

Agronomía Costarricense

ISSN: 0377-9424

Universidad de Costa Rica. Colegio de Ingenieros y Agrónomos. Ministerio de Agricultura y Ganadería

Mendoza-Léon, David; Dobronski-Arcos, Jorge; Vásquez-Freytez, Carlos; Frutos-Pinto, Vanessa; Paredes-Carreño, Sara
Control de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)
con *Bacillus subtilis* en hojas de fresa (*Fragaria vesca*)
Agronomía Costarricense, vol. 43, núm. 1, 2019, Enero-Junio, pp. 125-133
Universidad de Costa Rica. Colegio de Ingenieros y Agrónomos. Ministerio de Agricultura y Ganadería

DOI: https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35676

Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43659698009



- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org



Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso

Nota técnica

CONTROL DE Tetranychus urticae KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) CON Bacillus subtilis EN HOJAS DE FRESA (Fragaria vesca)

David Mendoza-Léon^{1/*}, Jorge Dobronski-Arcos^{*}, Carlos Vásquez-Freytez^{*}, Vanessa Frutos-Pinto^{*}, Sara Paredes-Carreño^{*}

Palabras clave: Ácaros; microorganismos benéficos; control biológico; mortalidad. Keywords: Mites; beneficial microorganisms; biologic control; mortality.

Recibido: 21/06/18 **Aceptado:** 28/08/18

RESUMEN

ABSTRACT

En Ecuador se han reportado pérdidas entre 60 y 80% ocasionadas por la alimentación de Tetranychus urticae en plantas de fresa, por lo que se requieren frecuentes aplicaciones de plaguicidas. En el presente estudio se evaluó la actividad patogénica de diferentes concentraciones de B. subtilis (0, 1, 2 y 3 cc.l-1), mediante la técnica de contacto residual usando hembras de T. urticae de 48 h de edad. No se observó incremento en la mortalidad de las hembras de T. urticae por efecto de las diferentes concentraciones de B. subtilis, sin embargo, estas fueron estadísticamente superiores en referencia al control. Adicionalmente, no se observó efecto de las diferentes dosis de B. subtilis sobre la oviposición de T. urticae. Basados en los resultados, la aplicación de B. subtilis podría ser considerada como una alternativa para el combate de las poblaciones de T. urticae, sin embargo, se requiere validar estos resultados bajo condiciones de campo.

Control of Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) with Bacillus subtilis on strawberry leaves (Fragaria vesca). In Ecuador, feeding of Tetranychus urticae has reported losses between 60 and 80% in strawberry plants, so frequent applications of pesticides are required. In this study the pathogenic activity of different concentrations of B. subtilis $(0, 1, 2 \text{ and } 3 \text{ cc.l}^{-1})$ on 48-h-old *T. urticae* females was evaluated by using residual contact technique. There was no increase in the mortality of T. urticae females due to the different concentrations of B. subtilis, however these were statistically higher in reference to the control. Additionally, no effect of the different doses of B. subtilis on the oviposition of T. urticae was observed. Based on the results, the application of B. subtilis could be considered as an alternative for the control of *T. urticae* populations, however validation under field conditions are required to validate these results.

Autor para correspondencia. Correo electrónico: dmendoza1346@uta.edu.ec

^{*} Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tungurahua, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

El ácaro de 2 manchas, Tetranychus urticae Koch, constituye una plaga de importancia económica en diferentes especies de plantas ornamentales, hortalizas y frutales a nivel mundial (Bolland et al. 1998). El manejo de sus poblaciones en los cultivos ha sido tradicionalmente hecho mediante el uso de productos químicos, estos han provocado problemas de resistencia en la plaga y de salud pública, por lo que en los últimos años ha existido una tendencia al uso de alternativas sustentables para el manejo de plagas, incluído el uso de agentes de biocontrol (Bale et al. 2008). Así, se han desarrollado y continúan desarrollándose nuevas estrategias de combate de insectos y ácaros plaga para tratar de resolver diferentes necesidades de manejo, como la búsqueda de alternativas de nuevos tipos de plaguicidas (Vásquez et al. 2016). Estos nuevos plaguicidas deben ser selectivos, biodegradables en productos no tóxicos y compatibles con los programas de manejo integrado de plagas (Gupta y Dikshit 2010).

