

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA DE LOS INVERNADEROS *Trialeurodes vaporariorum* SOBRE LA ACTIVIDAD PARASITICA DE *Amitus fuscipennis* EN UN CULTIVO DE FRÍJOL *Phaseolus vulgaris*.<sup>1</sup>**

María del Pilar Pachón Barinas<sup>2</sup>

Alba Marina Cotes P.<sup>3</sup>

**Resumen**

La mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* en una de las principales plagas tanto a nivel nacional como mundial. Esto ha motivado la búsqueda de alternativas para su control. Dentro de estas se encuentran principalmente el control cultural y el químico. Este último ocasiona consecuencias ecológicas negativas al ecosistema

El control biológico aparece como una alternativa promisoría ya que involucra el uso de enemigos naturales como parasitoides y microorganismos entomopatógenos teniendo en cuenta la preservación del equilibrio dinámico con los insectos benéficos. Este estudio pretendió determinar el efecto que sobre el parasitoide *Amitus fuscipennis* tienen las aplicaciones del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* en un cultivo de frijol. Para evaluar este efecto se realizaron ensayos tanto en invernadero como en campo. Los ensayos en invernadero se realizaron en CORPOICA "Tibaitatá" a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 70%, los ensayos de campo se llevaron a cabo en la provincia del Sumapaz; en estos ensayos se determinó que en condiciones de invernadero el entomopatógeno *Verticillium lecanii* disminuyó la actividad parasítica de *A. fuscipennis* en un 80% a las 24 horas después de haber sido aplicado el entomopatógeno, los ensayos en campo muestran que la actividad parasítica del insecto benéfico *A. fuscipennis* no se vio afectada por la aplicación del entomopatógeno.

<sup>1</sup> Trabajo de tesis para optar al título de Bióloga.

<sup>2</sup> Bióloga. Universidad de los Andes. Santafé de Bogotá. Cllé 52B N° 76a-31 (77-31)

<sup>3</sup> Investigador principal. Directora laboratorio de Control biológico. CORPOICA "Tibaitatá". Km 14 vía Mosquera

## Introducción

La mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) es una de las principales causantes de pérdidas económicas en los rendimientos de los cultivos, tales como frijol y habichuela. El uso indiscriminado de insecticidas para el control de esta plaga ha ocasionado un progresivo desbalance en los ecosistemas originando la destrucción de los organismos benéficos como depredadores y parasitoides los cuales ayudan a controlar la plaga.

El control biológico mediante el uso de hongos entomopatógenos como *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas se presenta como una alternativa promisorio para el control de la mosca blanca. Además de las pruebas de eficacia que deben hacerse para probar la efectividad de estos tratamientos biológicos, es necesario realizar estudios de impacto ambiental que permitan determinar el efecto que sobre poblaciones de insectos benéficos tiene dichos microorganismos.

La mosca blanca de los invernaderos es uno de los principales insectos reportados como causantes de daño en el cultivo de frijol y es importante por los daños directos e indirectos que originan ocasionando pérdidas considerables en el rendimiento de los cultivos ya que tanto en los estados ninfal como adulto, se alimentan del floema causando daño a las plantas, además excretan una sustancia dulce sobre las hojas y frutos permitiendo el crecimiento de hongos causantes de la fumagina.

Las moscas blancas son un grupo de insectos receptivos al control biológico, dentro de las principales estrategias para ejercer dicho control se encuentran el uso de hongos entomopatógenos y de enemigos naturales como depredadores y parasitoides.

El hongo entomopatógeno *V. lecanii* se ha implementado con gran éxito siendo muy promisorio para el control de esta plaga. En Colombia y especialmente en la región del Sumapaz el parasitoide más frecuentemente encontrado ejerciendo control biológico natural sobre moscas blancas es *Amitus fuscipennis* (Hymenoptera: Platygasteridae). Para que este parasitoide ejerza su efecto biocontrolador es importante el sustrato dada que la cantidad de miel y proteínas disponibles en la planta determina el sitio de

oviposición discriminando los estadios menos gustosos, e incrementándose con los instares parasitando preferencialmente el segundo y el tercer estado pupal.

Los efectos del parasitismo de *Amitus fuscipennis* se pueden visualizar con los cambios en las ninfas de mosca blanca como son la Melanización de la pupa y el orificio de emergencia del parasitoide.

