

UN PRODUCTO



USO DE *Lecanicillium lecanii* PARA EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA *Bemisia tabaci* EN ALGODÓN Y BERENJENA



Uso de *Lecanicillium lecanii* para el control de la Mosca Blanca *Bemisia tabaci* en algodón y berenjena

PROYECTO

“Evaluación y validación de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca *Bemisia tabaci* en algodón, tabaco y berenjena en Tolima, Córdoba y Huila”

Gómez, Martha; Villamizar, Laura; Espinel, Carlos; Varón, Edgar; Jiménez, Nora; Zuluaga, María; Grijalba, Érika; Santos, Adriana; Cruz, Mauricio; Uribe, Liz; Aragón, Sandra; Rivera, Hugo; Cotes, Alba y López, Aristóbulo / Uso de *Lecanicillium lecanii* para el control de la Mosca Blanca *Bemisia tabaci* en algodón y berenjena.

Bogotá (Cundinamarca): CORPOICA, 2012. 74 p.

Palabras clave: BIOPLAGUICIDA, CONTROL BIOLÓGICO, HONGOS ENTOMOPATÓGENOS, BEMISIA TABACI, ALGODÓN, BERENJENA



Líder de proyecto

Ph.D. Martha Isabel Gómez Álvarez

Equipo técnico

Martha Gómez Ph.D., Laura Villamizar D.Sc., Carlos Espinel Ph.D., Édgar Varón Ph.D., Nora Jiménez M.Sc., María Victoria Zuluaga I.A., Érika Grijalba M.Sc., Adriana Santos B.Sc., Mauricio Cruz I.Q., Liz Uribe B.Sc., Sandra Aragón M.Sc., Hugo Fernando Rivera I.A., Alba Marina Cotes Ph.D., Aristóbulo López Ph.D.

Auxiliares de investigación

Juan Carlos Barrios, Luis Felipe Vera, Aníbal Ochoa

Línea de atención al cliente: 018000121515

atencionalcliente@corpoica.org.co

www.corpoica.org.co

ISBN: 978-958-740-106-6

CA: 1474

CUI: 1366

Primera edición: Junio 2012

Tiraje: 450 ejemplares

Producción editorial:

Diagramación, impresión y encuadernación



www.produmédios.org

Tel: 893 7710

Diseño: Javier Nieto

Impreso en Colombia
Printed in Colombia

La presente publicación ha sido elaborada con la cofinanciación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). El contenido de la misma es responsabilidad exclusiva de los investigadores y en ningún caso debe considerarse que refleja los puntos de vista del MADR.



Contenido

5 Introducción

9 Estandarización de la producción masiva a nivel planta piloto de un bioplaguicida diseñado como un granulado dispersable a base de *Lecanicillium lecanii* VL026
Fredy Mauricio Cruz I.Q. y Martha Isabel Gómez Ph.D.

25 Estabilidad de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* formulado como un granulado dispersable (WG)
Adriana Marcela Santos B.Sc., Liz Alejandra Uribe B.Sc.,
María Victoria Zuluaga I.A. y Laura Fernanda Villamizar D.Sc.

33 Sensibilidad de *Lecanicillium lecanii* (Hypocreales: Clavicipitaceae) a agroquímicos empleados en los cultivos de algodón, tabaco y berenjena
Érika Paola Grijalba M.Sc., Martha Isabel Gómez Ph.D.,
María Victoria Zuluaga I.A. y Alba Marina Cotes Ph.D.

45 Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de berenjena
Carlos Espinel Ph.D., María Victoria Zuluaga I.A.,
Nora Jiménez y Martha Gómez Ph.D.

59 Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón
Hugo Fernando Rivera I.A. y María Victoria Zuluaga I.A.



Introducción

Dentro de las especies de moscas blancas, a nivel mundial sobresale por su importancia económica *Bemisia tabaci* (Gennadius), debido a su amplia distribución geográfica, al daño directo e indirecto que ocasiona y al gran número de cultivos que afecta (Rodríguez y Cardona, 2001). El daño más importante causado por la mosca blanca es la transmisión de enfermedades causadas por virus (Brown y Bird, 1992; Perring, 1996), que han incrementado las pérdidas en los cultivos de importantes especies alimenticias e industriales. *B. tabaci* sobresale por su afinidad con los denominados geminivirus o begomovirus (Geminiviridae), de los cuales transmite al menos 50 mundialmente; en América se han detectado geminivirus en algodón, calabaza, chile, lechuga, varias leguminosas, melón, pepino, sandía y tomate (Brown, 1993). Mundialmente, las pérdidas económicas causadas como plaga directa o como vector alcanzan varios centenares de millones de dólares por año (Oliveira et al., 2001).

En un estudio realizado sobre la incidencia de la plaga y las pérdidas ocasionadas en varias regiones de Colombia, la mayor pérdida se evidenció en los departamentos de Tolima, Huila, Cundinamarca, Santander, Córdoba y Cesar, con pérdidas que oscilaron entre el 25 al 100% en cultivos de hortalizas como fríjol, tomate, pepino y berenjena; frutales como melón, y en otros cultivos de importancia económica como algodón y tabaco. En los departamentos de Magdalena, La Guajira y Atlántico, la mosca blanca tuvo una incidencia elevada y registró pérdidas hasta del 100% en cultivos de tomate, patilla, col y melón (López y García, 2000). En el cultivo de algodón en la Costa Atlántica, Llanos Orientales y el interior del país, el biotipo B de *Bemisia tabaci* está ganando mucha importancia, lo cual es preocupante si se tiene en cuenta que aparte del daño directo que produce, también su efecto relacionado con la mielecilla hace que la fibra se pegue, impidiendo su correcto procesamiento en las despulpadoras (Ellsworth et al., 1999).

El reporte que se ha hecho de varios biotipos en diferentes áreas del mundo sugiere que *B. tabaci* podría ser un complejo de especies que está logrando cam-

bios evolucionados rápidamente. *B. tabaci* tiene al menos 19 razas o biotipos bien documentados (denominados con letras, en secuencia, desde la A hasta la S) (Perring, 2001), de los cuales al menos seis están en América (Brown, 1993). Los más difundidos son el biotipo A (biotipo "original" en América), el biotipo B (originario del Viejo Mundo o de Israel según algunos autores) y el biotipo Q (localizado en la cuenca del Mar Mediterráneo). Estos pueden exhibir diferencias en su capacidad y eficiencia en la transmisión de virus, las tasas de desarrollo, la endosimbiosis, los hospederos y el daño a las especies (Brown, 1993).

Se han diseñado diferentes estrategias de manejo de la mosca blanca, siendo el control químico la herramienta más utilizada y en ocasiones la única, lo que conlleva a un riesgo ambiental y de salud humana; además, el uso inadecuado de plaguicidas químicos ha generado el desarrollo de resistencia de la mosca blanca a un gran número de moléculas químicas, tales como piretroides, cipermetrina y deltametrina, incidiendo directamente en la productividad de los cultivos (Rodríguez y Cardona, 2001). Por tal razón, una alternativa para el control de la plaga es el uso de bioplaguicidas a base de microorganismos que atacan naturalmente a los insectos, estrategia conocida como 'control microbiológico'.

En trabajos previos, el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica realizó investigaciones encaminadas hacia la búsqueda y selección de microorganismos entomopatógenos para el control de otra especie problema de mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* (Cotes et al., 2006). Con un aislamiento del hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* proveniente de Sumapaz (García, 1996), se desarrolló un bioplaguicida que consiste en un polvo mojable que contiene filtros solares los cuales le confieren protección ante la radiación ultravioleta. Este producto, al ser evaluado en un cultivo de habichuela, ocasionó un porcentaje de infección del 76,8% y se obtuvo una producción de 11,7 t/ha en contraste con 7 t/ha obtenidas en el tratamiento en el que se aplicaron insecticidas químicos (Jiménez, 2002). Este mismo producto al ser evaluado en un cultivo de tomate bajo invernadero produjo un porcentaje de infección de 68,1% sobre el estado ninfal, porcentaje que fue significativamente diferente con respecto al tratamiento correspondiente a la combinación del bioplaguicida con insecticidas químicos (36,6%). Asimismo, en el tratamiento con el bioplaguicida se obtuvo la mayor producción, siendo esta de 68 kg/ha (Garzón, 2004). Este insecticida microbiano también fue evaluado contra ninfas de *B. tabaci* bajo condiciones de laboratorio, ocasionando un porcentaje de eficacia de 71,2% (Espinel et al., 2007a).



Por otro lado, con una cepa nativa de *Paecilomyces fumosoroseus*, seleccionada por su alta actividad biocontroladora contra *B. tabaci*, se desarrolló un preformulado a base de un aislamiento nativo como alternativa para el control de esta última, el que también consistió en un polvo mojable con protectores UV mezclado con una base oleosa y se reconstituye en agua para ser aplicado con bombas de espalda (Espinel et al., 2007a). Posteriormente, se evaluó un esquema MIP en un cultivo de melón y en uno de tomate cherry bajo cubierta en El Espinal (Tolima), incluyendo el preformulado de *P. fumosoroseus* y el bioplaguicida de *L. lecanii*, comparándolo con un tratamiento agricultor. La producción total de melón en la parcela en la que se aplicó el bioplaguicida a base de *L. lecanii* fue de 29,4 t/ha y tuvo una rentabilidad de \$10.504.514; el tratamiento con *P. fumosoroseus* tuvo una producción de 27,3 t/ha y una rentabilidad de \$8.959.114; la producción del agricultor fue de 25 t/ha y su rentabilidad de \$7.342.854. En el caso del tomate, la mayor producción se dio con el tratamiento con *P. fumosoroseus* (14,7 t/ha), seguida por *L. lecanii* (13,8 t/ha) y por el tratamiento agricultor con 13,6 t/ha (Espinel et al., 2007b).

Para completar la información de la eficacia de estos bioplaguicidas en otros cultivos de importancia económica en Colombia, este trabajo presenta parte de los resultados generados en el proyecto de investigación "Evaluación y validación de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca *Bemisia tabaci* en algodón, tabaco y berenjena en Tolima, Córdoba y Huila", financiado por el MADR durante los años 2007 a 2011.

Referencias

- Brown, J. (1993). Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América desde 1989 a 1992. En: (Eds.) Catie. Las moscas blancas en América Central y el Caribe. Hilje, y Arboleda. Turrialba, Costa Rica: Serie Técnica, Informe Técnico No. 205. pp.1-9.
- Brown, K.; Bird, J. (1992). Whitefly transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean basin. Plant Disease. 76: 220-225.
- Bruck, D. J. (2009). Impact of fungicides on *Metarhizium anisopliae* in the rhizosphere, bulk soil and in vitro. Biological Control. 54: 597-606.
- Cotes, A.; López-Ávila, A.; Villamizar, L.; Díaz, A.; Espinel, C.; Torres, L.; García, J. (2006). Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas. Andrés Díaz (Ed.) Bogotá: Corpoica - Colciencias. 20 p.
- Ellsworth, P.; Tronstad, R.; Leser, J.; Goodell, P.; Godfrey, L.; Henneberry, T.; Hendrix, D.; Brushwood, D.; Naranjo, S.; Castle, S. (1999). Sticky cotton, sources and solutions. University of Arizona: IPM Series No. 13. pp. 1-2.
- Espinel, C.; Torres, L.; Grijalba, E.; Villamizar, L.; Cotes, A. (2007a). Desarrollo y evaluación de preformulados para el control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de laboratorio. Revista Colombiana de Entomología. En prensa.

- Espinel, C.; Lozano, M.; Villamizar, L.; Grijalba, E.; Cotes, A. (2007b). Evaluación de un preformulado a base de *Paecilomyces* sp. para el control de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos de melón y tomate. Revista Colombiana de Entomología. En prensa.
- 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). Colombia: Universidad Nacional. Trabajo de grado. Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. 121 p.
- Garzón, I. (2004). Evaluación de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* aplicado con un equipo neumático, para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Colombia: Universidad Nacional. Trabajo de grado. Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. 48 p.
- Jiménez, L. (2002). Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida a base de *Verticillium lecanii* para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* en un cultivo de habichuela. Colombia: Universidad Nacional. Trabajo de grado. Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. 83 p.
- López-Ávila, A.; García, J. (2000). Manejo integrado sostenible de Moscas Blancas como plagas y vectores de virus en los trópicos. 1. Reconocimiento, diagnóstico y caracterización de moscas blancas como plagas en el trópico alto de América Latina. Informe final. Convenio Danida-Corpoica. Ciat. 43 p.
- Oliveira, M.; Henneberry, T.; Anderson, P. (2001). History, current status and collaborative research projects for *B. tabaci*. Crop protection (20): 709-723.
- Perring, T. (1996). Biological differences of two species of *Bemisia* that contribute to adaptive advantage. In: Gerling, D.; Mayer, D. (Eds). *Bemisia: 1995, taxonomy, biology, damage, control and management*. Andover, U.K.: Intercep. Ltda. pp. 3-16.
- Perring, T. (2001). The *Bemisia tabaci* species complex. Crop protection. 20: 725-737.
- Rodríguez, I.; Cardona, C. (2001). Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle de Cauca. Revista Colombiana de Entomología 27 (1-2): 21-26.