En tal sentido, actualmente el manejo de plagas agrícolas tiende a minimizar el uso de agroquímicos e incrementar el manejo integrado de plagas. Esto incluye el uso de agentes de biocontrol tales como parasitoides, depredadores, hongos y bacterias entomopatogénicas (Schiesari et al. 2013).

Una de las estrategias más estudiadas en los últimos años ha sido el uso de bacterias entomopatógenas, puesto que estas provocan menor impacto ecológico (Torsten 2005). Entre ellas, algunas especies de *Bacillus* han probado ejercer control sobre poblaciones de varias especies de plagas agrícolas o de importancia médico-veterinaria del grupo de los lepidópteros, dípteros, coleópteros (Cavados *et al.* 2001, Cory y Franklin 2012, Trevisori *et al.* 2014).

Los estudios relacionados con el uso de especies de *Bacillus*, como alternativa para la disminución de las poblaciones de ácaros fitófagos, muestran resultados variables. Por un lado, Larrea *et al.* (2015) reportaron 15 cepas de *Bacillus* spp. entre las cuales las cepas PSL 104,

113 y 114 fueron capaces de provocar ruptura de las paredes externas y precipitación de contenido celular en hembras de *Tetranychus urticae*, lo cual demostró así la efectividad de esta bacteria como biocontrolador de la especie plaga. Por otra parte, Chapman y Hoy (1991) observaron que preparaciones a partir de polvo mojable a base de *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* causaron tasas de mortalidad bajas en hembras de *T. urticae*, mientras que resultó más tóxico en hembras de su depredador, *Metaseiulus occidentalis*, lo cual limitaría su uso en programas de control biológico.

Adicional al uso de *B. thuriengiensis*, unos pocos estudios también han mostrado la efectividad de *B. subtilis* para el control de larvas de *Spodoptera litoralis* (El-Salam et al. 2011), sin embargo, se requiere realizar estudios que evalúen su potencial como agente de biocontrol de diferentes plagas agrícolas. En tal sentido, en el presente estudio se evaluó la efectividad in vitro de las diferentes concentraciones de *Bacillus subtilis* en el combate de *T. urticae* en el Cantón Cevallos, Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue realizado en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Cantón Cevallos, Tungurahua, Ecuador (1°25'0" S - 78°35'22" O, 2855 msnm); con temperaturas máxima y mínima de 18 y 12°C y humedad relativa del 53%. Se evaluó el efecto in vitro de diferentes dosis de *B. subtilis* sobre la mortalidad y tasa de oviposición en hembras de *T. urticae*.

El ensayo se realizó con poblaciones del *T. urticae* colectados en plantas de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton), crecidas en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCAGP-UTA), Cantón Cevallos. Las muestras de hoja de pepino dulce, con síntomas de ataques por este ácaro, fueron colocadas en bolsas plásticas de cierre hermético, internamente recubiertas con papel absorbente y llevadas al laboratorio. Para la confirmación de

la especie, fueron preparadas láminas para observación al microscopio con especímenes machos y hembras usando líquido de Hoyer. La identificación del género fue hecha mediante el uso de la clave taxonómica de Gutiérrez (1985), mientras que la especie fue corroborada por comparación de la morfología del edeago (Ochoa *et al.* 1994).

Una vez confirmada la especie, se realizó la cría del ácaro para la obtención de una cohorte de edad homogénea. Para ello, los ácaros colectados fueron transferidos a unidades de cría, la cual consiste de una placa Petri (10 cm de diámetro), dentro de la cual se ajustó una almohadilla circular de poliuretano de 1 cm de espesor (Helle y Overmeer 1985). En cada unidad de cría fue colocado un disco de hoja de fresa con el envés hacia arriba, que fue rodeado con una banda de algodón humedecida (0,5 cm de ancho) para evitar el escape de los ácaros y mantener la turgencia de la hoja. Sobre cada unidad de cría fueron transferidas hembras y machos de T. urticae provenientes del campo para promover la oviposición. Una vez obtenido un número de huevos deseable, tanto las hembras como machos fueron descartados. Diariamente, las unidades de cría fueron observadas hasta la obtención del estado adulto de edad conocida, con los cuales se dio inicio a los ensayos de efectividad de la bacteria. Las unidades de cría fueron humedecidas diariamente para mantener la turgencia de la hoja y aquellas hojas que mostraban síntomas de deterioro fueron sustituidas por hojas nuevas.