Teniendo en cuenta la importancia que tiene el control biológico de plagas mediante el uso de microorganismos entomopatógenos y la preservación con los insectos benéficos este estudio pretendió determinar el efecto que sobre el parasitoide *A. fuscipennis* tienen las aplicaciones de *Verticillium lecanii* para el control de la mosca blanca en el cultivo de frijol; el objetivo del trabajo fue determinar bajo condiciones de invernadero y campo el efecto del hongo *Verticillium lecanii* sobre *Amitus fuscipennis* parasitoide de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*.

### **Materiales y Métodos**

La investigación básica de este trabajo se realizó en los laboratorios del Programa Nacional de Manejo Integrado de plagas de CORPOICA "Tibaitatá" situado en el Km 14 vía Mosquera. Las investigaciones de campo se realizaron con la colaboración del CRECED provincia del Sumapaz en fincas de agricultores.

### **Cría básica de mosca blanca**

La cría de *Trialeurodes vaporariorum* se mantuvo en condiciones de invernadero con 70% de humedad relativa y un rango de temperatura que osciló de 15 a 25 °C. para tal fin se hicieron siembras escalonadas de frijol var. Simijaca en piso y siembras cada 15 días de frijol var. ICA-Cerinza en materas; cada mes se hicieron recolecciones en campo de hojas de frijol infestadas naturalmente con adultos de mosca blanca traídos de la región del Sumapaz. Las hojas de frijol infestadas se transportaron en bolsas de papel, las cuales se sacudían en el invernadero.

### **Evaluaciones de *Verticillium lecanii* sobre *Amitus fuscipennis* en condiciones de invernadero**

Con el objeto de obtener una suspensión de *V. lecanii* a partir de un cultivo crecido durante 10-12 días a una temperatura de 25°C se hizo un raspado de la superficie del medio valiéndose de una espátula; este raspado fue llevado a 100ml con agua estéril obteniéndose una concentración final de  $10^8$  propágulos mediante recuentos en la cámara de Neubauer.

El parasitoide *A. fuscipennis* fue colectado en la región del Sumapaz. La recolección se hizo tomando las hojas que presentaron ninfas de segundo o tercer instar de mosca blanca con síntomas de parasitismo (melanización); las hojas colectadas se depositaron en bolsas de papel para su transporte, posteriormente se colocaron en cubetas plásticas acondicionadas como cámaras húmedas. Estas cámaras húmedas se hicieron colocando en la base de la caja toallas absorbentes las cuales se humedecieron con agua destilada.

En cada cubeta se colocaron aproximadamente 5 o 6 hojas con el envés ubicado hacia arriba para facilitar la emergencia de los adultos del parasitoide. Estas cubetas fueron cubiertas con una tela de dril para impedir que los insectos escaparan y para permitir el intercambio gaseoso. Posteriormente, fueron ubicadas en un cuarto de cría a 25°C, humedad relativa del 70% y fotoperíodo de 12 horas luz. Después de la emergencia, los adultos se recolectaron diariamente por medio de un aspirador manual y se mantuvieron en frascos de vidrio en donde se alimentaron con una solución de miel al 20% (Medina *et al.* 1994)

Para el montaje de los bioensayos en invernadero se utilizaron jaulas de hoja elaboradas con cajas plásticas a las que se les abrieron 3 agujeros para permitir una adecuada aireación; estos orificios fueron cubiertos con muselina para evitar que los insectos escaparan.

Para el montaje de este ensayo se utilizaron 11 materas cada una con 5 plantas; de cada materia se escogió una planta y de cada planta se escogieron tres folíolos al azar

para la aplicación de los respectivos tratamientos. A nueve materas de les aplicó por aspersion una suspensión de la cepa VL26 de *Verticillium lecanii* previamente seleccionada por su actividad entomopatogénica contra la mosca blanca que contenía  $8.0 \times 10^8$  propágulos/ml. Una matera se utilizó para el testigo absoluto y a la otra se le introdujo el parasitoide sin aplicaciones del hongo.

