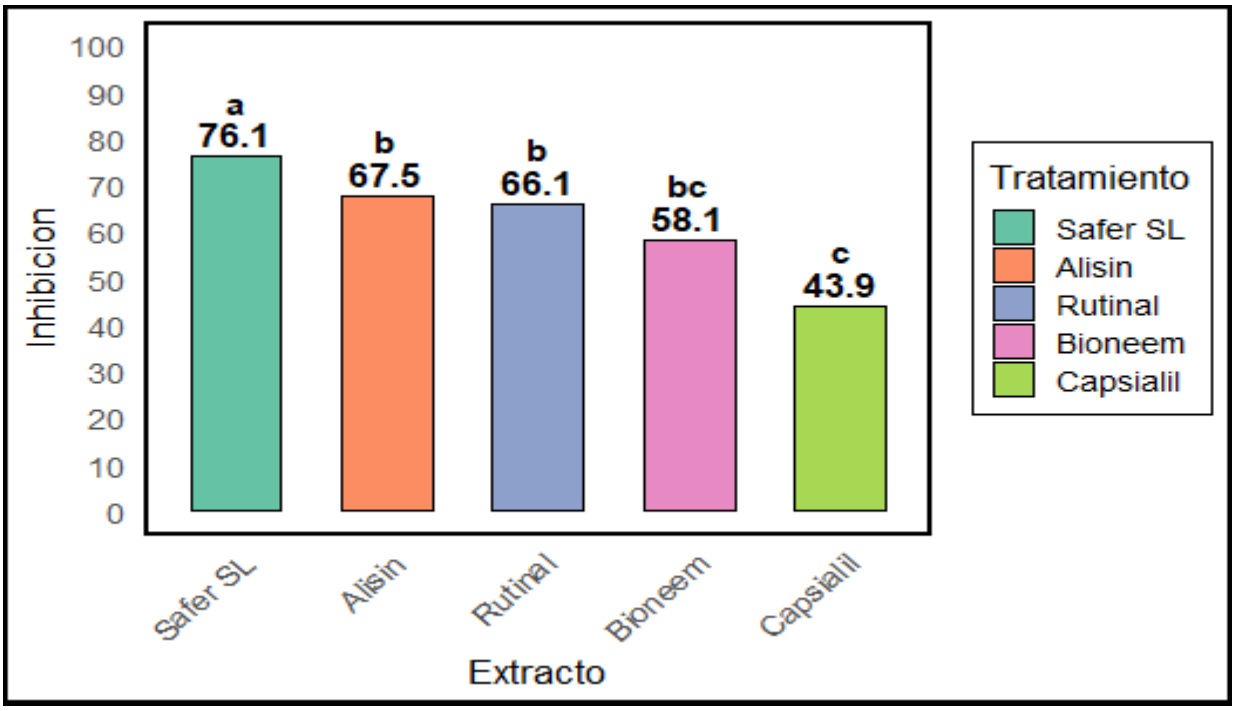


Figura 20. Índice de inhibición alimentario a ninfas de *F. occidentalis*, de los productos a base de extractos vegetales: Sáfer SL, Alisín, Rutinal, Bioneem y Capsialil.

El éxito de los extracto de asteráceas, como Sáfer SL, se debe a la combinación de metabolitos secundarios, como las piretrinas y el ácido crisantémico, que al afecta los canales de sodio y potasio, afectan el sistema nervioso, la alimentación, hasta la parálisis del individuo(A. Celis et al., 2009) Además, las asteráceas poseen flavonoides, que actúan como estimulantes negativos, llevando al rechazo de las hojas tratadas con estas moléculas(Stefanazzi et al., 2019); sesquiterpenos que al unirse a proteínas enzimáticas como las hidrolasas digestivas, inhiben la digestión. En conjunto, estos metabolitos modifican las señales químicas, percibidas por las antenas y las piezas bucales.

Los resultados indicaron que todos los extractos evaluados tuvieron actividad de repelencia y de inhibición alimentaria, con diferencia significativa con respecto al control, lo cual soporta una doble acción protectora frente a la plaga. Llama la atención los resultados contrastantes en algunos casos. El producto Sáfer SL, tuvo la menor repelencia (índice más alto, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), pero el mayor índice de inhibición alimentaria. Esto sugeriría que, aunque los insectos no son repelidos

por el producto, y por lo tanto se podrían observar altas poblaciones en campo, dejarían o evitarían alimentarse, lo que finalmente llevaría a su reducción. Por otro lado, Capsialil tuvo el segundo mejor índice de repelencia, pero el menor índice de inhibición alimentaria. Alisín, en cambio, indujo la mayor repelencia y fue el segundo en mayor inhibición alimentaria, por lo cual podría tener la mayor efectividad en campo. Las diferencias en los resultados de Capsialil y Alisín, ambos a base de ají-ajo, quizás se expliquen por las concentraciones del ají-ajo y/o por sus formulaciones; la ficha técnica de los dos productos indica actividad repelente y antialimentaria, que efectivamente se confirmó. Sin embargo, Capsialil tiene una concentración de extractos de plantas de la familia Liliaceae del 54,2%, y de la familia Solanaceae del 43,4% y 2,4 de materiales inertes; pero Alisín tiene mayores concentraciones de las dos extractos, ajo (Liliaceae) y de ají (Solanaceae), y otros ingredientes activos como limoneno, acido nicotínico, carotenoides y disulfuro de alilo. El limoneno se ha estudiado como una molécula promisoria con efectos antialimentarios contra *Aonidiella aurantii,* que afecta los cítricos en california(H. Lin et al., 2024).