Para el control de *T. urticae* se utilizó Subtilin, en presentación líquida (concentración de 1x 10⁹ UFC.ml⁻¹), a partir de cual se tomaron alícuotas de 1, 2 y 3 cc.l⁻¹ de agua. Para la preparación de las diferentes dosis, se procedió a agregar 1 ml de *B. subtilis* en 1 L de agua destilada estéril y agitar mecánicamente, con la cual se obtuvo una concentración de 1 x 10⁶ UFC.ml⁻¹ de *B. subtilis*. De manera similar, se procedió con la dosis de 2 y 3 cc.l⁻¹, las cuales tuvieron concentraciones de 2 x 10⁶ UFC.ml⁻¹ y 3 x 10⁶ UFC.ml⁻¹, respectivamente.

La actividad patogénica de diferentes dosis de *B. subtilis* (0, 1, 2 y 3 cc.l⁻¹ de agua) fue

evaluada mediante la técnica de contacto residual usando hembras de *T. urticae* de 48 h de edad provenientes de la cría general (Ribeiro *et al.* 2016). Los discos de hoja de fresa fueron sumergidos durante 20 s en cada una de las concentraciones de la bacteria y, posteriormente, colocados en papel toallín hasta que el líquido se evaporara. Después de esto, los discos de hoja fueron colocados con la cara abaxial hacia arriba sobre unidades de cría. Sobre cada arena fueron colocadas 10 hembras de la cría general. Cada tratamiento fue replicado 5 veces y el bioensayo fue repetido 3 veces para convalidar los datos. Se aplicó agua como tratamiento testigo.

La mortalidad de las hembras expuestas a las diluciones de *B. subtilis* fue evaluada cada 24 horas durante 3 días consecutivos a partir de los 7 días después de la aplicación. Las hembras fueron consideradas muertas cuando no mostraron ninguna reacción al toque con un pincel fino. Los ácaros que fueron atrapados en la banda de algodón, no fueron considerados para el análisis. Los datos de mortalidad acumulada fueron usados para calcular la concentración letal media (CL₅₀) usando un método analítico.

Adicionalmente, se evaluó el efecto sobre la oviposición y fecundidad en hembras de *T. urticae*, al seguir la misma metodología del ensayo de toxicidad aguda. Para ello, en cada unidad de cría fueron colocadas 10 hembras de 48 h de edad y expuestas a las diferentes dosis. El número de huevos colocados sobre los discos de hoja fue contabilizado cada 24 h durante 3 días. La fecundidad fue determinada como la suma del número de huevos puestos por una hembra durante el período de evaluación. El número promedio de huevos fue calculado al dividir el número total de huevos y el número de hembras vivas en un período de 24 horas. Cada tratamiento fue replicado 5 veces y repetido 3 veces en el tiempo.

Diseño experimental: El ensayo fue conducido en un diseño de experimentos completamente al azar. Las variables mortalidad (efecto tóxico), oviposición y fecundidad (efecto subletal), en hembras de *T. Urticae*, fueron sometidas

a análisis de varianza (ANOVA) y aquellas que mostraron diferencias significativas fueron sometidas a prueba de medias, según Tukey, usando el programa estadístico Statistix versión 9.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó incremento en la mortalidad de las hembras de *T. urticae* por efecto de las diferentes concentraciones de *B. subtilis*, sin embargo, estas fueron estadísticamente superiores en referencia con el testigo (p<0,185; F= 1,54; gl=6) (Cuadro 1). A pesar de no haberse detectado diferencias entre las dosis usadas, la aplicación de 3 cc.l⁻¹ de *B. subtilis* provocó un nivel de mortalidad 24,82 y 17,23% numéricamente superior que las dosis de 2 y 1 cc.l⁻¹, respectivamente.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad (media ± D.E.) en hembras de *Tetranychus urticae* por la aplicación de diferentes dosis de *Bacillus subtilis*.