Los parasitoides fueron introducidos en diferentes tiempos después de haber realizado la aspersion con el hongo. *Amitus fuscipennis* fue introducido cada 24 horas hasta completar 72 horas. Se introdujeron 5 hembras por foliolo, diez días después de la introducción del parasitoide se hicieron evaluaciones que consistieron en determinar la actividad parasítica de *A. fuscipennis*; se recolectaron las hojas aisladas y se llevaron al laboratorio en donde se evaluó sobre la mitad del foliolo, el número total de ninfas, el porcentaje de ninfas infectadas y el porcentaje de ninfas parasitadas.

#### **Evaluación del efecto de *V. lecanii* sobre la actividad parasítica de *Amitus fuscipennis* bajo condiciones de campo.**

Los ensayos de campo fueron realizados en una finca ubicada en la vereda de Subia localizada en la región del Sumapaz. En estos ensayos se determinó el efecto de dos preformulaciones de la cepa VI 26 de *V. lecanii* desarrolladas en laboratorio. Estas preformulaciones consistieron en el recubrimiento de los propágulos del hongo con un filtro solar y coadyuvantes. Una de ellas fue secada por liofilización y la otra se secó en una estufa con flujo de aire continuo a 25 °C; esta última se denominó polvo mojable. Dichas preformulaciones fueron diseñadas para ser reconstituidas en una base autoemulsificable aceite en agua.

Se realizaron muestreos del parasitoide de forma paralela a la aplicación de preformulaciones del entomopatógeno, estos ensayos se realizaron en un lote de 5500m<sup>2</sup> en el que se sembró fríjol con una distancia entre plantas de 30 cm. El lote fue dividido en los siguientes tratamientos: MIP, *Verticillium* liofilizado, *Verticillium* polvo, Vertisol y testigo absoluto. El tratamiento MIP fue implementado en 1991 por Ashby *et al* y consiste en una combinación de diferentes tipos de control. En éste se aplicó insecticida granulado en el momento de la siembra, se colocaron trampas amarillas

pegajosas y la eventual aplicación de un insecticida foliar a nivel de la plaga preestablecido.

Las aplicaciones de los diferentes tratamientos del entomopatógeno empezaron 20 días después de la siembra y se continuaron cada 10 días hasta completar un total de 6 aplicaciones. Antes de la aplicación de los respectivos productos, se hicieron evaluaciones de nivel de daño de la plaga teniendo en cuenta las escalas establecidas por Ashby et al (1991). Las evaluaciones se realizaron cada 10 días y consistieron en la recolección de cinco hojas por tratamiento tomadas del surco medio dentro de cada bloque. Estas hojas fueron llevadas al laboratorio para realizar conteos de total de huevos de mosca blanca, total de ninfas, ninfas infectadas por *V. lecanii*, ninfas parasitadas por *Amitus fuscipennis* y la presencia de adultos de *A. fuscipennis*.

En forma paralela a este trabajo se realizaron evaluaciones de porcentaje de ninfas infectadas en el cultivo. Los muestreos se realizaron utilizando la metodología descrita anteriormente. En las hojas llevadas al laboratorio se determinó el número total de ninfas de mosca blanca y el porcentaje de ninfas infectadas con el entomopatógeno.

### **Resultados y Discusión**

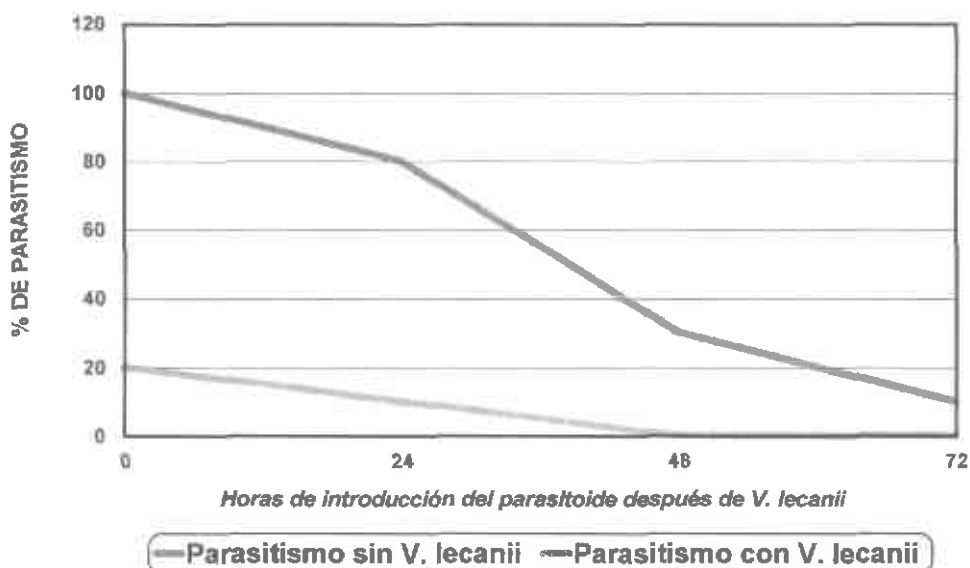
Para los ensayos en invernadero se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, para las evaluaciones en campo se utilizó un diseño estadístico de bloques al azar. Para ambos casos se hicieron pruebas estadísticas de análisis de varianza con una  $P=0.05$  y pruebas de comparación múltiple de Duncan con una  $P=0.05$ .