Estandarización de la producción masiva a nivel planta piloto de un bioplaguicida diseñado como un granulado dispersable a base de *Lecanicillium lecanii* VL026

Fredy Mauricio Cruz I.Q.; Martha Isabel Gómez Ph.D.

Investigadores Planta de Bioplaguicidas, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Km 14 vía Bogotá-Mosquera. E-mail: mgomez@corpoica.org.co

INTRODUCCIÓN

A partir de la cepa VL026 de *L. lecanii* se desarrolló a nivel de laboratorio un bioplaguicida granulado dispersable para aplicación foliar, el cual cuenta con diferentes coadyuvantes y protectores frente a los rayos ultravioleta del sol (Santos *et al.*, 2011). Este producto presenta una concentración de $1,0 \times 10^{10}$ conidios por gramo y una germinación superior al 80% a las 24 horas. En cuanto a sus características fisicoquímicas, presenta un pH en suspensión entre 5,5 y 6,5, un contenido de humedad inferior al 5% y un tiempo de desintegración inferior a 2 minutos. Con el propósito de transferir esta tecnología de bajo impacto ambiental y permitir que sea comercialmente disponible, es necesario estandarizar la manufactura del bioinsumo a nivel de planta piloto, determinando las condiciones involucradas en su producción masiva mediante técnicas de fermentación en estado sólido y estandarizando las operaciones unitarias involucradas en la formulación de los conidios como un granulado dispersable.

La producción masiva del género *Lecanicillium* spp. generalmente se ha realizado mediante fermentación en estado sólido (SSF), siendo esta técnica más económica y menos residual al ambiente comparada con la fermentación sumergida

(SmF). Además, se ha demostrado que los conidios de *Lecanicillium* spp. producidos por fermentación sólida poseen un mayor tamaño y uniformidad, así como una pared celular más gruesa que les permite ser más resistentes a condiciones adversas del medio ambiente que aquellos conidios producidos por fermentación sumergida, los cuales son más pequeños y en ocasiones menos viables (Feng et al., 2002).

En la actualidad existen pocos diseños disponibles de biorreactores para fermentación sólida, principalmente debido a los problemas de control del pH, la aireación y la transferencia de calor en el sustrato. No obstante, se distinguen cuatro grandes sistemas de fermentación sólida: los lechos empacados (Durand et al., 1993), los tambores rotatorios (Prado et al., 2004; Stuart et al., 1999), los cuartos de incubación con control de temperatura y humedad (Leza y Rodríguez, 2007) y los fermentadores con bandejas perforadas (Pandey et al., 2001). Estos dos últimos sistemas fueron evaluados en el presente trabajo para la producción masiva de *L. lecanii* VI026 a nivel planta piloto.

Entre los principales objetivos de la formulación de hongos entomopatógenos como *L. lecanii* VI026 están: proteger el microorganismo de factores ambientales deletéreos, mejorar su estabilidad en almacenamiento, facilitar su aplicación y manipulación por parte de los agricultores. Entre las formulaciones más usadas en el desarrollo de esta clase de productos fitosanitarios a base de hongos se encuentran polvos mojables, polvos secos, gránulos dispersables, microencapsulados, concentraciones emulsionables y suspensiones concentradas (Caraballo, 1998; Fragas et al., 2007). Para formular un hongo es necesaria la utilización de agentes humectantes, dispersantes, reguladores de la viscosidad, protectores de luz UV, desintegrantes, tensoactivos, solventes, emulsificantes o gelificantes, y otros aditivos que pueden ser nutrientes o estimulantes. Estos materiales favorecen la viabilidad del hongo, mejoran su desempeño en el campo y facilitan su aplicación (Lecuona, 1996; Batista et al., 2005).

METODOLOGÍA

ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE *L. lecanii* VI026

Este trabajo se realizó en las instalaciones de la Planta de Producción de Bioplaguicidas de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica, Colombia.



La cepa VI026 de *L. lecanii* fue suministrada por el Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Control Biológico de Corpoica, la cual se encontraba criopreservada a -70 ± 2 °C. Ésta fue inoculada en cajas Petri con medio agar papa dextrosa (PDA) e incubada a 25 ± 2 °C por 10 días, para luego ser utilizada en la preparación de los inóculos.

Para la producción de *L. lecanii* VI026 se evaluaron dos metodologías de producción masiva del hongo mediante fermentación en estado sólido: la primera consistió en el uso de bandejas perforadas con el sustrato inoculado, soportadas en un escabiladero e incubadas en un cuarto caliente; y la segunda, en un biorreactor diseñado como una cámara cerrada con un sistema de calentamiento por convección forzada de aire.

Preparación del sustrato

En evaluaciones previas llevadas a cabo en el Laboratorio de Control Biológico, se estandarizó la preparación del inóculo de *L. lecanii* VI026 en medio líquido y la composición del sustrato de crecimiento sólido a base de arroz y salvado. Las preparaciones del sustrato y del inóculo fueron comunes para las dos metodologías evaluadas de fermentación sólida. Inicialmente, 1.250 g de arroz se mezclaron con 2.500 mL de agua y se licuaron por 3 minutos; a continuación la mezcla resultante se esterilizó en una autoclave T-Chang TC 612 a 121 ± 2 °C por 20 minutos. Posteriormente, se mezclaron 530 g del arroz licuado con 1.420 mL de agua y 500 g de salvado seco en una mezcladora marmita Hobart N50 durante 5 minutos. La mezcla resultante se empacó en unidades de 1.200 g, las cuales se llevaron a esterilización a 121 ± 2 °C por 20 minutos.

Preparación del inóculo

A partir del hongo crecido durante 7 días en cajas Petri con medio PDA, se preparó en una solución de Tween 80 al 0,1% una suspensión de conidios de *L. lecanii* VI026 a una concentración de $1,0 \times 10^7$ conidios/mL. Posteriormente, esta suspensión fúngica fue inoculada en erlenmeyers que contenían 800 mL de medio Sabouraud líquido a razón de 1,25 mL por cada 100 mL de medio. Los medios fueron incubados a 24 ± 2 °C y 150 rpm de agitación durante 96 horas, tiempo después del cual fueron utilizados como inóculo de los sistemas de fermentación en estado sólido.

Inoculación e incubación

Después de las 96 horas de incubación de los erlenmeyers, la inoculación de la matriz se realizó a razón de 250 mL por bolsa, que contenía 1.200 g de sustrato estéril. La mezcla se homogeneizó para luego disponer el contenido en bandejas perforadas de acero inoxidable con dimensiones de 69 cm x 43 cm x 2,7 cm.

Para cada sistema de fermentación se evaluaron tres lotes de producción utilizando 4 bandejas con sustrato inoculado, para un peso aproximado de 6 kg por lote. Para ambas metodologías las bandejas se mantuvieron en un escabiladero cubierto en todo su perímetro con una película plástica, lo que permitió el aislamiento y conservación de la humedad del sustrato. No obstante, las metodologías difirieron en el lugar de incubación: en la primera, el escabiladero embalado se ubicó en un cuarto de incubación caliente a condiciones promedio de 24 ± 3 °C y 40 ± 5 % de humedad, mientras que en la segunda, el escabiladero se mantuvo en una cámara cerrada con convección forzada de aire estéril y control de temperatura interna a 24 ± 1 °C y 40 ± 5 % de humedad (Figura 1). En ambos casos, las condiciones de temperatura y humedad se monitorearon con un termohigrómetro digital EXTECH.

Después del 4°, 6°, 8° y 10° día de incubación, se tomaron cuatro muestras de 5 g correspondientes a las bandejas evaluadas. A cada muestra se le determinó el contenido de humedad (%) utilizando una balanza halógena Kern MLS-50 y la concentración de conidios por gramo mediante recuento en cámara de Neubauer. Para la evaluación de los dos sistemas de fermentación, el diseño experimental fue completamente al azar con tres lotes en el tiempo, cada uno con cuatro unidades experi-



Figura 1. Cámara con convección forzada de aire para la fermentación en estado sólido de *L. lecanii* VIO26.



mentales (bandejas) y estimaciones tomadas por triplicado. Finalmente, se realizó un análisis de coeficientes de variación, test de Bartlett y comparación de medias (Tukey 95%). Los datos obtenidos de concentración para cada sistema de fermentación se transformaron a base seca utilizando el porcentaje de humedad de cada sustrato.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sistema de escabiladero y cuarto caliente

En el sistema de fermentación sólida con incubación en cuarto caliente se encontró que entre el octavo y el décimo día de fermentación se alcanzaron concentraciones superiores a $1,0 \times 10^9$ conidios/g para los tres lotes evaluados. No existieron diferencias significativas (Tukey 95%) entre los valores obtenidos al décimo día de fermentación, alcanzándose concentraciones de $4,24 \times 10^9$; $3,82 \times 10^9$ y $2,83 \times 10^9$ conidios/g para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente, con un valor promedio de $3,63 \times 10^9$ conidios/g (Figura 2).

Los coeficientes de variación para esta variable fueron inferiores al 5% al décimo día, con valores de 2,54%, 1,37% y 1,57% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

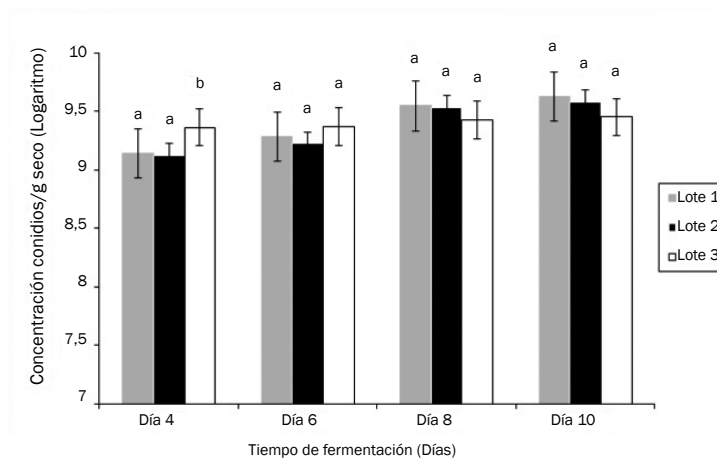


Figura 2. Concentración de conidios durante la fermentación sólida de 3 lotes de *L. lecanii* VI026 en el sistema de escabiladero y cuarto caliente (Tukey 95%).

En cuanto al contenido de humedad del sustrato durante la fermentación de *L. lecanii* VI026 en el sistema de escabiladero y cuarto caliente, se encontró una tendencia de disminución en el tiempo. La humedad promedio del sustrato en el momento de la inoculación fue de 79,28%, la cual disminuyó progresivamente en más de un 20% hasta alcanzar en el décimo día valores de 66,94%, 64,92% y 59,94% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 3). Al décimo día de fermentación se

encontraron diferencias significativas entre el lote 3 y los lotes 1 y 2 (Tukey 95%); para esta variable, los coeficientes de variación fueron superiores al 10% (15,39%, 14,66% y 10,58%) para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

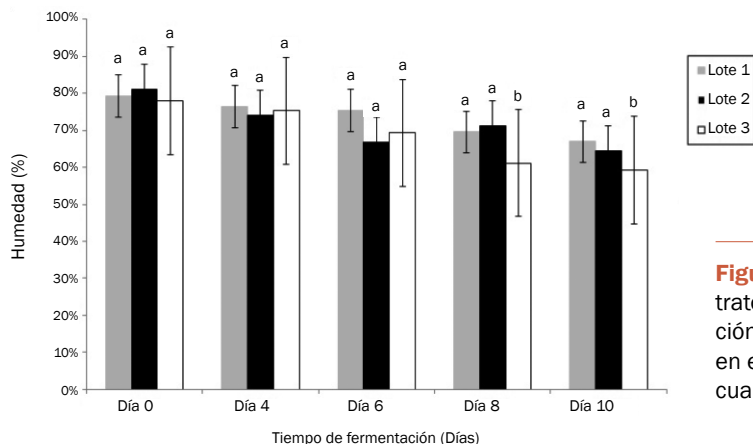


Figura 3. Humedad del sustrato (%) durante la fermentación sólida de *L. lecanii* VIO26 en el sistema escabiladero y cuarto caliente (Tukey 95%).