Dosis		Observaciones	
	Primer día	Segundo día	Tercer día
Sin aplicación	13,33±4,216b	$0,00\pm0,000$ b	0,00±0,000b
	(0,00-20,00)	(0,00-0,00)	(0,00-0,00)
1 cc.l ⁻¹	20,00±12,649a	57,76±13,411a	55,00±14,491ab
	(0,00-60,00)	(33,30-100,00)	(25,00-100,00)
2 cc.l ⁻¹	20,00±0,000a	61,10±12,673a	28,90±12,499ab
	(20,00-20,00)	(33,30-100,00)	(0,00-66,70)
3 cc.l ⁻¹	40,00±17,303a	77,80±7,02a	66,67±21,082a
	(20,00-60,00)	(66,70-100,00)	(0,00-100,00)

Valores seguidos de la misma letra en una columna no mostraron diferencias significativas según Tukey (p<0,001).

No existe información disponible sobre el efecto de *B. subtilis* sobre la tasa de mortalidad de *T. urticae*, por lo que los resultados fueron comparados con estudios relacionados con *B. thuringiensis*. Los resultados del efecto sobre la tasa de mortalidad de *B. thuringiensis* en *T. urticae* son variables, ya que muestran desde altas tasas de mortalidad (Attia *et al.* 2013) hasta porcentajes relativamente bajos, menor a 7% (Royalty *et al.* 1990). En este último caso, la actividad lenta puede ser atribuible a que las altas tasas de crecimiento y de los procesos fisiológicos en ácaros inmaduros requieren altas tasas de síntesis de ARN, la cual es inhibida por la acción de la thuringiensina (Sebasta *et al.* 1981).

Concentración letal media (CL₅₀)

La respuesta de mortalidad en función a la dosis mostró una respuesta cuadrática al primer, segundo y tercer día después de la aplicación, fue mayor la tasa de mortalidad alcanzada cuando se aplicó la dosis 1 cc.l⁻¹ evaluada al segundo y tercer día, después de la aplicación, mientras que el primer día después de la aplicación, el mayor porcentaje de mortalidad en hembras de *T. urticae* fue observado con la dosis 3 cc.l⁻¹ (Figura 1). Al considerar el hecho de que la mortalidad mostró una respuesta cuadrática, se recurrió a la linearización de los datos mediante la aplicación de Log de la concentración para calcular la CL₅₀, con la que se obtuvo que esta variable se ubicó en

2,54 cc.l⁻¹ de la bacteria (Figura 2). De acuerdo con esto, se asume que esta concentración es capaz de provocar la mortalidad del 50% de la población bajo estudio. Sin embargo, es

recomendable conducir estudios similares bajo condiciones de invernadero en los cuales se ajuste esta dosis para validar los resultados obtenidos bajo condiciones de laboratorio.

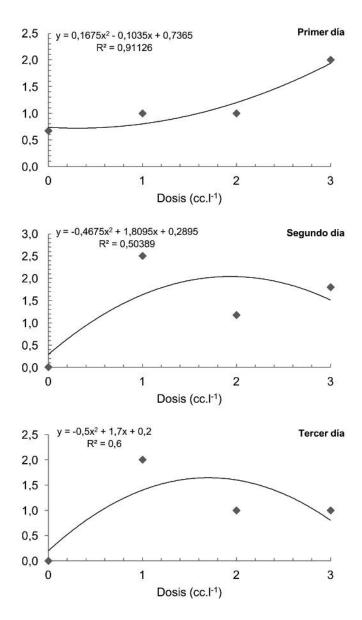


Fig. 1. Número promedio muertos posterior a la pimera, segunda y tercera aplicación de diferentes concentraciones.