#### **Efecto de *Verticillium lecanii* sobre la actividad parasítica de *Amitus fuscipennis* en condiciones de invernadero.**

El análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de Duncan presentaron diferencias significativas en la capacidad parasítica de *Amitus fuscipennis* cuando éste fue introducido inmediatamente después del tratamiento con el hongo (0 horas) y a las 24 horas después de aplicar el hongo. Estos resultados se evidencian ya que el porcentaje de parasitismo encontrado para los dos primeros casos fue de 20 y 10 % respectivamente mientras que para las 48 y 72 horas de introducido el parasitoide no se

encontraron diferencias significativas y el porcentaje de parasitismo estuvo en los 0.5% para todos los casos (Figura 1).

Las diferencias estadísticas encontradas a las 0 y 24 horas después de haber introducido el parasitoide pudieron deberse al efecto que sobre el sustrato, en este caso ninfas de segundo instar de mosca blanca, tuvo el entomopatógeno. Este hongo bajo condiciones de invernadero disminuyó la actividad parasítica del parasitoide, probablemente debido a que la ninfa presentó cambios en su composición. Estos cambios se manifestaron por una consistencia más blanda la que podría hacerlos menos apetecibles para el parasitoide *Amitus fuscipennis*.



**FIGURA 1.** Efecto de *Verticillium lecanii* sobre el parasitismo de *Amitus fuscipennis* bajo condiciones de invernadero.

La no presencia de diferencias significativas a las 48 y 72 horas pudo deberse a que la actividad parasítica de *Amitus fuscipennis* se vio afectada negativamente con la presencia del entomopatógeno. García (1996), en las evaluaciones realizadas en forma

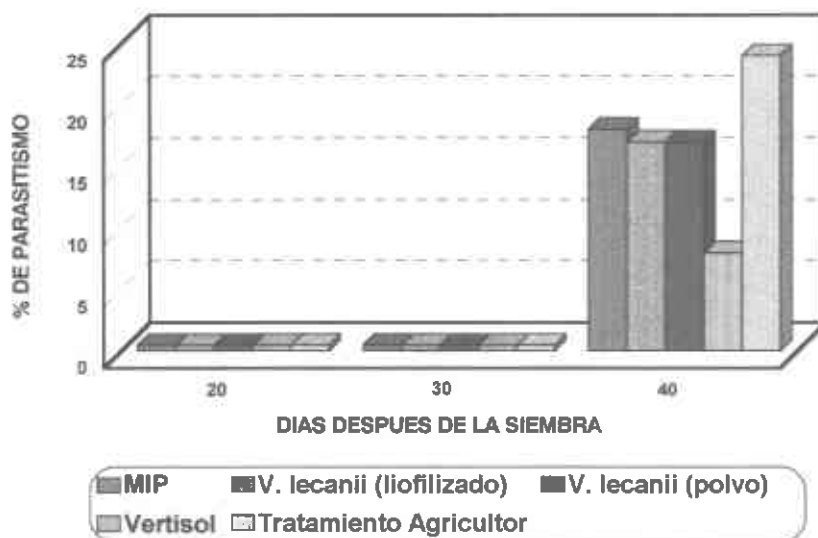
paralela al presente trabajo, demostró que bajo condiciones de invernadero *V. lecanii* puede ser un efectivo biocontrolador de ninfas de segundo instar de *T. vaporariorum*; el hongo esporula sobre la ninfa realizando un cubrimiento total, este efecto impediría el reconocimiento que el parasitoide debe hacer sobre el sustrato dificultando por consiguiente su actividad parasítica.