En este sistema de fermentación se observó un crecimiento del hongo homogéneo en cada bandeja y la colonización fue completa en toda la superficie (Figura 4). La productividad promedio alcanzada fue de $1,08 \times 10^{10}$ conidios/kg/h (Tabla 1).

Tabla 1. Productividad de *L. lecanii* VIO26 producido en escabiladero y cuarto caliente.

Lote	(Conidios/kg/h)
1	$1,26 \times 10^{10}$
2	$1,14 \times 10^{10}$
3	$8,43 \times 10^{10}$
Promedio	$1,08 \times 10^{10}$

Sistema de cámara y aireación forzada

En el sistema de fermentación sólida en la cámara con aireación forzada, se encontró un aumento gradual de la concentración durante todo el tiempo, llegando a valores al décimo día de $3,82 \times 10^9$; $3,54 \times 10^9$ y $4,86 \times 10^9$ conidios/g para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente (Gráfica 3). Desde el sexto día de fermentación se alcanzaron valores superiores a $1,5 \times 10^9$ conidios/g y no se encontraron diferencias significativas para esta variable entre lotes, tanto al sexto, octavo y décimo día de fermentación (Tukey 95%) (Figura 5). Los coeficientes de variación para la concen-



Figura 4. Crecimiento de *L. lecanii* VI026 en escabiladero y cuarto caliente.

tracción al décimo día fueron inferiores al 2%, con lo que se obtuvieron coeficientes de 0,76%, 1,66% y 1,14% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

Cualitativamente, el crecimiento del hongo en las bandejas en el sistema de cámara con aireación forzada fue bastante homogéneo y la colonización del sustrato fue completa, aunque como en el sistema de escabiladero y cuarto caliente la colonización del hongo fue estrictamente superficial sobre el sustrato (Figura 6).

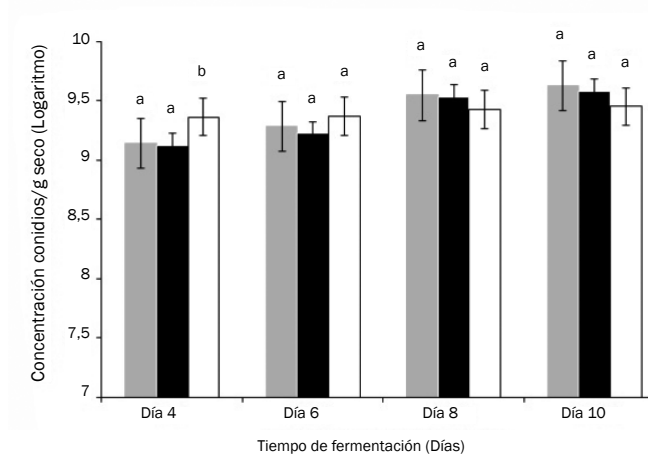


Figura 5. Concentración de conidios durante la fermentación sólida de 3 lotes de *L. lecanii* VI026 en el sistema cámara con aireación forzada (Tukey 95%).

En cuanto al contenido de humedad del sustrato durante las fermentaciones de *L. lecanii* VI026, este disminuyó en el tiempo y alcanzó al décimo día valores de 34,70%, 45,75% y 10,93% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 7). Estos resultados fueron significativamente diferentes entre sí (Tukey 95%) y variables en cuanto a sus coeficientes de variación, ya que en los lotes 1 y 2 se encontraron coeficientes superiores al 14%, y sólo en el lote

Figura 6. Crecimiento de *L. lecanii* VI026 en el sistema de cámara y aireación forzada.



1 se encontró un coeficiente de variación menor al 10%. Los valores encontrados fueron de 14,86%, 21,71% y 6,88% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

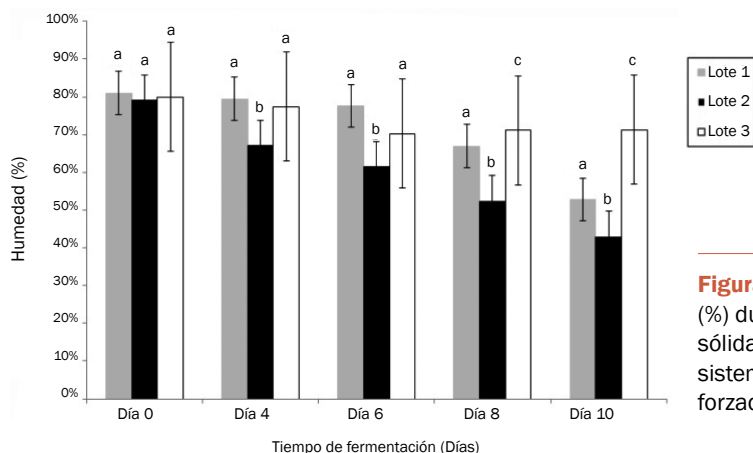


Figura 7. Humedad del sustrato (%) durante la fermentación sólida de *L. lecanii* V1026 en el sistema cámara con aireación forzada (Tukey 95%).

La productividad promedio alcanzada en este sistema de fermentación fue de $1,21 \times 10^{10}$ conidios/kg/h (Tabla 2).

Tabla 2. Productividad de *L. lecanii* V1026 producido en cámara con aireación forzada.

Lote	(Conidios/kg/h)
1	$1,14 \times 10^{10}$
2	$1,05 \times 10^{10}$
3	$1,45 \times 10^9$
Promedio	$1,21 \times 10^{10}$

En general, la concentración de *L. lecanii* V1026 después del sexto día de fermentación no presentó diferencias significativas (Tukey 95%) entre los dos sistemas de fermentación evaluados (Figura 8), lo que sugiere que ambos sistemas se comportaron de la misma forma.

Los valores de concentración a partir del octavo día de fermentación estuvieron por encima de $1,0 \times 10^9$ conidios/g. Estos resultados son similares a los alcanzados por Feng y Tzeng (2000), cuyos resultados en fermentación sólida con *Verticillium lecanii* F091 después de 14 días fueron de $1,5 \times 10^9$ conidios/g y de $1,4 \times 10^9$ conidios/g, utilizando arroz húmedo y una mezcla de arroz y salvado de trigo como sustratos respectivamente. Ambos sistemas se comportaron de la misma forma, lo que se podría explicar por la similitud de las condiciones durante la incubación

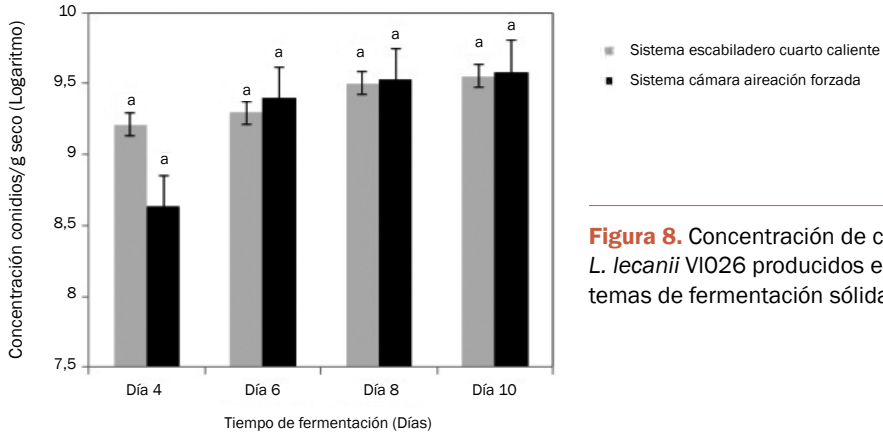


Figura 8. Concentración de conidios de *L. lecanii* V1026 producidos en dos sistemas de fermentación sólida.

(temperatura y humedad), las cuales no difirieron marcadamente entre los sistemas, excepto por la presencia de corrientes de aire forzada en el sistema de cámara.

En los dos sistemas de fermentación para la variable concentración se encontraron coeficientes de variación inferiores al 4%, lo que sugiere una poca variabilidad para esta característica y un alto grado de reproducibilidad de la operación.

Para el contenido de humedad en ambos sistemas de fermentación se encontró una alta variabilidad, ya que tanto para los tres lotes evaluados en el sistema de escaliladero y para los lotes 1 y 2 en el sistema de cámara se encontraron coeficientes de variación superiores al 10%, mientras que sólo en el lote 3 se encontraron coeficientes de variación inferiores al 10% (6,88%).

La alta variabilidad en el contenido de humedad del sustrato se podría atribuir a la formación de gradientes de humedad entre bandejas, producto de corrientes de aire irregulares en velocidad y temperatura y/o zonas estacionarias formadas dentro del lecho de fermentación, lo que podría haber generado dinámicas de evaporación diferentes entre bandejas. Se presume también que la aparición de gradientes de humedad entre bandejas en el sistema de escaliladero fue influenciada por el alto espaciado entre ellas (8 cm) (Leza *et al.*, 2007). La velocidad de pérdida de humedad del sustrato en la metodología de cámara fue superior a la del sistema de escaliladero; es así como en el lote 2 se llegó a perder hasta un 45,77% de humedad en relación con la humedad inicial. Esta excesiva pérdida de humedad se podría atribuir a fenómenos de evaporación del agua del sustrato, producto de las corrientes de aire convectivas y no saturadas propias de este sistema. Asimismo, la distribución espacial de las bandejas al interior de la cámara podría haber influido

en las diferencias significativas encontradas entre lotes, ya que las bandejas ubicadas en la parte superior de la cámara posiblemente se sometían a una velocidad del aire mayor al estar más cercanas a la salida del ventilador del fermentador.

Los resultados de productividad son comparables a los encontrados por Yujie y colaboradores (2009), cuyos estudios en la optimización de la producción de conidios de *Verticillium lecanii* CBS 102207 mediante fermentación sólida mostraron después de 11 días una productividad de $3,1 \times 10^{10}$ conidios/kg/h, utilizando bagazo de caña de azúcar como soporte inerte de una solución nutritiva de harina de maíz, extracto de levadura, KHPO_4 y MgSO_4 .

Igualmente, al comparar los resultados de productividad obtenidos en otros estudios diferentes, se demuestra el potencial de las metodologías evaluadas; es así como en fermentaciones con *Beauveria bassiana* KK5 se encontraron productividades cercanas a $5,41 \times 10^9$ conidios/kg/h utilizando arroz como sustrato (Tuan et al., 2010). Por otra parte, con el hongo *Coniothyrium minitans* se encontró una productividad de $1,11 \times 10^{10}$ conidios/kg/h en un fermentador rotatorio y avena como sustrato (Oostra et al., 2000), mientras que para el hongo *Metarhizium anisopliae* E6 se encontraron valores de $6,20 \times 10^{10}$ conidios/kg/h en un fermentador de lecho empacado y arroz como sustrato (Blas et al., 1996).

Al comparar las productividades obtenidas de *L. lecanii* VI026 para los dos sistemas de fermentación evaluados ($>1,0 \times 10^{10}$ conidios/kg/h) con los descritos anteriormente, se podría afirmar que cualquiera de los dos sistemas se podrían utilizar para la producción masiva de este hongo a nivel planta piloto, lo que permitiría su inclusión como principio activo de un bioplaguicida granulado dispersable para el control de plagas de mosca blanca como *B. tabaci* y *T. vaporariorum*.

ESCALAMIENTO DEL PROCESO DE FORMULACIÓN DE *L. lecanii* VI026

Metodología

Una vez se estandarizaron las metodologías de fermentación para la producción masiva de *L. lecanii* VI026, se desarrolló el escalamiento a nivel de planta piloto de la formulación del bioplaguicida diseñado como un granulado dispersable (WG).

Para el escalamiento del proceso de formulación se definieron los puntos críticos de cada una de las operaciones unitarias involucradas (Figura 9). La importan-



cia de los puntos críticos radica en el control que estos ejercen sobre los procesos, de manera que permiten definir si un lote terminado o en proceso es aprobado o rechazado. Los puntos críticos del proceso de formulación de *L. lecanii* VI026 fueron, en su orden, el contenido de humedad de la mezcla y la concentración final después del proceso de secado (conidios/g).