Para *F. occidentalis* y trips en general no hay estudios de actividad antialimentaria de extractos vegetales o de otros productos sintéticos, seguramente por su hábito de alimentación como insecto chupador de savia, por lo tanto, la metodología utilizada en esta investigación no se había utilizado antes. La gran mayoría de estudios han sido dirigidos a insectos masticadores, por la facilidad para calcular el porcentaje de área foliar consumida. De manera que la actividad antialimentaria de semillas de neem se ha reportado contra *Spodoptera exigua*, con 64% de inhibición de actividad alimentaria en condiciones de laboratorio; además extractos de piperáceas alcanzaron un 87 y 95% de inhibición de la alimentación(Delgado; et al., 2012). El extracto de Neem se ha reportado con un efecto anti alimentario hasta del 100% contra *S. frugiperd*a(Capataz Tafur et al., 2007). El neem, si bien ha sido uno de los más estudiados y recomendados por sus propiedades antialimentarias puede ser superado por otros extractos vegetales, tal como ha señalado Delgado, y otros 2012. Efectivamente, en esta investigación el extracto de neem fue el cuarto producto tanto en repelencia como en actividad antialimentaria. Es importante resaltar que la actividad puede variar con la concentración del ingrediente activo y la formulación; y también con el estado de desarrollo del insecto y la especie como tal. Los extractos de *Eucalyptus globulus, Jatropha curcas, Petiveria alliacea, Ricinus communis y Ruta graveolens*, han arrojado índices antialimentarios entre el 71-76% contra larvas de segundo y tercer instar de *S. frugiperda(Delgado ; et al., 2012)*. Estos resultados se

pueden comparar con los obtenidos en esta investigación, en donde el índice de Inhibición alimentaria alcanzado por el extracto de asteráceas (Sáfer SL) alcanzo un 74,5%, el más alto de todos los extractos evaluados, aunque los resultados con *Spodoptera* sp.(Barreto1; et al., 2012) se obtuvieron con formulaciones de laboratorio y los de esta investigación con los productos comerciales disponibles para el agricultor y a las dosis recomendadas por el productor(Capataz Tafur et al., 2007; Rossetti et al., 2008).

En Argentina se evaluó el efecto antialimentario de 64 extractos vegetales de diferentes plantas de la familia Asteráceas contra *Epilachna paenulata*, un Coccinaelidae defoliador, y *Spodoptera frugiperda*, con excelentes resultados para las dos especies; con IIA del 97% al 99% para *E. paenulata* y del 98,6% para *S. frugiperda*, aunque algunos fueron poco efectivos como el extracto de *Lithrea molleoides* con un IIA del 11%(Carpinel & Palacios, 2014). Los extractos vegetales tienen una buena capacidad antialimentaria y se pueden utilizar como táctica de manejo para los estados iniciales de *F.occidentalis*, en los que es más voraz y causa mayor daño a los cultivos(Cárdenas & Corredor, 1989). Algunas investigaciones como la de Capataz et al y la de Bareto 2011se enfocan más en el estudio de la actividad antialimentaria para los estados inmaduros, larvas o ninfas seguramente porque son los más dañinos, causan mayor defoliación por su voracidad y son más susceptibles. En el caso de los trips, las ninfas son menos móviles que los adultos, por lo cual el efecto repelente y/o antialimentario del extracto puede variar. Las ninfas pudrían evidenciar menos efecto repelente que los adultos, y mayor efecto antialimentario. Adicionalmente, los adultos de *F. occidentalis* se alimentan más de polen, por ser una fuente rica en proteínas, lípidos y carbohidratos esenciales para la producción de huevos y la reproducción(Hamilton et al., 2005).

Los resultados de esta investigación confirman que para el manejo integrado de *F. occidentalis* se cuenta con productos a base de hongos entomopatógenos y extractos vegetales eficaces(Carpinel & Palacios, 2014). Los extractos vegetales se pueden usar de manera preventiva porque actúan como repelentes e inhiben la alimentación, al alterar la percepción olfativa y del gusto en los insectos, a su vez son afines y complementarios a los hongos entomopatógenos, que actúan de manera curativa incrementando la mortalidad del insecto, para mantener las poblaciones de la plaga por debajo de un u(Kutas & Nádasy, 2005) pérdidas económicas(Kutas & Nádasy, 2005). El control biológico es una de las tácticas pilares del manejo integrado de plagas, no genera problemas de salud ni de contaminación de aguas, es amigable con el medio ambiente, y evita el uso de moléculas

químicas sintéticas, cada vez más restringidas por su toxicidad y residualidad, por los países a los cuales Colombia exporta el aguacate.