El no reconocimiento del sustrato a ser parasitado por parte del parasitoide podría deberse al efecto de exotoxinas secretadas por *V. lecanii* las cuales podrían tener un efecto repelente o tóxico contra *A. fuscipennis* con consecuencias negativas en su actividad parasítica. En ningún caso se observó que el entomopatógeno afectara en forma directa a los adultos del parasitoide, coincidiendo con los resultados reportados por Ravensberg, Malais & Schaff (1990).

#### **Efecto de *Verticillium lecanii* sobre la actividad parasítica de *Amitus fuscipennis* bajo condiciones de campo.**

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en la capacidad parasítica de *A. fuscipennis* en la evaluación realizada a los 40 días después de la siembra con un porcentaje de parasitismo del 15% para los tratamientos biológicos, 17% para el tratamiento MIP y 23% para el tratamiento agricultor, mientras que para las 20 y 30 días no se presentaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos con un porcentaje de 0.5%. La prueba de comparación múltiple de Duncan mostró diferencias significativas en el porcentaje de parasitismo entre los tratamientos MIP y polvo mojable con respecto a los otros tratamientos. Estos resultados fueron probablemente debido a que únicamente se aplicó insecticida químico en el momento de la siembra y en el transcurso del experimento no se volvió a aplicar. En las evaluaciones posteriores no se presentó ninguna tendencia determinante en los tratamientos. (Figura 2).

No se presentaron diferencias significativas a los 20 y 30 días después de sembrado probablemente debido a que en esta fase del cultivo la cantidad de ninfas de mosca blanca era baja, encontrándose únicamente huevos y ninfas de primer instar, lo que impedía la acción del parasitoide, ya que este presenta preferencia para parasetar ninfas de segundo y tercer instar (Medina *et al*, 1994), por lo que la presencia de un sustrato



**FIGURA 2. Efecto de *Verticillium lecanii* sobre la capacidad parasítica de *Amitus fuscipennis* en campo**

adecuado pudo haber impedido la acción biocontroladora del parasitoide. Después de 40 días de haber sembrado se comenzaron a presentar ninfas de segundo instar y se observó un aumento en la actividad parasítica de *A. fuscipennis*.

Las observaciones realizadas a lo largo del experimento permitieron concluir que ninguna de las preformulaciones desarrolladas en laboratorio disminuyó drásticamente la capacidad parasítica de *A. fuscipennis*, mostrando un porcentaje de parasitismo del 15%. El tratamiento MIP y el agricultor mostraron porcentajes de parasitismo de 17 y 23% respectivamente, mientras que el tratamiento comercial presentó un parasitismo del 8%. Estas diferencias posiblemente se hayan debido a que en el momento de realizar la evaluación en los tratamientos MIP y agricultor no se había aplicado ningún tipo de insecticida foliar pues no se había presentado nivel de daño que lo requiriera. En la Figura 3 se muestra un adulto de *A. fuscipennis* parasitando una ninfa de la mosca blanca de los invernaderos.