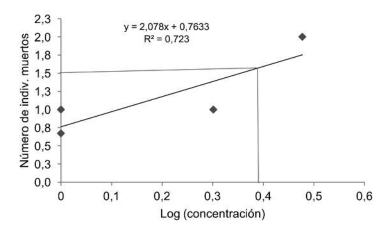


Fig. 2. Concentración letal media (CL₅₀) provocada por diferentes dosis de B. subtilis sobre hembras adultas de T. Urticae.

En términos generales, la CL₅₀ depende de factores extrínsecos e intrínsecos de los agentes utilizados. Entre los factores extrínsecos se incluyen las condiciones ambientales del experimento, tales como la temperatura, humedad relativa y la especie de planta usada como substrato, mientras que entre los factores intrínsecos se pueden mencionar la calidad del producto utilizado, la concentración de esporas del producto, así como las características de la especie plaga usada. En tal sentido, Carreras-Solís *et al*. (2009) obtuvieron que la CL_{50} de una cepa de B. thuringiensis (LBT-111), sobre larvas de *Heliothis virescens* Fabricius, fue de 2,6 x 10⁷ esporas.ml-1, lo que sugiere que esta cepa podría ser promisoria para el combate de esta plaga en maíz. De manera similar, Pitre et al. (2008) al evaluar la actividad tóxica específica de las proteínas recombinantes CrylAa, CrylAc, CrylB y Cry1C de B. thuringiensis, sobre larvas de primer instar de Tecia solanivora (Povolny), no observaron diferencias entre las δ-endotoxinas recombinantes CrylAa, CrylAc, CrylB y CrylC de Bt y la CL₅₀ de las 4 toxinas fueron Cry1Aa=0,103, Cry1Ac=0,107, Cry1B=0,085 y Cry1C=0,112 μg de proteína/cm² cuando fueron aplicadas a concentraciones de 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 y 0,3 µg/cm² de proteína. Estos autores demostraron que las δ-endotoxinas evaluadas poseen una alta

toxicidad sobre larvas de *T. solanivora*, al ser levemente mayor la proteína Cry1B.

En relación con el efecto sobre ácaros, Guanolisa (2015) observó porcentajes de control de adultos, ninfas y larvas de *T. urticae* de 90,9; 86,6 y 92,8%, respectivamente, con la aplicación de B. thuringiensis en dosis de 3 cc.l⁻¹ cada 7 días. Alper et al. (2013) observaron que de 31 aislados nativos de B. thuringiensis, solo el 42% de ellos provocó mortalidad entre 16% y 30%; mientras que el 58% restante causó menos de 15% de mortalidad en ninfas de T. urticae. De manera similar, Larrea-Izurieta et al. (2015) evaluaron 16 cepas de Bacillus spp., en la que la cepa PSL114 fue la que produjo mayor impacto en T. urticae, lo cual afectó la ruptura de paredes externas, precipitación de contenido celular y malformaciones cuticulares. Aparte del efecto de la especificidad entre la cepa de Bacillus y la especie de herbívoro que ataque, otros factores tales como la temperatura, especie de planta hospedera y edad de la larva pueden afectar la eficacia de control de la cepas de *Bacillus* spp. (Vargas *et al.* 2002). En tal sentido, estos autores observaron que las larvas de T. urticae de 18 h de edad fueron más susceptibles a *B. thuringiensis* a 13°C que a 28°C.

Las diferencias en el porcentaje de control observadas en el presente estudio podrían ser debidas, entre otras, a la especie de *Bacillus* usada y a la diferencia en la temperatura en la cual fueron conducidos los ensayos (Vargas *et al.* 2002).

Efecto subletal de B. subtilis sobre T. urticae

No se observó efecto de las diferentes dosis de *B. subtilis* sobre la oviposición de *T. urticae* (Figura 3). A los 7 días de la aplicación, la oviposición varió de 17 huevos, en el tratamiento control, a 12 huevos en el tratamiento, que recibió 2 cc.l⁻¹ de la bacteria. Adicionalmente, no se detectaron diferencias en la oviposición a los 14 y 21 días después de la aplicación.