4. Conclusiones

- Todos los productos comerciales ejercieron una actividad biológica importante para el control de *F. occidentalis* en los dos estados de desarrollo evaluados, Los productos Bassar Wp, Sáfermix WP y Tropimezcla tienen los hongos más eficientes para el control del insecto. Bassar está constituido solo por *B. bassiana*, que indujo un 86% de mortalidad, la más alta. Sáfermix es una mezcla de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii*, con mortalidades del 84, 83 y 76%, respetivamente. Tropimezcla contiene *M. anisopliae*, con mortalidades de 66% y *B.bassiana* con una mortalidad del 55 %.
- Los hongos entomopatógenos de productos comerciales con B.*bassiana*, *M. anisopliae* y *L.lecanii* en concentraciones del orden de $1x10^5$esporas/ml son eficientes para reducir las poblaciones de *F.occidentalis* en estados de ninfa y adulto
- Las dosis sugeridas por los diferentes productos comerciales ($1\ x10^8$ esporas/ ml) son eficientes para el control de *F. occidentalis* y el tiempo de acción tiende a ser de entre 8 y 15 días para obtener unas altas mortalidades con una sola aplicación.
- Los extractos de Ají-ajo tienen la mayor capacidad de repelencia, sin embargo, los extractos de ruda, asteráceas y neem que poseen una capacidad de repelencia de buena a media.
- El extracto de Asteráceas tuvo el mejor comportamiento como disuasor alimentario, inhibiendo el consumo de *F.occidentalis* en hojas de frijol, de igual manera los extractos vegetales de ají ajo, ruda y neem tienen capacidades anti alimentarias y se pueden considerar para el manejo integrado del insecto.
- La combinación de bioinsumos como hongos entomopatógenos y extractos vegetales son una alternativa viable para el control de *F. occidentalis* en los estados de desarrollo de Ninfa y adulto, no solo por causar mortalidad en insectos, si no por la capacidad repelente y de inhibición de alimento

5. Bibliografía

Abalo, M., Clara Scorsetti, A., Florencia Vianna, M., Leticia Russo, M., Manuel De Abajo, J., & Alberto Pelizza, S. (2022). *Jour nal of P lant Protection Research Field evaluation of entomopathogenic fungi formulations against Rachiplusia nu (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean crop*. *62*(4), 403–410. https://doi.org/10.24425/jppr.2022.143232

A. Castineras, J.E. Pena, R.Duncan, & L.Osborne. (1996). *View of Potential of Beauveria bassiana and Paecilomyces fumosoroseus (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as Biological Control agents of Thrips palmi (Thysanoptera: Thripidae)*. https://journals.flvc.org/flaent/article/view/74723/72381

Alarcón Utrera, D., Rodríguez-Malaga, R. D., & López-Lima, D. (2024). Los trips: pequeños problemáticos en la agricultura. *Pregones de Ciencia*, *2*, 76–83. https://doi.org/10.25009/PC.V1I2.41

Bravo, A. A. (2019). *Determinación de la actividad insecticida, repelente y antialimentaria del aceite esencial del molle (Schinus molle) en trips (Frankliniella occidentalis)*. http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17084

Alvarez, F. I., & Rengifo, M. P. A. (2020). *Evaluación del nivel de daño economico por thrips(Thysanopetra) en Aguacate"hass"(Perse americana mill.) en Abejorral, Antioquia.*

Analdex. (2023). *Informe exportaciones de aguacate Hass 2023*.

Analdex. (2024). *Informe exportaciones de aguacate Hass 2024 - Analdex - Asociación Nacional de Comercio Exterior*. https://analdex.org/2024/03/18/informe-exportaciones-de-aguacate-hass-2023/

Ansari, M. A., Shah, F. A., Whittaker, M., Prasad, M., & Butt, T. M. (2007). Control of western flower thrips (Frankliniella occidentalis) pupae with Metarhizium anisopliae in peat and peat alternative growing media. *Biological Control*, *40*(3), 293–297. https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2006.12.007

Araceli Manzanarez-Jiménez, L., García-Gutiérrez, C., Rosas-García, N. M., Luna-González, A., & Ortega-Avilés, M. (2022). *Formulaciones Micro Encapsuladas de Metarhizium anisopliae 1 Contra el Gusano Tabacalero 2 Micro Encapsulated Formulations of Metarhizium anisopliae 1 Against Tobacco Budworm 2* (Vol. 47).

Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, *80*, 51–60. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2018.07.027

Arias P, J., Silva A, G., Figueroa C, I., Fischer G, S., Robles-Bermúdez, A., Rodríguez-Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, A., Arias P, J., Silva A, G., Figueroa C, I., Fischer G, S., Robles-Bermúdez, A., Rodríguez-Maciel, J. C., & Lagunes-Tejeda, A. (2017). ACTIVIDAD INSECTICIDA, REPELENTE Y ANTIALIMENTARIA DEL POLVO Y ACEITE ESENCIAL DE FRUTOS DE Schinus molle L. PARA EL CONTROL DE Sitophilus zeamais (Motschulsky). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, *33*(2), 93–104. https://doi.org/10.4067/S0719-38902017005000301

Avila Ybañez, R. N. (2013). *Efecto de Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Isaria fumosorosea, y Lecanicillium lecanii sobre Oiketicus kirbyi "bicho del canasto" en condiciones de laboratorio*. Universidad Nacional de Trujillo. https://hdl.handle.net/20.500.14414/3145

Becerra, V., Paredes, M., Rojo, C., & France, A. (2007). *RAPD and ITS reveal molecular variation of Chilean populations of Beauveria bassiana*.

Bernal-Estrada, J. V.-G. L. C.-V. J. (2017). *FENOLOGÍA DEL AGUACATE CV. HASS PLANTADO EN DIVERSOS AMBIENTES DEL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA, COLOMBIA*.

Bernal, J. A., Cipriano, E., Díaz, A., & Compiladores, D. (2020a). *Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate*.