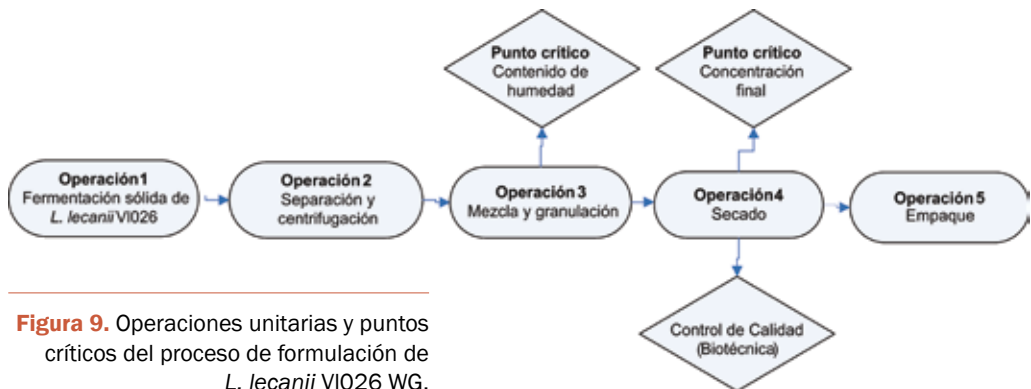


Figura 9. Operaciones unitarias y puntos críticos del proceso de formulación de *L. lecanii* VI026 WG.

Para los estudios de formulación de los conidios de *L. lecanii* VI026 se utilizó el sistema de escaliladero y cuarto caliente como metodología de producción masiva del hongo.

Operación de separación y centrifugación

Los conidios obtenidos en el proceso de fermentación sólida por la metodología de escaliladero y cuarto caliente fueron separados por medio de un proceso de centrifugación por batch. Inicialmente, los conidios fueron separados del sustrato mediante un lavado, utilizando solución detergente Tween 80 (0,1%v/v) en una relación 2:1 Tween 80: sustrato esporulado. La suspensión resultante fue filtrada a través de una tela muselina, obteniendo un extracto concentrado de conidios que se centrifugó por 20 minutos en un equipo Rotina 420, cuya velocidad promedio de operación fue de 4.500 rpm.

La biomasa obtenida (conidios húmedos) fue pesada para posteriormente determinar la concentración (conidios/g) por recuento en cámara de Neubauer y el contenido de humedad en una balanza Kern MLS-50. Al final de la operación, se determinó el rendimiento en términos de gramos de conidios húmedos por kilogramo de sustrato procesado para los tres lotes evaluados.

Operación de mezcla y granulación

Los conidios húmedos fueron mezclados con excipientes que brindan al bioplaguicida final propiedades de desintegración y protección frente a los rayos ultravioleta del sol. Inicialmente, los excipientes fueron mezclados por cinco minutos en un mezclador marmita Hobart N50 en el segundo nivel del intensificador, luego los conidios húmedos se incorporaron a la marmita poco a poco. Al final de la mezcla se tomaron tres muestras de 5 g en puntos diferentes de la marmita con el fin de determinar el contenido de humedad (%) en una balanza Kern MLS-50. Con la mezcla resultante se realizó la operación de granulación, utilizando para ello un granulador oscilante YK160 y una malla con tamaño de poro de 8 mm. La mezcla se adicionó al granulador lentamente a razón de 2 kg por minuto, obteniendo gránulos cilíndricos con un tamaño entre 30 mm y 120 mm.

Operación de secado

El porcentaje de humedad es de gran importancia, ya que para que el microorganismo se encuentre en un estado de latencia es necesario almacenarlo a bajas humedades. Para la mayoría de productos de control biológico se sugiere mantenerlos con humedades inferiores al 10% (Borges, 2000). El secado de los gránulos formulados a base de *L. lecanii* VI026 se llevó a cabo en un cuarto para ello con las siguientes características: dimensiones de 1,3 m x 1 m x 2 m, 41 cortinas móviles para el paso del aire y controladores de temperatura *Autonics* del tipo TZ4ST y TZN4S. La operación fue un secado directo por 24 horas, a 24+/-1 °C con aire de humedad relativa promedio del 50%.

El producto granulado seco fue empacado en bolsas metalizadas al vacío en una selladora Komet Plus Vac 20.

Resultados y Discusión

Operación de separación y centrifugación

Los conidios húmedos obtenidos en los tres lotes presentaron humedades entre el 81,80% y 82,15% (Tabla 3). En cuanto a la concentración, se encontraron valores entre $9,40 \times 10^9$ y $1,12 \times 10^{10}$ conidios/g, con un valor promedio de $1,02 \times 10^{10}$ conidios/g (Gráfica 6). Para el rendimiento en términos de gramos de conidios por kilogramo de biomasa procesada se observaron valores entre 110,1 y 165,2 g/kg (Tabla 3).



Tabla 3. Caracterización de los conidios húmedos *L. lecanii* VI026 obtenidos en la operación de separación.

Lote	Concentración de conidios (conidios/g)	Rendimiento (g conidios húmedos/kg biomasa procesada)	Humedad (%)
1	9,40 x 10 ⁹	165,2	82,15
2	1,01 x 10 ¹⁰	127,3	81,80
3	1,12 x 10 ¹⁰	110,1	82,14

Operación de mezcla y granulación

En cuanto a la humedad final de la mezcla, no se encontraron diferencias significativas entre lotes (Tukey 95%) (Tabla 4), lo que indica un alto grado de reproducibilidad en el tiempo. Los valores de humedad en mezcla permitieron una operación de granulación satisfactoria, con rendimientos superiores a 2 kg/min y pérdidas en operación despreciables. Asimismo, se favoreció la formación de un gránulo homogéneo en forma y tamaño, así como la ausencia de fenómenos viscoelásticos del producto.

Operación de secado

En la Tabla 4 se evidencian los contenidos de humedad finales de los granulados de los tres lotes, los cuales fueron inferiores al 6%. Adicionalmente, no se presentaron diferencias significativas entre lotes después de 24 horas de operación (Tukey 95%). Los resultados en esta operación sugieren que un tiempo de 24 horas podría ser suficiente para lograr los contenidos de humedad requeridos en el producto, siendo este un parámetro importante en la formulación de productos a base de hongos por afectar directamente la viabilidad (Pandey, 2001).

Tabla 4. Humedad (%) de la mezcla y producto seco a base de *L. lecanii* VI026.

Lote	Mezcla Humedad (%)	Secado Humedad (%)
1	51,59	4,61
2	51,72	4,57
3	54,39	5,29

Caracterización del producto final

Una vez terminados los procesos de producción del bioplaguicida, cada uno de los lotes se sometió a un análisis de control de calidad por parte del Laboratorio de Control de Calidad de Bioplaguicidas certificado Biotécnica. La concentración en conidios de los granulados finales se estimó mediante el recuento en cámara de Neubauer. La germinación (%) de los formulados se determinó después de 24 horas de incubación en medio agar agua Benomil 0,003%. Por otro lado, el contenido de contaminantes se determinó mediante el recuento en placa a las 24 horas en medio agar nutritivo.

Los tres lotes de producto terminado (Figura 10) presentaron una concentración superior a $8,40 \times 10^9$ conidios/g, una germinación entre 82,6% y 93,16% y un contenido de contaminantes bacterianos inferior a $3,96 \times 10^6$ UFC/g. Los resultados del control de calidad se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5. Control de calidad del bioplaguicida a base de *L. lecanii* VI026.

Lote	Concentración (conidios/g)	Germinación (%)	Contaminantes (UFC/g)
1	$1,34 \times 10^{10}$	82,60	$3,93 \times 10^6$
2	$8,40 \times 10^9$	95,01	$1,36 \times 10^5$
3	$9,90 \times 10^9$	93,16	$2,16 \times 10^5$

Los resultados obtenidos en el proceso de formulación permitieron el cálculo de los límites de tolerancia superiores (LTS) e inferiores (LTI) para algunas características del proceso de manufactura y el producto final. Las tolerancias fueron obtenidas por índices de capacidad (Cp) que relacionan la diferencia entre la media experimental y los valores esperados o nominales para cada característica, así como la variabilidad de los resultados

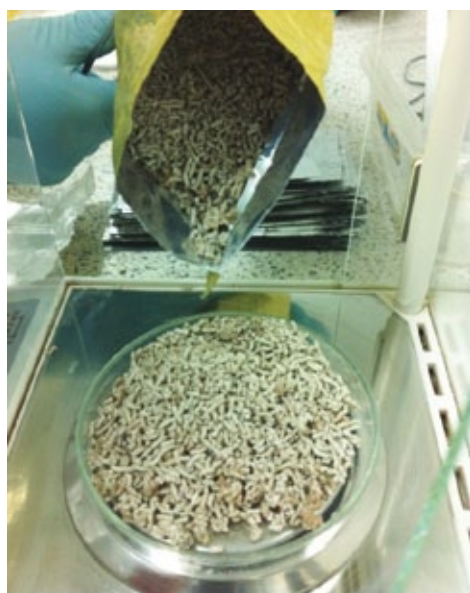


Figura 10. Bioplaguicida desarrollado como un granulado dispersable a base de *L. lecanii* VI026.



(desviación estándar) (Tabla 6). Los valores LTS y LTI se definieron como el valor nominal más o menos tres desviaciones estándar respectivamente. Según Salazar (2003), los índices de capacidad con valores cercanos a la unidad indican que los resultados del proceso siguen una distribución normal, y por consiguiente, el proceso de manufactura se considera centrado entre los límites LTS y LTI. Los límites LTS y LTI permiten un control del proceso y la aprobación y/o rechazo del producto final.

Al comparar los resultados de control de calidad de los lotes producidos (Tabla 5) con los límites de tolerancia obtenidos, se puede concluir que todos los lotes fueron aprobados en función de los límites de tolerancia superiores (LTS) e inferiores (LTI) del producto, y que el proceso de formulación del granulado dispersable a base de *L. lecanii* VIO26 cumple las condiciones de control (Salazar, 2003).

Tabla 6. Límites de tolerancia superior e inferior calculados para las principales características del proceso.

Característica	LTS	V. Nominal	LTI	Cp
Humedad de mezcla (%)	51,59	53,0	54,39	1,09
Concentración de producto (conidios/g)	$1,51 \times 10^{10}$	$1,00 \times 10^{10}$	$4,87 \times 10^9$	0,92
Germinación (%)	98,4	85	80	0,93
Contaminantes de producto (UFC/g)	$6,34 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	N.A	1,08

LTS: Límite de tolerancia superior; LTI: Límite de tolerancia inferior; V. nominal: Valor nominal

CONCLUSIONES

Los dos sistemas de fermentación sólida de *L. lecanii* VIO26 evaluados (bandejas en escaliladero en cuarto caliente y cámara cerrada con sistema de calentamiento por convección forzada de aire) pueden ser usados en la producción masiva del principio activo del bioplaguicida desarrollado para el control de la mosca blanca (*B. tabaci* y *T. vaporariorum*).

Las operaciones unitarias involucradas en el proceso de formulación del bioplaguicida se consideran centradas y bajo control, en función de los resultados de los índices de capacidad cercanos a la unidad.