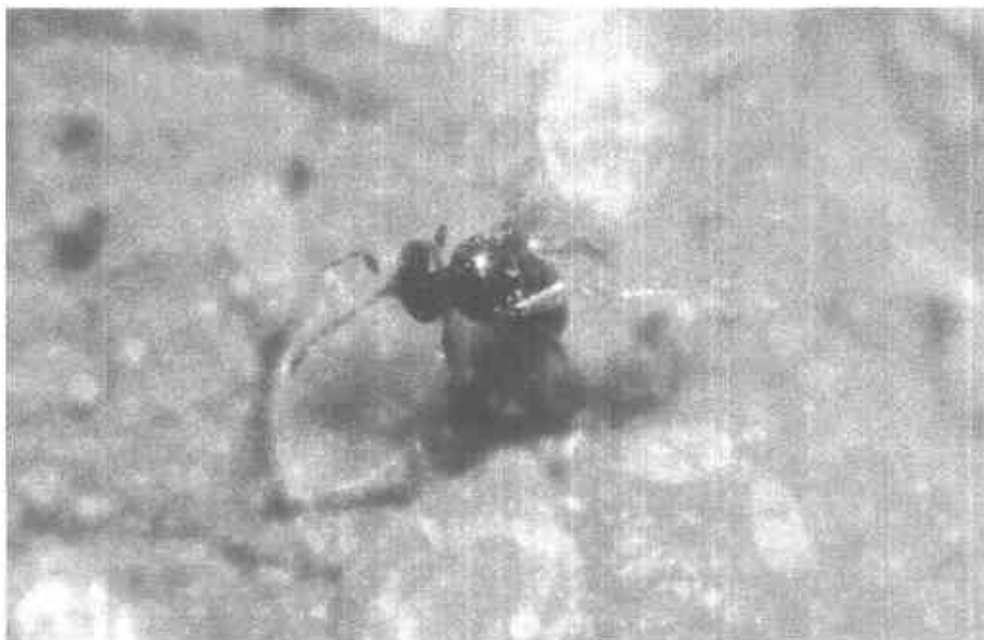
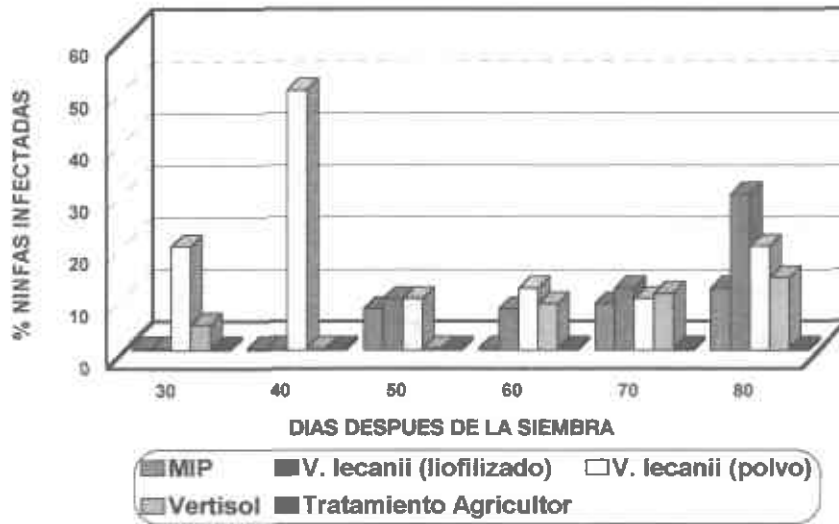


Figura 3. Adulto de *Amitus fuscipennis* parasitando una ninfa en tercer Instar de la mosca blanca de los invernaderos. El adulto del parasitoide curva su abdomen para introducir el ovipositor en el cuerpo de la ninfa.

Al evaluar en forma paralela y bajo las mismas condiciones el efecto biocontrolador de *Verticillium lecanii* sobre ninfas de mosca blanca García (1996), encontró que las dos preformulaciones del hongo fueron los tratamientos más promisorios en comparación con los tratamientos como MIP, Vertisol y agricultor, la evaluación realizada 30 días después de la siembra, las moscas con el tratamiento polvo presentaron una infección del 20%, llegando a ser máxima con un 50% a los 40 días después de la siembra. El tratamiento en el que se uso el producto liofilizado también infectó ninfas de mosca blanca mostrando una infección del 30% 80 días después de la siembra, mientras que la infección observada en moscas blancas en los demás tratamientos nunca superó el 12% de protección al cultivo (Figura 4). Para estas evaluaciones se presentaron diferencias significativas en los 30, 60, 70 y 80 días después de la siembra en donde las

preformulaciones desarrolladas en laboratorio presentaron el mayor porcentaje de



**FIGURA 4. Efecto de *Verticillium lecanii* sobre ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* en campo**

infección (Figura 4). Al comparar la protección que brinda *V. lecanii* y el porcentaje de parasitismo encontrado para las diferentes evaluaciones se obtiene una relación directa entre los porcentajes de ninfas infectadas y de parasitismo ya que dichos porcentajes se incrementan llegando a niveles del 70 y 50% para ninfas infectadas y parasitadas respectivamente, por lo que podemos concluir que los dos agentes de control no son excluyentes (Figura 5).

En la Figura 6 se observan ninfas de la mosca blanca de los invernaderos presentando los síntomas de parasitismo por *A. fuscipennis*, apreciados en condiciones de campo.