Bernal, J. A., Cipriano, E., Díaz, A., & Compiladores, D. (2020b). *Manejo del cultivo de aguacate. Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate. . Manual Técnico CORPOICA, Centro de Investigación la Selva. Ríonegro.*

Borror, D. J., Triplehorn, C. A., & Johnson, N. E. (1989). An Introduction to the Study of Insects - Sixth Edition. *Brooks Cole*, 888. https://www.casadellibro.com.co/libro-an-introduction-to-the-study-of-insects-6th-ed/9780030253973/831454

Buitrago, V. I., Muñoz, C. K., Bustos, R. A., & Cantor, F. (2010). *evaluación de Plantas HosPederas Para la Producción del triPs Frankliniella occidentalis (thysanoptera: thripidae) coMo suMinistro de Presas Para sus controladores*.

Calixto, Á., & Claudia, L. (2005). Trips del suborden Terebrantia (Insecta: Thysanoptera) en la Sabana de Bogotá. *Revista Colombiana de Entomología*, *31*(2), 207–213. https://doi.org/10.25100/socolen.v31i2.9446

Camilo, J., Salazar, R., Gómez, M., Carlos, E., Gómez, A., Carlos, B., Ramírez, R., César, M., Campos, E., Darío, A., Maya, J., Jaime, H., Parra, G., Falla, H., Fernando, F., Muñoz, C., Bohórquez, J., Crispín, B., De, V., … Técnico, G. (2008). *Los hongos entomopatógenos en el control de insectos. Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana*.

Capataz Tafur, J., Orozco Sánchez;, F., Vergara Ruiz, R., & Hoyos Sánchez, R. (2007). EFECTO ANTIALIMENTARIO DE LOS EXTRACTOS DE SUSPENSIONES CELULARES DE Azadirachta indica SOBRE Spodoptera frugiperda J. E. Smith EN CONDICIONES DE LABORATORIO. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *60*(1), 3703–3715. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472007000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Carlos Espinel, C., Lissette Torres, T., & Alba Marina Cotes, P. (2009). Efecto de hongos entomopatógenos sobre estados de desarrollo de Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomologia*, *35*(1), 18–21. https://doi.org/10.25100/socolen.v35i1.9183

Carpinel, C., & Palacios, S. M. (2014). *Screening for extracts with insect antifeedant properties in native plants from central Argentina*. www.blacpma.usach.cl

Castañeda, G. E. L., & Johansen, N. R. M. (2011). *Trips Asociados al Aguacate en el Estado de México*.

Castañeda Gonzalez E.L., Ochoa Martínez L., Gonzales Hernandez H., Johansen Naime D., Solis Aguilar J.F., & Bravo Mojica H. (2003). Control quimico de trips en aguacate Cv hass en Coatepec Harinas, Estado de Mexico. *Congreso Mundial de Aguacate*.

Castillo, C. E., Cañizalez, L. M., Valera, R., Godoy, J. C., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2014). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE BEAUVERIA BASSIANA, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO-VENEZUELA MORPHOLOGICAL CHARACTERISATION OF BEAUVERIA BASSIANA ISOLATES FROM DIFFERENT INSECTS IN TRUJILLO STATE, VENEZUELA* (Issue 23).

Castillo, I. I. , & Rodriguez, C. E. (2021). *Evaluación de la efectividad biológica del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana y el ácaro depredador Amblyseius swirskii sobre Frankliniella occidentalis (Pergande) en el cultivo de chile (Capsicum annuum) bajo invernadero*.

Celis, A., Mendoza, C., & Pachón1, M. E. (2009). Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. *Temas Agrarios*, *14*(1), 5–16. https://doi.org/10.21897/RTA.V14I1.1205

Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., & Cuca, L. E. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, *26*(1), 97–106. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Cenes, A. Del, Constanza, M., Madroñero, T., & Trochez González, J. (2023). *Artículo de investigación El mercado del aguacate en Colombia*. https://doi.org/10.19053/01203053.v42.n75.2023.15286

Cristina, C., & Pedro, C. (2004). *Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre "Leptinotarsa decemlineata (Say)(Coleoptera: chrysomelidae) y "Spodoptera exigua (Hübner)(Lepidoptera: noctuidae | DIGITAL.CSIC*. https://digital.csic.es/handle/10261/161051

De Almeida, L. G., De Moraes, L. A. B., Trigo, J. R., Omoto, C., & Cônsoli, F. L. (2017). The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: A potential source for biotechnological exploitation. *PLOS ONE*, *12*(3), e0174754. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0174754

Edgar Armando Aza Alpala. (2023). Factores que intervienen en los procesos de floración, cuajado y fructificación en el aguacate (Persea americana Mill). *Repositorio Universidad de Caldas*, 1–102.

Erika Delgado Barreto1;, Ma. del Rosario García–Mateos, Ma. del Carmen Ybarra–Moncada, César Luna Morales, & Ma. Teresa Martínez–Damián. (2012). *Propiedades entomotóxicas de los extractos vegetales de Azaradichta indica, Piper auritum y Petiveria alliacea para el control de Spodoptera exigua Hübner*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000100004

Eski, A., Biryol, S., Acici, O., & Demir, İ. (2022). Biocontrol of the western conifer seed bug, Leptoglossus occidentalis Heidemann (Heteroptera: Coreidae) using indigenous entomopathogenic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *32*(1). https://doi.org/10.1186/S41938-022-00641-4

Espinosa, P. J., Bielza, P., Contreras, J., & Lacasa, A. (2002). Insecticide resistance in field populations of Frankliniella occidentalis (Pergande) in Murcia (south-east Spain). *Pest Management Science*, *58*(9), 967–971. https://doi.org/10.1002/PS.572