Referencias

- Batista, L. L.; Silva, M. (2005). Efeito de aditivos sobre a viabilidade e virulência de formulados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. Brasil: Acta Biológica Leopoldensia 27(2): 67-71.
- Blas, D.; Rodolfo, J.; Arcas, J. (1996). Characterization of growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* in solid-substrate fermentation. Enzyme and Microbial Technology (19): 434-439.
- Burges, H. D. (ed). (1998). Formulation of microbial biopesticides. Kluwer academic publishers, 9. ISBN 0412625202.
- Caraballo, M. (1998). Formulación de hongos entomopatógenos, Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica (47):1-4.
- Durand, A.; Renaud, R.; Almanza, S.; Maratray, J.; Diez, M.; Desgranges, C. (1993). Solid-state fermentation reactors: from lab scale to pilot plant. Biotechnology Advances (11): 591-597.
- Feng, K.C.; B. Liu, K.; Tzeng Y. (2000). *Verticillium lecanii* spore production in solid state and liquid state fermentation. Bioprocess Engineering. pp. 25-29.
- Feng, K.C., Liu, B. L., Tzeng Y. M. (2002). Morphological characterization and germination of aerial and submerged spores of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. Journal of Microbiology & Biotechnology (18): 217-224.
- Fragas, I.; Fleitas, G.; Hidalgo, L. (2007). Formulación de hongos entomopatógenos como control biológico. La Habana: Disponible en [http:// www.monografias.com/trabajos17/formulacion-de-hongos/formulacion-de-hongos.shtml](http://www.monografias.com/trabajos17/formulacion-de-hongos/formulacion-de-hongos.shtml) (Consulta: 20 de diciembre del 2008).
- Lecuona, R. E. (1996). Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Argentina: Ed. R. E. Lecuona.
- Leza, R.; Rodríguez, J. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. Iztapalapa, Distrito Federal, México: Revista mexicana de ingeniería química, año/Vol 6 número 001. Universidad Autónoma Metropolitana. pp. 33-40.
- Oostra, J.; Tramper, J.; Rinzema, A. (2000). Model-based bioreactor selection for large scale Solid state cultivation of *Coniothyrium minitans* spores on oats. Enzyme and Microbial Technology (27): 652-663.
- Pandey, A.; Soccol, C. R.; Rodríguez-León, J.; Nigam, P. (2001). Solid-state fermentation in biotechnology. New Delhi: Asiatech Publishers Inc.
- Prado, F. C.; Vandenberghe, L. P. S.; Lisboa, C.; Paca, J.; Pandey, A.; Soccol, C. R. (2004). Relation between citric acid production and respiration rate of *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. Engineering in Life Sciences (4): 179-186.
- Salazar, R. (2003). Tecnología farmacéutica industrial, fabricación y control de medicamentos sólidos de administración por vía oral. Tomo II, ISBN 84-931913-6-1. pp. 90-120.
- Santos, A. M.; Uribe, L. A.; Zuluaga, M. V.; Villamizar, L. F.; Gómez, M. I. (2011). Cambio climático: Retos y Oportunidades para la Entomología. Sociedad Colombiana de Entomología -SOCOLEN Congreso 38.
- Stuart, D. M.; Mitchell, D. A.; Johns, M. R.; Litster, J. D. (1999). Solid-state fermentation in rotating drum bioreactors: operating variables affect performance through their effects on transport phenomena. Biotechnology and Bioengineering (63): 383-391.
- Tuan, A. P.; Jeong, J. K.; Keun, K. (2010). Optimization of Solid-State Fermentation for Improved Conidia Production of *Beauveria bassiana* as a Mycoinsecticide. Mycobiology, The Korean Society of Mycology 38(2): 137-143. DOI: 10.4489/MYCO. 2010.38.2.137
- Yujie, S.; Xiangqun, X.; Yang, Z. (2009). Optimization of *Verticillium lecanii* spore production in solid state fermentation on sugarcane bagasse. Applied Microbiology Biotechnology (82): 921-927.



Estabilidad de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* formulado como un granulado dispersable (WG)

Adriana Marcela Santos B.Sc., Liz Alejandra Uribe B.Sc,
María Victoria Zuluaga I.A., Laura Fernanda Villamizar D.Sc.

Investigadores Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Km 14 vía Bogotá-Mosquera. E-mail: lvillamizar@corpoica.org.co

INTRODUCCIÓN

Para la utilización de microorganismos biocontroladores es necesario desarrollar sistemas de producción y formulación que permitan contar con productos de la misma o mayor eficiencia que los productos químicos, siendo uno de los requisitos para la aceptación y comercialización de un producto biológico su estabilidad bajo condiciones de almacenamiento (Butt *et al.*, 2001). Con el aislamiento colombiano de *Lecanicillium lecanii* codificado como VIO26 se desarrolló un bioplaguicida formulado como un polvo mojable (WP), prototipo de formulación que incluyó filtros ultravioleta para proteger los conidios de los efectos nocivos de la luz solar; sin embargo, el producto presentó una vida útil de 2,03 meses cuando fue almacenado a 8 °C y vidas útiles de 0,62 y 0,48 meses a las temperaturas de almacenamiento de 18 °C y 28 °C, respectivamente. Esta inestabilidad de los conidios de *L. lecanii* en condiciones de almacenamiento se atribuyó al proceso de secado por liofilización, utilizado en la manufactura del producto. Aunque este método es de los más utilizados y eficaces para la conservación a largo plazo de microorganismos (Morgan *et al.*, 2006; Horaczek *et al.*, 2004), se evidenció que la cepa colombiana de *L. lecanii* es drásticamente afectada por este proceso (Horaczek *et al.*, 2004).

Por tal razón, se desarrolló un nuevo prototipo de bioplaguicida a base de *L. lecanii* formulado como un granulado dispersable (WG), para el cual el secado por

lío-filización fue cambiado por secado en estufa con corriente de aire. Este prototipo de bioplaguicida también fue diseñado para aplicación foliar, donde la condición más limitante para la eficiencia del agente de biocontrol es el efecto de la radiación ultravioleta del sol, por lo que este prototipo incluyó en su composición protectores solares y otros auxiliares de formulación como protectores de secado, adherentes y diluentes.

El producto formulado como granulado dispersable fue caracterizado microbiológicamente, presentando una concentración de $3,16 \times 10^{10}$ conidios/g de producto y un porcentaje de germinación del 96,23%. Estos valores son superiores a los presentados por el prototipo polvo mojable (Tabla 7), lo que sugiere que la modificación en el proceso de secado aumentó la viabilidad del principio activo y por lo tanto podría incrementar la estabilidad bajo condiciones de almacenamiento.

Tabla 7. Características microbiológicas de los prototipos de formulaciones a base de *L. lecanii*.

Prototipo de formulación	Concentración (Conidios/gramo)	Germinación (%)	Viabilidad (UFC/g)	Contenido de contaminantes (UFC/g)
Granulado dispersable	$3,16 \times 10^{10}$	96,23	$3,40 \times 10^{10}$	$< 10^4$
Polvo mojable	$1,39 \times 10^{10}$	89,97	$1,60 \times 10^{10}$	$< 10^4$

Para definir la viabilidad tecnológica del nuevo prototipo de bioplaguicida a base de *L. lecanii* WG (secado por estufa), es necesario determinar su estabilidad en condiciones de almacenamiento con miras a establecer la vida útil del producto. La vida útil se ve influenciada por factores como la temperatura, la humedad relativa y el tipo de empaque, entre otros, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la estabilidad del prototipo formulado como granulado dispersable WG a base de *L. lecanii* almacenado durante seis meses a tres temperaturas diferentes.

METODOLOGÍA

Elaboración del prototipo de bioplaguicida WP a base de *L. lecanii*

La producción masiva del microorganismo se realizó empleando un sustrato de crecimiento a base de cereales previamente estandarizado en el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica. Posteriormente se elaboró el prototipo de bioplaguicida, al cual se le realizaron pruebas de control de calidad como la determina-



ción de la concentración de conidios, la humedad, y pruebas microbiológicas para establecer la pureza del producto siguiendo las metodologías establecidas por el Laboratorio de Control de Calidad de Bioplaguicidas Biotécnica, registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario ICA.

Estudio de estabilidad bajo condiciones de almacenamiento

Muestras de 1 gramo del granulado dispersable WG a base de *L. lecanii* se empaquetaron en bolsas metalizadas selladas al vacío (4 cm x 6 cm), las cuales fueron almacenadas durante seis meses en incubadoras digitales ajustadas a 8 °C+/-2 °C, 18 °C+/-2 °C y 28 °C+/-2 °C. Antes de iniciar el almacenamiento, y cada dos meses durante seis meses, se determinó la capacidad de germinación de los conidios. Adicionalmente, la actividad biocontroladora en condiciones de laboratorio se evaluó antes del almacenamiento y cada tres meses durante los seis meses del estudio.

El estudio de estabilidad contó con un diseño experimental completamente al azar, con medidas repetidas en el tiempo y todas las mediciones realizadas por triplicado. Los resultados del estudio de estabilidad fueron sometidos a un análisis de varianza y posteriormente a comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey (95%).

Estabilidad de la germinación de los conidios de *L. lecanii*

Para la evaluación de la germinación se adicionó 1 gramo del producto a un tubo de ensayo con 9 mL de Tween 80 al 0,1% y se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución 10⁻³. A partir de la última dilución se sembraron 100 µl en tres cajas de Petri con agar suplementado con benomil al 0,0003% y extracto de malta al 0,1% y se llevaron a incubación a 25 °C+/-2 °C durante 24 horas, tiempo después del cual se cuantificó el número de conidios germinados y no germinados mediante observación al microscopio de 10 campos ópticos por unidad experimental. La cuantificación de conidios se realizó mediante recuento en cámara de Neubauer (Ekesi *et al.*, 1999).

Estabilidad de la actividad biocontroladora en condiciones de laboratorio

Para la actividad biocontroladora del bioplaguicida a base de *L. lecanii* se sembraron semillas de fríjol de la variedad ICA-Calima en materas plásticas de 10 cm de diámetro. Una vez las plantas presentaron un trifolio, se infestaron con 30 adul-

tos de *B. tabaci* confinados en jaulas pinza durante 30 horas para asegurar una oviposición suficiente. Después de este tiempo los adultos se retiraron, se esperó hasta obtener ninfas de segundo instar y se realizó el conteo de las ninfas presentes por cada foliolo (ninfas iniciales).

Posteriormente se aplicaron 2 mL de una suspensión del bioplaguicida a base de *L. lecanii* reconstituido en agua y ajustado a una concentración de 1×10^7 conidios/mL, mediante el uso de un microaspersor con una presión de 40 psi. El día 14 después de la aplicación se contaron los adultos emergidos, evidenciados por las exuvias presentes en cada foliolo, y por sustracción entre las ninfas iniciales y los adultos finales se obtuvo el porcentaje de mortalidad. El diseño del experimento fue completamente al azar, con tres repeticiones, y se contó con un testigo absoluto. La unidad experimental correspondió a una planta de fríjol con un trifolio formado, y la unidad de muestreo correspondió a un foliolo previamente infestado con la mosca blanca y aplicado con el tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estabilidad de la germinación de los conidios de *L. lecanii*

El prototipo de bioplaguicida WG a base de *L. lecanii* no presentó una disminución significativa de la germinación cuando fue almacenado a 8 °C durante seis meses. El bioplaguicida recién manufacturado presentó un porcentaje de germinación inicial del 98,28%, el cual disminuyó a 93,33% después de seis meses de almacenamiento a dicha temperatura (Figura 11). Dicha pérdida del 5,03% en la capacidad de germinación de prototipo WG es inferior al porcentaje de pérdida (52,26%) presentado por el prototipo de formulación WP (secado por liofilización) cuando fue almacenado en las mismas condiciones, resultado que sugiere que la modificación del proceso de secado de liofilización a estufa ejerció un efecto positivo sobre la estabilidad de los conidios del hongo, ya que el prototipo polvo mojable presentó una germinación del 32,57% en las mismas condiciones de almacenamiento.

Sumado a lo anterior, se evidenció el efecto protector de los auxiliares de formulación empleados para la elaboración del prototipo de bioplaguicida, especialmente de los protectores de secado utilizados, ya que estos posiblemente ejercieron un efecto osmorregulador sobre el microorganismo aumentando la vida útil de los conidios. Este comportamiento ha sido descrito por Jackson *et al.*, (2006), quienes



evaluaron diferentes formulaciones del hongo entomopatógeno *Isaria fumosoroseus* con el propósito de aumentar su tolerancia a la desecación y su estabilidad durante el almacenamiento. Los autores observaron un aumento significativo en la viabilidad de las blastosporas del hongo al ser almacenado durante 12 meses a 4 °C y -20 °C, comportamiento que atribuyeron a la adición de protectantes a la formulación del bioplaguicida. Por el contrario, los conidios sin formular presentaron una disminución drástica en los porcentajes de germinación a partir del segundo mes de almacenamiento, llegando a valores cercanos al 20%.

Cuando el almacenamiento se realizó a 18 °C, el prototipo fue estable los cuatro primeros meses de almacenamiento, con germinaciones superiores al 83,45%, valor superior al límite establecido para esta característica, el cual es del 80%. En el sexto mes del estudio, el bioplaguicida presentó una pérdida del 71,8% en la capacidad de germinación de los conidios (Figura 11). Sin embargo, después de incubar las muestras por un periodo superior a 48 horas, se observó que el porcentaje de germinación incrementó a valores superiores al 80%, lo que sugiere que el almacenamiento no causó la muerte de los conidios sino que indujo a un estado de latencia o dormancia que retardó su activación metabólica y por lo tanto la germinación de los conidios.