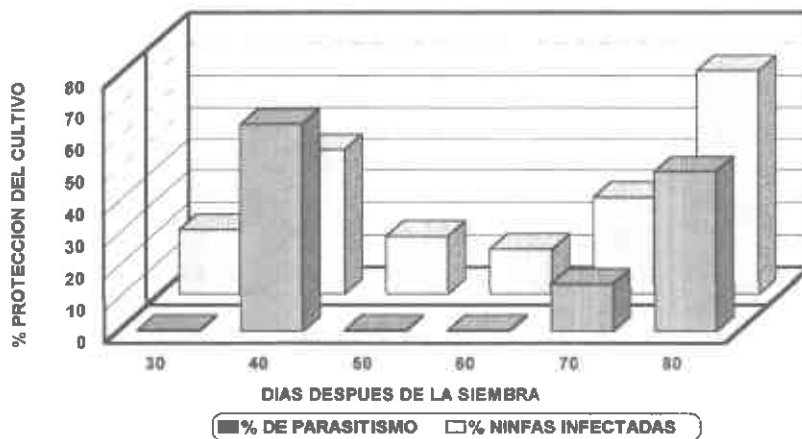


FIGURA 5. Efecto de dos preformulaciones de *Verticillium lecani i* sobre los niveles de parasitismo e infección en ninfas de *Triale urodes vaporariorum* en campo



Figura 6. Ninfas en cuarto ínstar de la mosca blanca de los invernaderos parasitadas por *Amitus fuscipennis*. En el interior del cuerpo de la ninfa se observa el cuerpo del futuro adulto del parasitoide; de allí la coloración oscura que presenta la ninfa de mosca blanca.

## **Conclusiones**

Bajo condiciones de invernadero se demostró que las aplicaciones del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* redujeron en un 80% la capacidad parasítica de *Amitus fuscipennis*.

Ni en condiciones de campo ni en invernadero *V. lecanii* infectó adultos de *A. fuscipennis*.

Las dos preformulaciones de *V. lecanii* desarrolladas en CORPOICA no afectaron bajo condiciones de campo la actividad parasítica de *A. fuscipennis*, observándose un progresivo aumento de la capacidad parasítica del parasitoide y un elevado porcentaje de infección por el hongo sobre ninfas de *T. vaporariorum*.

La combinación de dos agentes de control biológico mostró no ser excluyente.

## **Agradecimientos**

Alba marina Cotes directora del laboratorio de control biológico de CORPOICA "Tibaitatá" por su asesoría durante el desarrollo de la investigación.

A. López-Ávila coordinador del Programa Nacional de Manejo Integrado de plagas en CORPOICA por su asesoría prestada para el montaje de los ensayos biológicos.

Javier García investigador del Programa MIP por su colaboración durante el desarrollo de la investigación.

Pedro Cesar Prada director de la oficina de CORPOICA en Fusagasugá, por su asesoría prestada en la realización del montaje y ejecución del experimento en campo.

Rubén Molina auxiliar técnico de CORPOICA por su colaboración en las diferentes labores realizadas en campo.

José Gregorio Escobar y Sinibaldo Quintero auxiliares de CORPOICA sede Fusagasugá, quienes estuvieron al tanto de las labores a realizar en campo.

A CORPOICA y PRONATTA por su apoyo logístico y financiero para la realización del proyecto de investigación.

### **Bibliografía**

ASHBY, J.; CARDONA, C.; PRADA, P.; QUIROS, C.; RODRIGUEZ, A. 1991. Bases para establecer un programa de manejo integrado de plaga en Habichuela en la provincia del Sumapaz (Colombia). Abril. Documento de trabajo No. 86. P. 78.

GARCÍA, J. 1996. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Trabajo de tesis. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Colombia. p 121.

MEDINA, P.; SALDARRIAGA, A.; PEREZ, L.E. 1994. Biología de *Amitus fuscipennis* (Mc Gown y Nebeker), bajo tres condiciones ecológicas en Rionegro (Antioquia). EN: Revista Colombiana de Entomología. Vol: 20 (3). p.143-148.

RAVENSBERG, W.J.; MALAIS, M.; VANDERSCHAAF, D.A. 1990. Applications of *Verticillium lecanii* in tomatoes and acumbers to control whitefly and thrips. SROP/WPRS. Bull XIII/S. p. 173-178.