Espinosa, P. J., Contreras, J., Quinto, V., Grávalos, C., Fernández, E., & Bielza, P. (2005). Metabolic mechanisms of insecticide resistance in the western flower thrips, Frankliniella occidentalis (Pergande). *Pest Management Science*, *61*(10), 1009–1015. https://doi.org/10.1002/PS.1069

Estrella Cardenas, & Dario Corredor. (1989). *(PDF) Biología del Trips Frankliniella occidentalis (Pegande) (Thysanoptera: Thripidae) sobre crisantemo Chrysanthemum morifo/ium L. Bajo Condiciones de Laboratorio*. https://www.researchgate.net/publication/318042351_Biologia_del_Trips_Frankliniella_occidentalis_Pegande_Thysanoptera_Thripidae_sobre_crisantemo_Chrysanthemum_morifoium_L_Bajo_Condiciones_de_Laboratorio

FAO. (2003). *Estadísticas | FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. https://www.fao.org/statistics/es

Fernández Guagalango, T. R. (2020). *Evaluación de la aplicación de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae para el control de trips (Frankliniella occidentalis) en rosas*. Quito: UCE. http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/21410

Fernando, C., Jiménez, U., Cardona, J. E., Asesor, C., & Moraes Boldini, J. (2020a). *Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades en aguacate hass (persea americana) en el departamento de Caldas.* http://repository.unad.edu.co/handle/10596/38446

Fernando, C., Jiménez, U., Cardona, J. E., Asesor, C., & Moraes Boldini, J. (2020b). *Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades en aguacate hass (persea americana) en el departamento de Caldas.* http://repository.unad.edu.co/handle/10596/38446

García, D. T., & Pedraza, L. V. (2021). *Control biológico para el manejo de trips (Thysanoptera) en cultivos de Passifloras, en búsqueda de ofrecer un valor agregado a los mercados internacionales.* www.ucundinamarca.edu.co

Ge, W., Du, G., Zhang, L., Li, Z., Xiao, G., & Chen, B. (2020). The Time-Concentration-Mortality Responses of Western Flower Thrips, Frankliniella occidentalis, to the Synergistic Interaction of Entomopathogenic Fungus Metarhizium flavoviride, Insecticides, and Diatomaceous Earth. *Insects*, *11*(2). https://doi.org/10.3390/INSECTS11020093

Gil-Mora, J. E., & Casas-Toribio, S. M. (2023). Aqueous extract of Eucalyptus globulus Labill. in the germination and development of Andean crops: a study of allelopathy in Cusco, Perú. *Revista Forestal Del Perú*, *38*(1), 60–80. https://doi.org/10.21704/rfp.v38i1.1596

Gío-Trujillo, J. A., Cámara-Romero, J. L., Gío-Trujillo, J. A., & Cámara-Romero, J. L. (2023). Efecto repelente de tres extractos vegetales sobre plagas del cultivo de Capsicum Chinense. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, *10*(SPE3). https://doi.org/10.19136/ERA.A10NIII.3614

Giraldo, C. E., Delgado, F., Velez, P., & López, Y. (2001). *Actividad lipolitica y proteolitica de Beauveria bassiana y Metarhizium ... - Google Libros*. https://books.google.com.co/books/about/Actividad_lipolitica_y_proteolitica_de_B.html?id=jCcRkAEACAAJ&redir_esc=y

Gómez, H., Anny, R., Granja, Z., Torres, E., Martín, D. A., Cantoral, T., & Á G I N, P. (2014). *LABORATORIO DE ENTOMOPATÓGENOS SCB-SENASA MANUAL DE PRODUCCIÓN Y USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS*.

Gulzar, S., Wakil, W., & Shapiro-Ilan, D. I. (2021). Combined Effect of Entomopathogens against Thrips tabaci Lindeman (Thysanoptera: Thripidae): Laboratory, Greenhouse and Field Trials. *Insects 2021, Vol. 12, Page 456*, *12*(5), 456. https://doi.org/10.3390/INSECTS12050456

Hamilton, J. G. C., Hall, D. R., & Kirk, W. D. J. (2005). Identification of a male-produced aggregation pheromone in the western flower thrips Frankliniella occidentalis. *Journal of Chemical Ecology*, *31*(6), 1369–1379. https://doi.org/10.1007/S10886-005-1351-Z

Inés, T., & Quiroz, R. (2015). *Aislamiento, identificación y evaluación de hongos entomopatógenos como posibles agentes de control de trips (Thysanoptera: Thripidae) asociados a cultivos de aguacate (Persea americana Miller)*.

Instituto Colombiano Agropecuario ICA. (n.d.). *PLAN DE MONITOREO DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS QUIMICOS EN AGUACATE*.