Burges (1998) argumenta que el retraso en la germinación de los conidios posiblemente se deba a la deshidratación de los mismos durante el tiempo de almacenamiento, lo cual incrementa la tensión superficial. Para mejorar la estabilidad de los bioproductos y disminuir los estados de latencia en el momento de aplicación, Jackson *et al.*, (2007) recomendaron la utilización de soluciones de rehidratación

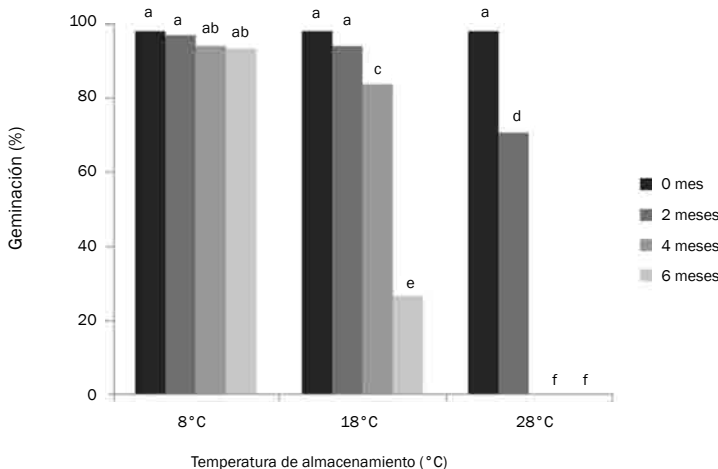


Figura 11. Germinación de los conidios de *L. lecanii* formulados como un granulado dispersable (WG) y almacenados durante seis meses a 8 °C, 18 °C y 28 °C. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas según prueba de Tukey (95%).

que incluyan sustancias como dextrinas, disacáridos y monosacáridos, que reducen la tensión superficial y facilitan la rehidratación de los conidios.

A la temperatura de almacenamiento de 28 °C se observó una reducción significativa en la germinación de los conidios, presentando en el segundo mes de almacenamiento un porcentaje del 70,73% y a partir del cuarto mes una pérdida total en la capacidad de formación de tubo germinal (Figura 11).

En general, se observó que el bioplaguicida almacenado a las tres temperaturas (8 °C, 18 °C y 28 °C) presentó una disminución progresiva en la capacidad de germinación de los conidios durante los seis meses de almacenamiento, con un efecto más drástico cuando el bioplaguicida fue almacenado a temperaturas de 18 °C y 28 °C. Este resultado permite concluir que a mayor temperatura de almacenamiento mayor pérdida de viabilidad, comportamiento descrito para diferentes microorganismos (Kinay y Yildiz, 2008; Chen *et al.*, 2008; Zahng *et al.*, 2006; Elzien *et al.*, 2004; Sabaratnam y Traquair, 2002; Costa *et al.*, 2002).

El efecto negativo de las altas temperaturas sobre la viabilidad de los microorganismos durante el almacenamiento podría deberse a que a mayor temperatura existe una mayor reactividad de las moléculas, presentándose reacciones o procesos de degradación de los auxiliares de formulación, cuyos productos pueden ser tóxicos para el principio activo (Chen *et al.*, 2008). De igual manera, el metabolismo celular a una temperatura alta puede permanecer activo, lo que causa que los conidios almacenen metabolitos tóxicos que reducen drásticamente su viabilidad (Costa *et al.*, 2002).

Estabilidad de la actividad biocontroladora en condiciones de laboratorio

El prototipo de bioplaguicida recién manufacturado presentó una eficacia del 89,63%, la cual disminuyó después de seis meses de almacenamiento a 8 °C a 80,05%. No obstante, este valor no fue significativamente inferior al presentado inicialmente y es superior al límite establecido por el Laboratorio de Control de Calidad Biotécnica, el cual es del 80% (Figura 12), lo que sugiere que el prototipo fue estable a dicha temperatura.

A 18 °C la eficacia del bioplaguicida presentó una disminución progresiva a través del tiempo. Al tercer mes del estudio la eficacia fue del 80,79%, valor que no fue significativamente diferente ($P > 0,01$) de la eficacia del producto recién



manufacturado. Sin embargo, la eficacia del producto a los seis meses de almacenamiento fue significativamente inferior a la presentada inicialmente, con un valor del 41,41% (Figura 12).

El bioplaguicida almacenado a 28 °C evidenció una disminución drástica en la eficacia a partir del tercer mes de almacenamiento, presentando una pérdida en la eficacia del 40% y del 100% a los tres y seis meses del estudio, respectivamente.

Estos resultados sugieren que el aumento de la temperatura y del tiempo de almacenamiento afectó negativamente la eficacia del bioplaguicida. Comportamiento similar fue evidenciado por Chen *et al.*, (2008) al evaluar la actividad insecticida de conidios de *L. lecanii* cepa Beijing, almacenados durante seis meses a temperaturas de 15 °C, 25 °C y 35 °C sobre la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*. Los autores evidenciaron una pérdida de la actividad cuando fueron almacenados a las temperaturas más altas, presentando una disminución del 56% y del 72% a 25 °C y 35 °C respectivamente.

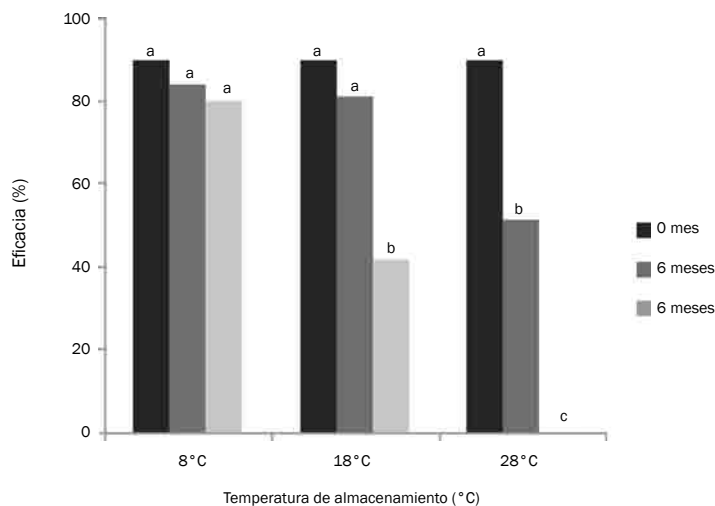


Figura 12. Eficacia de los conidios de *L. lecanii* formulados como un granulado dispersable (WG) y almacenados durante seis meses a 8 °C, 18 °C y 28 °C. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas según prueba de Tukey (95%).


Además, se observó que el comportamiento de la estabilidad de la capacidad de germinación y de la actividad biocontroladora se correlacionaron directamente, ya que las dos características del bioplaguicida fueron estables durante seis meses de almacenamiento a 8 °C y durante cuatro meses a 18 °C.

A nivel mundial existen varios productos registrados a base de *Lecanicillium lecanii*, con nombres comerciales como Mycotal®, Bio-Catch® y Vertalec®, los cua-

les presentan una vida útil cercana a los seis meses cuando el producto es almacenado a 4 °C (Copping, 2001). De acuerdo con lo anterior, el bioplaguicida evaluado en el presente estudio es competitivo en el mercado de bioproductos, ya que es estable durante seis meses si es almacenado a 8 °C y durante cuatro meses si es almacenado a 18 °C. No obstante, se recomienda evaluar condiciones que aumenten la estabilidad del bioplaguicida, eliminando la necesidad de una cadena de refrigeración para su transporte y almacenamiento, disminuyendo los costos de producción y comercialización, y haciendo el producto más atractivo para el mercado.

Referencias

- Burges, H. D. (Ed). (1998). Formulation of Microbial Biopesticides. Kluwer Academic Publishers. 24 p.
- Butt, T. M.; Jackson, C.; Magan, B. (2001). Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. En: Fungi as Biocontrol Agent: Progress, Problems and Potential. Wallingford, Oxon, U.K.: CAB International. 253 p.
- Chen, A.; Zhangyan, S.; Zhang, L. (2008). The effects of some storage conditions on viability of *Lecanicillium lecanii* conidia to whitefly (Homoptera: Trialeurodes vaporariorum). Biocontrol Science and Technology. 18 (3): 267-278.
- Copping, L. (2001). The Biopesticide Manual. Second Edition. Gran Bretaña: The British Crop Protection Council. pp. 147-156.
- Costa, J.; Teixido, U.; Torres, R.; Viñas, I. (2002). Effect of package and storage conditions on viability and efficacy of the freeze-dried biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2. Journal of Applied Microbiology. 92: 873-878.
- Ekesi, S.; Maniania, N. K.; Ampong-Nyarko, K. (1999). Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. Biocontrol Science and Technology. 9: 177-185.
- Elzein, A.; Kroschel, J.; Müller-Stöver, D. (2004). Optimization of storage conditions for adequate shelf-life of "Pesta" formulation of *Fusarium oxysporum* "Foxy 2", a potential mycoherbicida for striga: effects of temperature, granule size and water activity. Biocontrol Science and Technology. 14: 545-559.
- Horaczek, A.; Viernstein, H. (2004). Comparison of three commonly used drying technologies with respect to activity and longevity of aerial conidia of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. Biological Control 31: 65-71.
- Jackson, M.; Poprawski, T. (2007). Influence of formulation additives on the desiccation tolerant and storage stability of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumos-roseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Biocontrol Science and Technology. 16: 61-75.
- Kinay, P.; Yildiz, M. (2008). The shelf life and effectiveness of granular formulations of *Metschnikowia pulcherrima* and *Pichia guilliermondii* yeast isolates that control postharvest decay of citrus fruit. Biological Control. 45: 433-440.
- Morgan, C. A.; Herman, A.; White, P. A.; Vesey, G. (2006). Preservation of micro-organisms by drying. A review. Journal of Microbiological Methods. 66: 183-193.
- Sabaratnam, S.; Traquair, J. (2002). Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. Biological Control. 23: 245-253.
- Zhang, S.; Schisler, D.; Jackson, M.; Boehm, M.; Slininger, P.; Lewis, L. (2006). Cold shock during liquid production increases storage shelf-life of *Cryptococcus nodaensis* OH 182.9 after air-drying. Biocontrol Science Technology. 16(3): 281-293.



Sensibilidad de *Lecanicillium lecanii* (Hypocreales: Clavicipitaceae) a agroquímicos empleados en los cultivos de algodón, tabaco y berenjena

Érika Paola Grijalba M.Sc., Martha Isabel Gómez Ph.D.,
María Victoria Zuluaga I.A., Alba Marina Cotes Ph.D.

Investigadores Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Km 14 vía Bogotá-Mosquera. E-mail: egrijalba@corpoica.org.co

INTRODUCCIÓN

El control de la mosca blanca en Colombia depende principalmente del uso de insecticidas de origen químico cuya categoría toxicológica generalmente es tipo I, la más nociva para la salud humana y animal. Adicionalmente, se han presentado altos niveles de resistencia a carbamatos y organofosforados en diferentes regiones de nuestro país (Cardona *et al.*, 2001). Esta situación evidencia la importancia de buscar alternativas que sean ambientalmente sostenibles, que tengan un menor impacto en la salud y que no afecten económicamente a los agricultores, siendo los esquemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) una opción que combina estrategias químicas, biológicas y culturales; de esta manera se reduce la frecuencia de aplicación de los productos químicos y se mantienen las poblaciones que son consideradas como plaga dentro de un rango que no afecte económicamente la producción de los cultivos.

Una de las principales limitantes de los productos biológicos cuando son empleados en campo consiste en la incompatibilidad que estos presentan con los

insumos usados dentro de las prácticas tradicionales del cultivo. Diversos autores han descrito los efectos adversos de los productos químicos sobre los hongos entomopatógenos (Poprawski y Majchrowicz, 1995; Yeo *et al.*, 2003). Er y Gókce (2004) evaluaron cinco fungicidas y seis insecticidas sobre dos aislamientos de *I. fumosorosea*, los cuales presentaban actividad biológica sobre *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Los resultados que obtuvieron evidenciaron el efecto de los pesticidas sobre la germinación de los conidios, y observaron que, de acuerdo con el fungicida evaluado, se inhibía entre el 10% al 100% de la germinación.