Resultados similares fueron obtenidos por Tang et al. (1999), quienes no detectaron diferencias en la oviposición en adultos de *Plutella xylostella* resistentes y susceptibles al gen CrylAc. Los autores concluyeron que ambos grupos no fueron capaces de discriminar entre plantas de brócoli que expresa CrylAc y plantas convencionales, con oviposición entre 39-41 huevos por planta. Contrariamente, Royalty et al. (1990) encontraron una relación linear entre la dosis de thuringiensina y la reducción del porcentaje de producción de huevos por hembras de *T. urticae*, lo cual llega a disminuir la fecundidad hasta en un 25%.

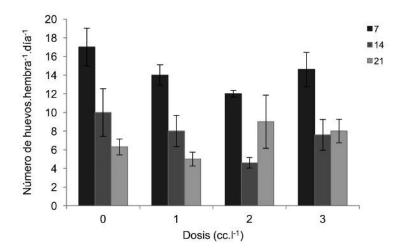


Fig. 3. Número promedio de huevos producido por hembras de *T. urticae* a los 7, 14 y 21 días después de ser tratadas con diferentes dosis de *B. subtilis*.

De acuerdo con Larrea-Izurieta *et al.* (2015), las bacterias tipo *Bacillus* spp. están asociadas con *T. urticae*, lo cual puede traducirse en sistemas patológicos de relevancia para la implementación de programas de control biológico. Estos autores demostraron que la patogenicidad producida por *Bacillus* spp. sobre *T. urticae* se caracterizan por daños anatómicos, tales como ruptura de las paredes externas, precipitación de contenido celular, entre otras, y, además, concluyen que la intensidad de esta respuesta puede variar de acuerdo con la cepa usada. De acuerdo

con Bravo *et al.* (1998), el primer efecto de las proteínas *Cry*, una de las principales toxinas contenidas en las especies de *Bacillus*, es la producción de lisis de las células epiteliales del intestino medio de los artrópodos como consecuencia de la formación de poros de las membranas. Posterior a la disrupción, el epitelio intestinal libera su contenido proporcionando a las esporas un medio para germinación que conduce a una septicemia severa y, consecuentemente, la muerte del artrópodo.

Basados en los resultados obtenidos, el uso de *B. subtilis* podría ser considerado como una

alternativa para el combate de las poblaciones de *T. urticae*, sin embargo, se requiere validar estos resultados bajo condiciones de campo.

LITERATURA CITADA

- Alper, M; Gunes, H; Sungur, H; Dursun, O; Eskin, A. 2013.

 Toxic effects of some native *Bacillus thuringiensis*Berliner (Bacillales: Bacillaceae) isolates against *Tetranychus urticae Koch* (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae)

 and *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Turkish Tulletin of entomology
 3(2):75-87.
- Attia, S; Lebdi, K; Lognay, G; Bitume, E; Hance, T; Mailleux, A. 2013. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. Journal of Pesticide Science 86:361-386.
- Bale, JS; Van Lenteren, JC; Bigler, F. 2008. Biological control and sustainable food production. Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B 363:761-776.
- Bolland, HR; Gutiérrez, J; Fletchmann, CHW. 1998. World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae), Koninklijke Brill NV. Leiden. The Netherlands. 392 p.
- Bravo, A; Sarabia, S; Lopez, L; Ontiveros, H; Abarca, C; Ortiz,
 A; Ortiz, M; Lina, L; Villa-Lobos, F; Guadalupe,
 P; Nunez-Valdez, M; Soberon, M; Quintero, R.
 1998. Chacterization of cry genes in Mexican Bacillus thuringiensis strain collection. Applied and Environmental Micorbiology 64(12):4965-4972.
- Carreras-Solis, B; Rodríguez, D; Piedra, F. 2009. Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* Berliner para el control de *Heliothis virescens* Fabricius en el cultivo del tabaco en Cuba. Fitosanidad 13(4):277-280.
- Cavados, CG; Fonseca, RN; Chaves, JQ; Rabinovitch, L; Araújo-Coutinho, CJ. 2001. Identification of Entomopathogenic *Bacillus* isolated from *Simulium* (Diptera, Simuliidae) Larvae and Adults. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz 96(7):1017-1021.
- Chapman, MH; Hoy MA. 1991. Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). Journal of Applied Entomology 111(1-5):147-154.
- Cory, J; Franklin, M. 2012. Evolution and the microbial control of insects. Evolutionary Applications 5:455-463.