Iwama, R. E., & Moran, Y. (2023). Origins and diversification of animal innate immune responses against viral infections. *Nature Ecology and Evolution*, *7*(2), 182–193. https://doi.org/10.1038/S41559-022-01951-4

Ixchop Ordóñez, M. E. (2024). *EVALUACIÓN DE CUATRO MÉTODOS DE CONTROL PARA TRIPS (Frankliniella SPP.). EN Garcinia mangostana L. Clusiaceae "MANGOSTÁN", EN FINCA PANAMÁ, AGROPECUARIA ATITLÁN S.A., SANTA BÁRBARA, SUCHITEPÉQUEZ.*

Jacobson, M. (1989). *Jacobson, M. Botanical pesticides. Past, present and future. Insecticide of Plant Origin (Eds. J.T. Arnason, B.J.R. Phlogene and P. Morand). ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC., USA, 387: 1-10.* https://www.sciepub.com/reference/31392

Jaronski, S. T. (2010). Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl*, *55*(1), 159–185. https://doi.org/10.1007/S10526-009-9248-3

Jaronski, S. T. (2022). Mass production of entomopathogenic fungi—state of the art. *Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens*, 317–357. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822106-8.00017-8

José Angel Alfonso Bartoli. (2008). *MANUAL TECNICO DEL CULTIVO DEL AGUACATE HASS (Persea americana L.) Documento elaborado por el Centro de Comunicación Agrícola de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). Septiembre de 2008*. 2–53. www.hondurasag.org

Juana, M. ,Martinez D. J., Gabriel Rivera Martínez, & Raquel Alatorre Rosas. (2018). *"Virulencia de Lecanicillium lecanii sobre poblaciones de M. sachari, afido plaga del sorgo.*

Klocke, J. A., & Kubo, I. (1991). Defense of Plants through Regulation of Insect Feeding Behavior. *The Florida Entomologist*, *74*(1), 18. https://doi.org/10.2307/3495236

Kocacevik, S., Sevim, A., Eroglu, M., Demirbag, Z., & Demir, I. (2015). Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of Beauveria pseudobassiana from Dendroctonus micans (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Entomology*, *139*(5), 381–389. https://doi.org/10.1111/JEN.12181

Kumar, B., & Omkar. (2021). Thrips. *Polyphagous Pests of Crops*, 373–407. https://doi.org/10.1007/978-981-15-8075-8_9

Kutas, J., & Nádasy, M. (2005). Antifeedant effects of several plant extracts on Colorado potato beetle larvae. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *40*(3–4), 355–365. https://doi.org/10.1556/APHYT.40.2005.3-4.17

Lee, S. M., Klocke, J. A., Barnby, M. A., Yamasaki, R. B., & Balandrin, M. F. (1991). *Insecticidal Constituents of Azadirachta indica and Melia azedarach (Meliaceae)* . 293–304. https://doi.org/10.1021/BK-1991-0449.CH019

León-Islas, N. G., Aquino-Torres, E., Espitia-López, J., Rivero-Perez, N., & Madariaga-Navarrete, A. (2025). Extractos de plantas como herramienta potencial en el control de plagas y fitopatógenos en la agricultura. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, *11*(22), 01–07. https://doi.org/10.29057/ICAP.V11I22.14144

Li, J., Xie, J., Zeng, D., Xia, Y., & Peng, G. (2021). Effective control of Frankliniella occidentalis by Metarhizium anisopliae CQMa421 under field conditions. *Journal of Pest Science*, *94*(1), 111–117. https://doi.org/10.1007/S10340-020-01223-9/METRICS

Limón, S. M., Rocha Estrada, A., Antonio, M., Vázquez, A., Guadalupe, M., Mora, S., Patricia, E., & Rincón, P. (2010). *AGUACATE Variedades, Cultivo y Producción en Nuevo León*.

Lin, H., Li, Z., Sun, Y., Zhang, Y., Wang, S., Zhang, Q., Cai, T., Xiang, W., Zeng, C., & Tang, J. (2024). D-Limonene: Promising and Sustainable Natural Bioactive Compound. *Applied Sciences 2024, Vol. 14, Page 4605*, *14*(11), 4605. https://doi.org/10.3390/APP14114605

Lin, Q. cai, Chen, H., Babendreier, D., Zhang, J. ping, Zhang, F., Dai, X. yan, Sun, Z. wen, Shi, Z. peng, Dong, X. lin, Wu, G. an, Yu, Y., Zheng, L., & Zhai, Y. fan. (2021). Improved control of Frankliniella occidentalis on greenhouse pepper through the integration of Orius sauteri and neonicotinoid insecticides. *Journal of Pest Science*, *94*(1), 101–109. https://doi.org/10.1007/S10340-020-01198-7/METRICS

López-López, L., Barrientos-Priego, ; A F, & Ben-Ya'acov, ; A D. (1999). *VARIABILIDAD GENÉTICA DE LOS BANCOS DE GERMOPLASMA DE AGUA-CATE PRESERVADOS EN EL ESTADO DE MÉXICO GENETIC VARIABILITY OF THE AVOCADO GERMPLASM BANKS PRESERVED IN THE STATE OF MEXICO*.

Madrigal Collazo, A. (2003). *Insectos forestales de Colombia. Biología, hábitos, ecología y manejoCultivo de tejidos vegetales*. https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/2064

Maldonado Zamora, F. I., Ramírez Dávila, J. F., Rubí Arriaga, M., Némiga, X. A., Lara Díaz, A. V., Maldonado Zamora, F. I., Ramírez Dávila, J. F., Rubí Arriaga, M., Némiga, X. A., & Lara Díaz, A. V. (2016). Distribución espacial de trips en aguacate en Coatepec Harinas, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *7*(4), 845–856. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000400845&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Matamoros Castro Emely Lizbeth, & Ileer Santos Victor. (2022). *APLICACIÓN DE BIOPREPARADOS PARA LA REPELENCIA DE MOSCA BLANCA (Bemisia tabaci) EN EL CULTIVO DE PIMIENTO (Capsicum annuum) DAULE-GUAYAS*.