Asimismo, dentro de las perspectivas y cambios para la industria de bioplaguicidas planteadas en el Congreso Internacional de Control Biológico en Lucerna, España, en el año 2009, se plantearon entre los retos para esta industria incrementar la productividad y el rendimiento por hectárea, reducir los residuos de insecticidas en los alimentos y promover nuevas alternativas de control ambientalmente sostenible, retos que según la conclusión del Congreso sólo pueden ser cumplidos si se establece como estrategia el uso de programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), en donde se combinen estrategias químicas y biológicas (Marcus, 2009).

Una formulación a base de los conidios del hongo entomopatógeno *L. lecanii* se evaluó bajo condiciones de campo contra *Bemisia tabaci* en un cultivo de tomate, presentando un rendimiento de 13,8 t/ha y una rentabilidad de \$16.326.304 respectivamente, en comparación con el rendimiento (13,6 t/ha) y la rentabilidad (\$14.278.687) obtenida con el manejo tradicional dado por el agricultor (Espinel *et al.*, 2006).

Estos resultados fueron promisorios y permitieron plantear la opción de evaluar dicha formulación en otros cultivos afectados por la mosca blanca *B. tabaci*, como son algodón, tabaco y berenjena, y además permitieron proyectar el uso del bioplaguicida desarrollado en esquemas de Manejo Integrado, para lo cual se hace necesario determinar la sensibilidad que los bioplaguicidas presentan hacia los productos químicos utilizados en los cultivos de interés. Teniendo en cuenta esto, se planteó como objetivo del presente trabajo evaluar la viabilidad *in vitro* de los conidios, expresada como la germinación y el número de unidades formadoras de colonia (UFC) del hongo frente a la dosis completa, media dosis y un cuarto de la dosis recomendada de cinco insecticidas y cuatro fungicidas, comúnmente empleados en los cultivos de algodón, berenjena y tabaco.



METODOLOGÍA

Selección de los agroquímicos a evaluar

Se seleccionaron cuatro fungicidas y cinco insecticidas a partir del consenso realizado con los agricultores sobre los productos químicos comúnmente empleados para el manejo convencional de plagas y enfermedades de los cultivos de algodón, tabaco y berenjena (Tabla 8). Los agricultores pertenecían a los departamentos del Tolima, Huila y Córdoba, y se encontraban involucrados en actividades de transferencia relacionadas con el proyecto del que forma parte este estudio.

Tabla 8. Agroquímicos seleccionados para evaluar la sensibilidad de los bioplaguicidas a base de *L. lecanii*.

Producto (nombre comercial)	Ingrediente activo	Dosis completa	Media dosis	Un cuarto de dosis
Benomil ^a	Benlate	1 g/l	0,5 g/l	0,25 g/l
Vitavax ^a	Carboxin-Captan	10 g/l	5 g/l	2,5 g/l
Ridomil ^a	Metalaxil-Mancozeb	12.5 g/l	6,25 g/l	3,12 g/l
Manzate ^a	Mancozeb	10 g/l	5 g/l	2,5 g/l
Confidor ^b	Imidacloprid	1,25 ml/l	0,6 ml/l	0,3 ml/l
Oportune ^b	Buprofezin	3 ml/l	1,5 ml/l	0,75 ml/l
Actara ^b	Tiametoxam	0,75 g/l	0,375 g/l	0,187 g/l
Malathion ^b	Malathion	10 ml/l	5 ml/l	2,5 ml/l
Match ^b	Lufenuron	2,5 ml/l	1,25 ml/l	0,625 ml/l

^a Fungicidas; ^b Insecticidas

Bioplaguicida evaluado

El bioplaguicida evaluado correspondió a un producto que tiene como principio activo los conidios del hongo entomopatógeno *L. lecanii* y como excipientes materias inertes que tienen como función proteger los conidios durante el proceso de secado de la formulación y de las condiciones adversas en campo, como la radiación ultravioleta. La forma de presentación es un polvo mojable que tiene una concentración no inferior a 1×10^9 conidios/gramo y una germinación igual o superior al 80%.

Determinación de la germinación de los conidios empleados como ingrediente activo de la formulación

Como unidad experimental se tomó una caja de Petri con medio Agar Sabouraud, con adición del agroquímico seleccionado. Se evaluaron tres concentraciones correspondientes a la dosis completa, media dosis y un cuarto de la dosis recomendada. Se tomó 1 g del producto biológico a evaluar, se suspendió en una solución de Tween 80 al 0,1% y a partir de esta suspensión se realizaron diluciones seriadas, inoculando 0,1 ml de las diluciones correspondientes a 1×10^{-3} y 1×10^{-4} sobre las cajas de Petri con el medio.

Cada unidad experimental se dejó en incubación a una temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Después de este tiempo se cortó un cuadrado de agar de 1 cm^2 y se adicionó una gota de azul de lactofenol. Posteriormente, se llevó a cabo la lectura de los conidios germinados y sin germinar en diez campos ópticos o hasta completar un total de 100 conidios y se calculó el porcentaje de germinación. Como tratamiento control se evaluó la germinación de los conidios en el medio Agar Sabouraud sin presencia de agroquímico.

Para esta prueba se siguió un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones, y los resultados obtenidos con las tres dosis evaluadas se sometieron a una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05\%$), con el fin de determinar si se presentaron o no diferencias significativas con respecto al tratamiento control y de esta manera establecer el efecto de cada agroquímico sobre la germinación del principio activo del bioplaguicida.

Determinación del número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de los conidios empleados como ingrediente activo de la formulación

En este caso, como unidad experimental se tomó una caja de Petri con agar papa sacarosa con el agroquímico seleccionado, y al igual que en el ensayo anterior se evaluaron tres concentraciones (Tabla 8). A partir de las diluciones seriadas se tomó 0,1 ml de la dilución correspondiente a 1×10^{-8} y se inoculó en las cajas de Petri. Cada unidad experimental se dejó en incubación a una temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por ocho días. Posteriormente, se realizó el conteo de UFC en cada caja, siguiendo un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones.



Con los resultados obtenidos se calculó el número de UFC/gramo de bioplaguicida para cada tratamiento. Los datos fueron transformados con el logaritmo en base 10 (log) y se realizó una comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05\%$).

Escala de sensibilidad

Teniendo en cuenta que no existe un parámetro que permita establecer el nivel de sensibilidad de los conidios del bioplaguicida a los agroquímicos evaluados, se propuso una escala de sensibilidad en la que para cada dosis evaluada (dosis completa, media dosis y un cuarto de la dosis), se asignó un valor de cero cuando el tratamiento no presentó diferencias significativas con respecto al tratamiento control y un valor de 10 cuando se presentaron dichas diferencias. Esto se realizó con los resultados obtenidos en las pruebas de germinación y UFC.

Finalmente, a partir de los valores asignados para cada tratamiento se hizo la sumatoria considerando los dos parámetros evaluados y se planteó una escala de sensibilidad que va desde 0 a 60, en donde los agroquímicos a los cuales los conidios del bioplaguicida son más sensibles presentan mayores valores, y los agroquímicos a los cuales los conidios son menos sensibles presentan menores valores.

RESULTADOS

Los ingredientes activos (i. a.) de los fungicidas evaluados pertenecen al grupo de los bencimidazoles (Benlate), las fenilamidas (Metalaxil), inhibidores de la sulfonato deshidrogenasa (SDHI) (Carboxin+Captan) y los ditiocarbamatos (Mancozeb). Los i. a. de los insecticidas pertenecen al grupo de los neonicotinoides (Imidacloprid, Tiametoxam), organofosforados (Malathion), inhibidores de la síntesis de la quitina (Buprofezin) y las benzoilfenilureas (Lufenuron) (Tabla 8).

Para el producto a base de *L. lecanii* se pudo observar (figuras 13A y 13B) que con el fungicida Benlate se presentó una germinación entre el 20% y el 50%, dependiendo de la dosis evaluada, y con el fungicida Carboxin-Captan la germinación es igual o menor al 10% con las tres dosis evaluadas; en tanto que el tratamiento control presentó una germinación del 90%. En los dos tratamientos los resultados son significativamente inferiores con respecto al tratamiento control ($p < 0,05$). Para el caso de los fungicidas Mancozeb y la mezcla de Metalaxil-Mancozeb se inhibió completamente la germinación de los conidios.

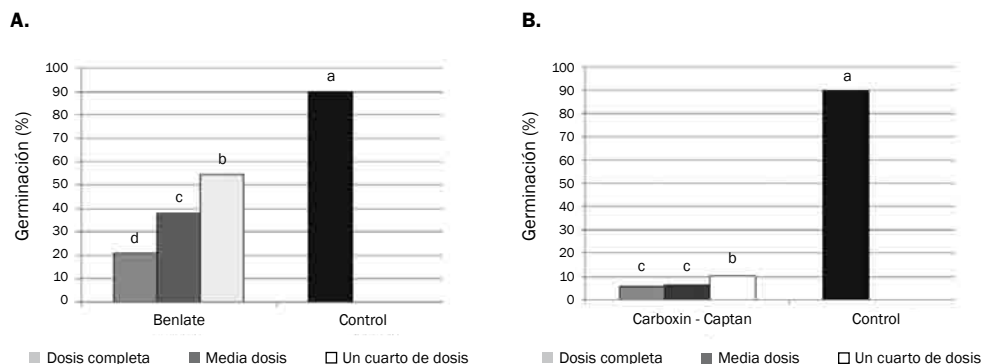


Figura 13. Sensibilidad a fungicidas del bioplaguicida a base de *L. lecanii* (germinación %). **A)** Con Benlate; **B)** Con Carboxin-Captan.

En cuanto a la prueba de número de UFC con estos agroquímicos, se evidenció que los cuatro fungicidas evaluados inhibieron completamente el desarrollo de las hifas del hongo, ya que no se observó la formación de colonias (Tabla 9).

Tabla 9. Sensibilidad del bioplaguicida a base de *L. lecanii* (UFC (Log)).

Producto	Dosis		
	Dosis completa	Media dosis	Un cuarto de dosis
Benlate ^a	0	0	0
Carboxin Captan ^a	0	0	0
Mancozeb ^a	0	0	0
Metalaxil-Mancozeb ^a	0	0	0
Imidacloprid ^b	9,14 *	9,19 *	9,19 *
Buprofezin ^b	9,67	9,68	9,67
Malathion ^b	9,18 *	9,40 *	9,62
Tiametoxam ^b	9,18 *	9,52	9,70
Lufenuron ^b	9,61	9,60	9,61
Control	9,68	N. A.	N. A.

^a Fungicidas; ^bInsecticidas

N. A.: no aplica

* Indica diferencias significativas con respecto al tratamiento control

Cuando se evaluó el bioplaguicida a base de *L. lecanii* con los insecticidas, la germinación de los conidios fue igual o superior al 80% con las tres dosis evaluadas del producto Imidacloprid. Asimismo, con Tiametoxam, Buprofezin y Malathion, al evaluar la dosis media y un cuarto de la dosis recomendada la germinación fue superior al 70% y no se presentaron diferencias significativas con respecto al tra-



tamiento control ($p > 0,05$); sin embargo, con Tiametoxam y Malathion cuando se evaluó la dosis completa la germinación fue significativamente inferior (menor a 10%). Finalmente, con el insecticida Lufenuron y un cuarto de la dosis no se presentó una reducción significativa en la germinación con respecto al tratamiento control ($p > 0,05$) (figuras 14A, 14B, 14C, 14D y 14E).