- El-Salam, AE; Nemat, AM; Magdy, A. 2011. Potency of Bacillus thuringiensis and Bacillus subtilis against the cotton leafworm, Spodoptera littoralis (Bosid.) larvae. Archives of Phytopathology and Plant Protection 44(3):204-215.
- Guanolisa, M. 2015. Evaluación de la eficiencia de *Bacillus* subtilis para el control bilógico de araña roja *Tetranychus urticae* Koch en cultivo de fresa. Tesis M.Sc. Cevallos, Ecuador, Universidad Técnica de Ambato. 154 p.
- Gupta, S; Dikshit, AK. 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. Journal of Biopesticides 3(1 Special Issue):186-188.
- Gutiérrez, J. 1985. Systematics. In Helle, W; Sabelis, M (eds.). Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers. p. 75-90.
- Helle, W; Overmeer, PJ. 1985. Rearing techniques. In Helle W. y Sabela MW. E (eds.). Spider mites their biology, natural enemies and control. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. p. 331-385.
- Larrea-Izurieta, I; Falconi, C; Andrade, A. 2015. Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. con actividad contra *Tetranychus urticae* Koch en cultivos comerciales de rosas. Revista Colombia de Biotecnología 17(2):140-148.
- Ochoa, R; Aguilar, H; Vargas, C. 1994. Phytophagous mites of Central America: An illustrated guide. Turrialba, Costa Rica, CATIE 234 p.
- Pitre, L; Hernández-Fernández, J; Bernal Villegas, J. 2008.

 Toxicidad de δ-endotoxinas recombinantes de
 Bacillus thuringiensis sobre larvas de la polilla
 guatemalteca (Tecia solanivora) (Lepidóptera:
 Gelechiidae). Revista Colombiana de Biotecnología
 10(2):85-96.
- Ribeiro, N; Pereira, T; Abreu, L; e Castro, C; Souza, E. 2016. Microbial additives in the composting process. Ciência e Agrotecnologia 41(2):159-168.
- Royalty, RN; Hall, FR; Taylor, RAJ. 1990. Effects of thuringiensin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) Mortality, Fecundity, and Feeding. Journal of Economic Entomology 83(3):792-798.
- Schiesari, L; Waichman, A; Brock, T; Adams, C; Grillitsch, B. 2013. Pesticide use and biodiversity conservation in the Amazonian agricultural frontier. Philosophical Transactions of the Royal Society B 368:1-9.
- Sebesta, K; Farkas, J; Horska, K; Varikova, J. 1981. Thuringiensin, the beta-exotoxin of Bacillus thuringiensis. In Burges, HD (ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic, London. p. 249-281.
- Tang, J; Collins, H; Roush, R; Metz, T; Earle, E; Shelton,
 A. 1999. Survival, weight gain, and oviposition of resistant and susceptible *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on broccoli expressing

- Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 92(1):47-55.
- Torsten, S. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology 56(4):845-857.
- Trevisori, L; Teixiera, R; Linhares, H; Trevisoli, T; Aparecido de Carvalho, G; Pagliusi, Y; Polanczik, R. 2014. Compatibility among insecticides, acaricides and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae)
- in cotton fields. African Journal of Agricultural Research 9(11):941-949.
- Vargas, R; Chapman, B; Penman, DR. 2002. Factors influencing the responses of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to thuringiensin. Agricultura Técnica 62(1):3-14.
- Vásquez, C; Balza, D; Jiménez, MA; Colmenárez, Y; Ríos, Y. 2016. Use of plant extracts as an alternative control method against phytophagous mites in South America. Current Topics in Phytochemistry 13:35-41.