Mei-Ying, H., Klocke, J. A., Chiu, S.-F., & Kubo, I. (1993). Response of Five Insect Species to a Botanical Insecticide, Rhodojaponin III. *Journal of Economic Entomology*, *86*(3), 706–711. https://doi.org/10.1093/JEE/86.3.706

Meyling, N. V., & Eilenberg, J. (2007). Ecology of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control*, *43*(2), 145–155. https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2007.07.007

MIn Agricultura. (2013). *BULLETS AGUACATE DEPARTAMENTO DEL VALLE DEL CAUCA Bogotá, Marzo de 2013*.

Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. (2021). *Cadena productiva Aguacate*.

Muñoz, C., Suárez, L. F., & Benavides, M. A. (2008). Caracterización taxonómica de la especie Frankliniella occidentalis (Thisanoptera: Thripidae), plaga del cultivo de rosa para exportación. *INVENTUM*, *3*(4), 89–93. https://doi.org/10.26620/UNIMINUTO.INVENTUM.3.4.2008.89-93

Nicola-Anne Rutkowski, & McNamara, K. (2023). *Los insectos tienen sistemas inmunológicos más complejos de lo que pensábamos | Investigación de la Universidad de Melbourne*. https://pursuit.unimelb.edu.au/articles/insects-have-more-complex-immune-systems-than-we-thought

Nondillo, A., Redaelli, L. R., Pinent, S. M. J., & Botton, M. (2009). Biologia e tabela de vida de fertilidade de Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) em morangueiro. *Revista Brasileira de Entomologia*, *53*(4), 679–683. https://doi.org/10.1590/S0085-56262009000400020

Ortiz-Urquiza, A., & Keyhani, N. O. (2013). Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. *Insects*, *4*(3), 357. https://doi.org/10.3390/INSECTS4030357

Palacios Jaramillo, F., Diaz Castillo, L. C., C., J. I. Z., & Escobar G., J. (1994). Identificación y ciclo de vida de Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en crisantemo (Chrysanthemum morifolium Ramat) en el municipio de Piendamó, departamento del Caucal. *Revista Colombiana de Entomología*, *20*(1), 27–32. https://doi.org/10.25100/socolen.v20i1.9999

Panyasiri, C., Attathom, T., & Poehling, H. M. (2007). Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *114*(6), 278–287. https://doi.org/10.1007/BF03356230/METRICS

Pardey, A. E. B. (2009). Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar Frankliniella occidentalis (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos de espárragos. *Revista Colombiana de Entomologia*, *35*(1), 12–17. https://doi.org/10.25100/socolen.v35i1.9182

Portes, T. de O., Pimentel, I. C., & Zawadneak, M. A. C. (2023). Use and perspective of entomopathogenic fungi biocontrol agents of Asian citrus psyllid (Diaphorina citri): A bibliometric review. *Research, Society and Development*, *12*(12), e109121243984. https://doi.org/10.33448/rsd-v12i12.43984

Ramírez-Gil, J. G., Castañeda-Sánchez, D. A., & Morales-Osorio, J. G. (2017). Production of avocado trees infected with Phytophthora cinnamomi under different management regimes. *Plant Pathology*, *66*(4), 623–632. https://doi.org/10.1111/PPA.12620

Renato, R., & Pilar, L. (2018). *Manejo de plagas en paltos y citricos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias La Cruz*.

Rivera-Martínez, R., Ramírez-Dávila, J. F., Rubí-Arriaga, M., Domínguez-López, A., Acosta-Guadarrama, A. D., & Figueroa-Figueroa, D. K. (2017). Spatial modeling thrips (Insecta: Thysanoptera) in growing avocado (Persea americana). *Revista Colombiana de Entomologia*, *43*(2), 131–140. https://doi.org/10.25100/socolen.v43i2.5933

R.J., B. (1983). New records of thrips in Georgia (Thysanoptera: Terebrantia: Tubulifera). *Journal of the Georgia Entomological Society*, *18*.

Rodas, P. N. J., & Calle, J. O. (2016). *EVALUACIÓN DEL EFECTO CONTROL CAUSADO POR DOS CEPAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE POBLACIONES DE TRIPS (Frankliniella occidentalis) EN PLANTAS DE CRISANTEMO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO*.

Rodríguez-Arrieta, J. A., Cambero-Campos, O. J., González-Hernández, H., Vargas-Martínez, A., Rodríguez-Arrieta, J. A., Cambero-Campos, O. J., González-Hernández, H., & Vargas-Martínez, A. (2023). El género Frankliniella (Thysanoptera: Thripidae) en Persea americana Mill. cv Hass en la región central de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, *34*(3). https://doi.org/10.15517/AM.2023.51360

Rodriguez, Ll., Hernandez-marínez, P., & Escriche, B. (2022). *El sistema inmune de los insectos: algo más complejo que simples barreras*.

Rodríguez-Montero, L., Berrocal-Jiménez, A., Campos-Rodríguez, R., Madriz-Martínez, M., Rodríguez-Montero, L., Berrocal-Jiménez, A., Campos-Rodríguez, R., & Madriz-Martínez, M. (2020). Determinación de la actividad biocida de extractos vegetales para el combate de la mosca blanca Bemisia tabaci (Hemíptera: Aleyrodidae). *Revista Tecnología En Marcha*, *33*(3), 117–129. https://doi.org/10.18845/TM.V33I3.4373

Rossetti, M. R., Defagó, M. T., Carpinella, M. C., Palacios, S. M., & Valladares, G. (2008). *Actividad biológica de extractos de Melia azedarach sobre larvas de Spodoptera eridania (Lepidoptera: Noctuidae) Biological activity of extracts of Melia azedarach on larvae of Spodoptera eridania (Lepidoptera: Noctuidae)*.

SCHOONHOVEN, L. M. (1982). BIOLOGICAL ASPECTS OF ANTIFEEDANTS. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *31*(1), 57–69. https://doi.org/10.1111/J.1570-7458.1982.TB03119.X

Schreiter, G., Butt, T. M., Beckett, A., Vestergaard, S., & Moritz, G. (1994). Invasion and development of Verticillium lecanii in the western flower thrips, Frankliniella occidentalis. *Mycological Research*, *98*(9), 1025–1034. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80429-2

Sengonca, C., Thungrabeab, M., & Blaeser, P. (2006). Potential of different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, *113*(2), 74–80. https://doi.org/10.1007/BF03356162

Silva, E. A., Elison, E. F., Marullo, R., & Lafuente, A. G. (2020). Collecting and sampling methods for thrips. *Measuring Arthropod Biodiversity: A Handbook of Sampling Methods*, 315–337. https://doi.org/10.1007/978-3-030-53226-0_13

Silva, G., Lagunes, A., Rodríguez, J., & Rodríguez, D. (2002). *Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas*. https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6414

Solis, P. Calderon. (2016). *Plan de Manejo de Trips en el cultivo de aguacate hass. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia Tecnologica Agropecuaria de Costa Rica,*.

Stefanazzi, N., Gutierrez, M. M., Stadler, T., Bonini, N. A., Ferrero, A. A., Leal, R., Gral San Martín, P. M., & A Bonini, I.-M.-A. N. (2019). Actividad biológica del aceite esencial de Tagetes terniflora Kunth (Asteraceae) en Tribolium castaneum Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, *32*, 439–447. https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/95179

Subhagan, S. R., & Dhalin, D. (2020). *A review on sucking pest complex of avocado (Persea americana Mill.), Lauraceae*. http://www.entomoljournal.com

Svetlana Gouli, Vladimir V. Gouli, Margaret Skinner, & Bruce Parker. (2008). *Mortality of western flower thrips, Frankliniella occidentalis, under influence of single and mixed fungal inoculations*. https://www.researchgate.net/publication/236612140_Mortality_of_western_flower_thrips_Frankliniella_occidentalis_under_influence_of_single_and_mixed_fungal_inoculations

Tanada, Y., & Kaya, H. K. (2012). Insect pathology. *Insect Pathology*, 1–632. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092625-4.50001-7

Ugine, T. A., Wraight, S. P., Brownbridge, M., & Sanderson, J. P. (2005). Development of a novel bioassay for estimation of median lethal concentrations (LC50) and doses (LD50) of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana, against western flower thrips, Frankliniella occidentalis. *Journal of Invertebrate Pathology*, *89*(3), 210–218. https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.05.010

United States Department of Agriculture, & Service Plant Protection and Quarantine. (n.d.). *APHIS-2016-0022-0003_content*.

Van Driesche. (2023). *Trips occidentales de las flores | Investigación en control biológico aplicado*. https://biocontrol.ucr.edu/western-flower-thrips

Vázquez, L. L. (2011). *Manejo de epizootias por hongos entomopatógenos*. https://www.researchgate.net/publication/274312652

Vorburger, C., Gehrer, L., & Rodriguez, P. (2010). A strain of the bacterial symbiont Regiella insecticola protects aphids against parasitoids. *Biology Letters*, *6*(1), 109–111. https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0642

Wraight, S. P., Ugine, T. A., Ramos, M. E., & Sanderson, J. P. (2016). Efficacy of spray applications of entomopathogenic fungi against western flower thrips infesting greenhouse impatiens under variable moisture conditions. *Biological Control*, *97*, 31–47. https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2016.02.016

Wu, S., He, Z., Wang, E., Xu, X., & Lei, Z. (2017). Application of Beauveria bassiana and Neoseiulus barkeri for improved control of Frankliniella occidentalis in greenhouse cucumber. *Crop Protection*, *96*, 83–87. https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2017.01.013

Yuan, J., Zheng, X., Wang, J., Qian, K., Feng, J., Zhang, Y., Zhang, K., Zhang, Y., Liang, P., & Wu, Q. (2023). Insecticide resistance of western flower thrips, Frankliniella occidentalis (Pergande) in China. *Crop Protection*, *172*. https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2023.106339

Zahn, D. K., & Morse, J. G. (2013). Investigating alternatives to traditional insecticides: effectiveness of entomopathogenic fungi and Bacillus thuringiensis against citrus thrips and avocado thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology*, *106*(1), 64–72. https://doi.org/10.1603/EC10441

Zhang, Q., Wang, D., Liu, S., Reitz, S., Wang, H., & Lyu, B. (2025). Reproductive disruption induced by Beauveria bassiana in Frankliniella occidentalis as a potential long-term biocontrol strategy. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *212*, 106464. https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2025.106464

Zhang, Z., Zheng, C., Keyhani, N. O., Gao, Y., Wang, J., Zhang, Z. ;, Zheng, C. ;, Keyhani, N. O. ;, Gao, Y. ;, & Wang, J. (2021). Infection of the Western Flower Thrips, Frankliniella occidentalis, by the Insect Pathogenic Fungus Beauveria bassiana. *Agronomy 2021, Vol. 11, Page 1910*, *11*(10), 1910. https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11101910

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Beauveria brongniartii. *Biocontrol Science and Technology*, *17*(6), 553–596. https://doi.org/10.1080/09583150701309006