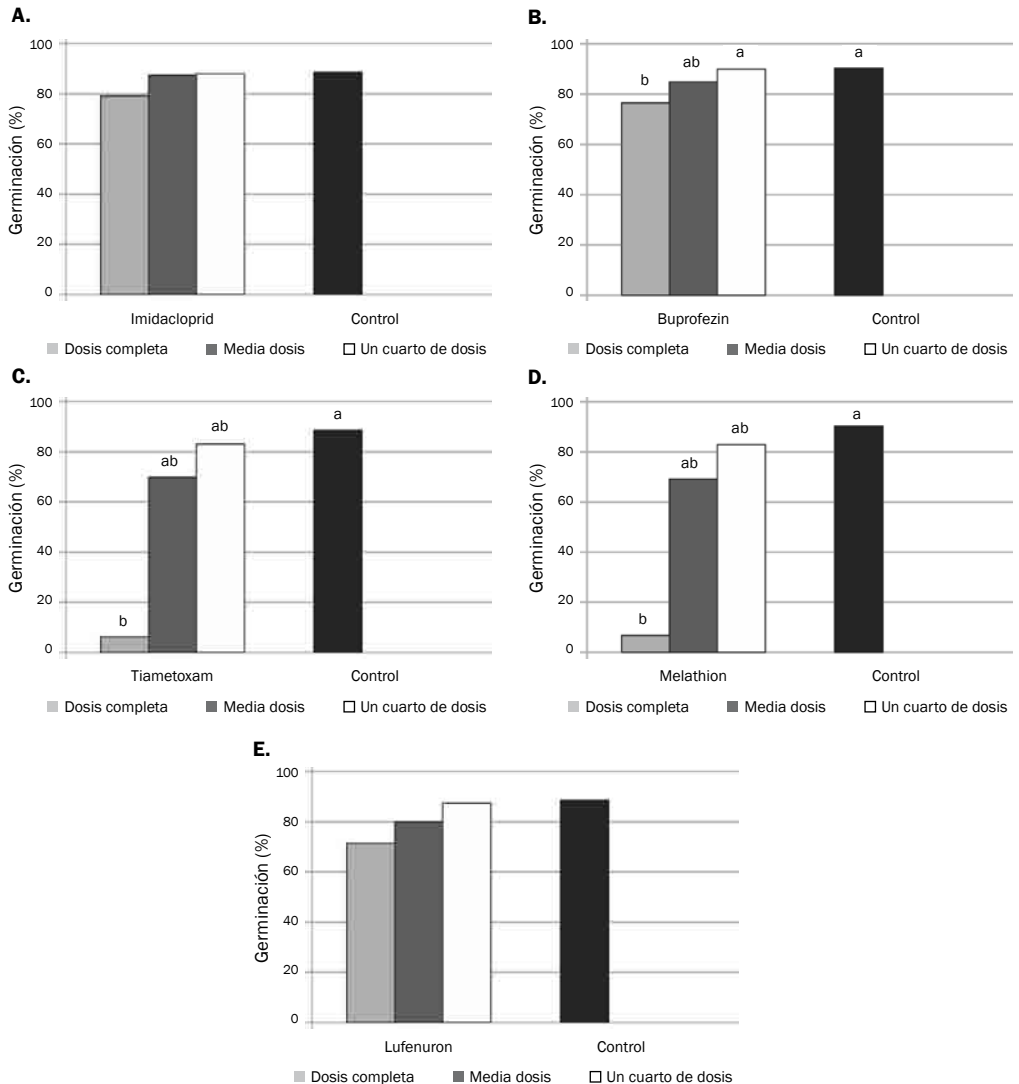


Figura 14. Sensibilidad a insecticidas del bioplaguicida a base de *L. lecanii* (germinación %) **A.** Imidacloprid; **B.** Buprofezin; **C.** Tiametoxam; **D.** Lufenuron; **E.** Malathion.

En cuanto a la determinación de UFC/g (Tabla 9), los productos Lufenuron y Buprofezin no presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento

control con las tres dosis evaluadas ($p>0,05$). Estos resultados sugieren que aun cuando con estos productos se redujo la germinación a las 24 horas, finalmente se logró un porcentaje de germinación y desarrollo de los conidios similar al obtenido en el tratamiento control. Con los insecticidas Tiametoxam y Malathion se redujo significativamente el número de UFC cuando se evaluó la dosis completa para el primer caso, y la dosis completa y media dosis para el segundo caso, respectivamente (Figura 15).

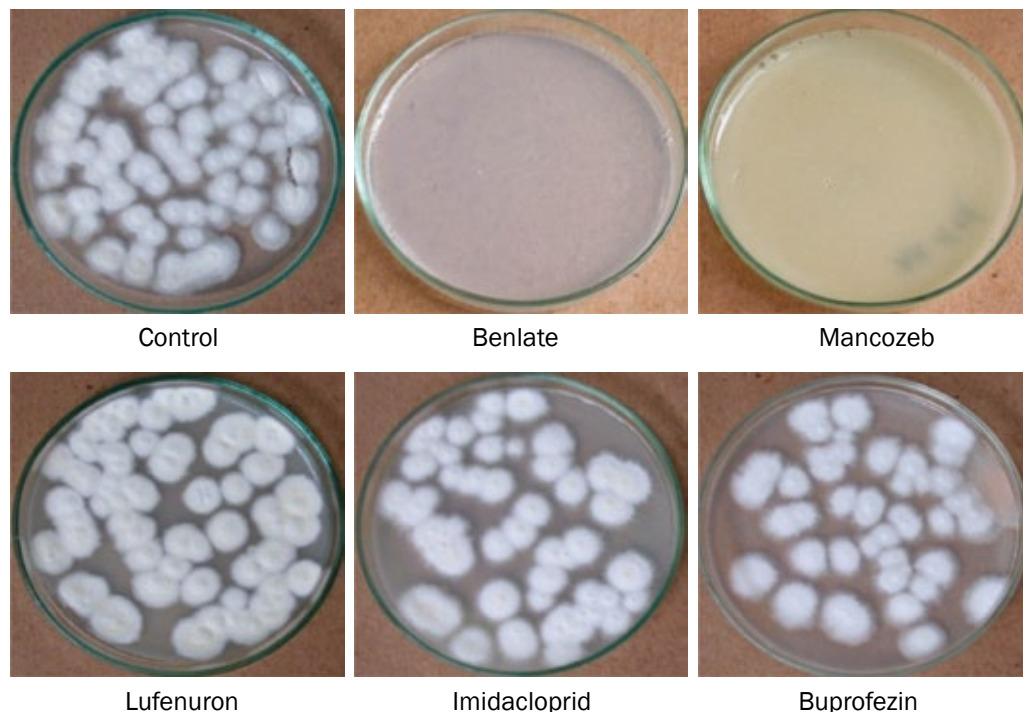


Figura 15. Sensibilidad de *L. lecanii* a agroquímicos (UFC).

En la Tabla 10 se presentan los resultados de sensibilidad asignados a partir de los resultados obtenidos con cada agroquímico para la germinación y el número de UFC. En la Figura 16 se presenta la escala de sensibilidad sugerida. En general, se pudo establecer a partir de los resultados obtenidos que el bioproducto a base de *L. lecanii* es más sensible a la acción de los fungicidas por su naturaleza, en comparación con la de los insecticidas.

Los cuatro fungicidas evaluados redujeron la germinación de los conidios de *L. lecanii* siendo de cero con los productos Metalaxil-Mancozeb y Mancozeb, e inhibieron completamente el desarrollo de las hifas del hongo, ya que no se observó



Tabla 10. Sensibilidad de los conidios formulados de *L. lecanii*.

Producto	Dosis		
	Dosis completa	Media dosis	Un cuarto de dosis
Benlate ^a	0	0	0
Carboxin Captan ^a	0	0	0
Mancozeb ^a	0	0	0
Metalaxil-Mancozeb ^a	0	0	0
Imidacloprid ^b	9,83	9,77	9,78
Buprofezin ^b	9,55 *	9,67	9,68
Malathion ^b	0 *	0 *	0 *
Tiametoxam ^b	9,66 *	9,72	9,70
Lufenuron ^b	9,79	9,71	9,78
Control	9,78	N.A.	N.A.

^a Fungicidas; ^b Insecticidas

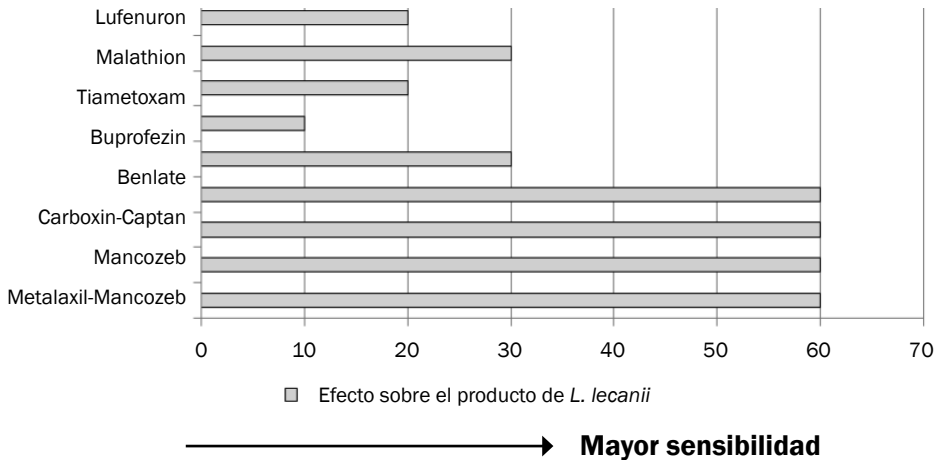


Figura 16. Escala de sensibilidad del producto a base de *L. lecanii*.

la formación de UFC. Estos resultados evidenciaron que en las pruebas *in vitro* llevadas a cabo, el desarrollo micelial presentó mayor sensibilidad a la acción de los fungicidas que la germinación de los conidios. Resultados similares a los obtenidos por Bruck (2009) con *Metarhizium anisopliae* y por Moorhouse *et al.* (1992), quienes también encontraron que el efecto de los fungicidas que evaluaron sobre *M. anisopliae* fue mayor sobre el crecimiento del micelio que sobre la germinación de los conidios.

El activo Mancozeb altera la respiración celular, interrumpiendo el ciclo de Krebs en varias de sus etapas (Liñán, 1997), en tanto que el Metalaxil inhibe la síntesis de proteínas, impidiendo el desarrollo y el crecimiento del micelio, mecanismos que posiblemente evitaron la germinación y desarrollo de los conidios formulados del hongo.

El fungicida Benlate se transformó dentro de la célula fúngica en metilbencimidazolil carbamato (MBC), y posteriormente a un mononucleótido activo. El MBC actúa interfiriendo la síntesis de ADN, la mitosis y la transcripción de mensajes genéticos de ADN a ARN (Liñán, 1997). Los resultados obtenidos evidenciaron que el efecto de este fungicida y de los otros evaluados sobre los conidios de *L. lecanii* generalmente depende de la dosis. Los resultados de germinación obtenidos fueron superiores a los obtenidos por García *et al.* (2007), quienes evaluaron la dosis completa, media dosis y un cuarto de la dosis de Benlate sobre los conidios sin formular de *Trichoderma koningii*, encontrando que después de 24 horas la germinación de los conidios fue menor al 10% para las tres dosis evaluadas, lo que sugiere el efecto particular del fungicida sobre cada hongo biocontrolador.

Con el fungicida Carboxin-Captan la germinación de los conidios fue inferior al 50%. Este fungicida reacciona con las enzimas sulfhidrúlicas para producir tiofosgeno, sustancia tóxica para las células fúngicas, e interfiere con el proceso de respiración celular (Liñán, 1997). Bruck (2009) evaluó el efecto del fungicida Captan sobre los conidios de *M. anisopliae* y encontró que la germinación se inhibió en el 100%.

Como se mencionó anteriormente, se presentó una mayor sensibilidad a los fungicidas en comparación con los insecticidas, como era de esperarse, puesto que los primeros afectan directamente procesos del metabolismo del hongo, en tanto que los insecticidas pueden tener como sitio blanco procesos propios de los insectos que no afectan directamente a los hongos. Estos resultados difieren de los obtenidos por Ibarra y Varela (2002), quienes evaluaron la compatibilidad de varios hongos biocontroladores –entre ellos *Beauveria bassiana*– con plaguicidas de uso común en la práctica agrícola, y encontraron en general que los aislados presentaron una inhibición mayor con los insecticidas que con los fungicidas, a excepción de Benlate.

El producto Imidacloprid interfiere en la transmisión de estímulos del sistema nervioso, ya que excita las células nerviosas de los insectos al unirse a los receptores de la acetilcolina (Liñán, 1997). Este producto no afectó la germinación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* pero sí la formación de UFC, que en las tres dosis



fue significativamente menor ($p < 0,05$) en comparación con el control. Estos resultados difieren de los obtenidos por Cuthberthson *et al.* (2005), quienes evaluaron la compatibilidad de *L. muscarium* con Imidacloprid y obtuvieron un porcentaje de germinación inferior al 40%.

Con los insecticidas Buprofezin y Lufenuron, que inhiben la síntesis de quitina en la cutícula de los insectos (Afipa, 1998), se presentó una germinación superior al 70% con las tres dosis evaluadas. Resultados similares a los presentados por Cuthberthson *et al.* (2005), quienes obtuvieron un porcentaje de germinación mayor al 80% cuando se evaluó el efecto del insecticida Buprofezin sobre los conidios de *L. muscarium*. Al inhibir la síntesis de la quitina es posible que estos insecticidas interfieran de alguna manera en el proceso de germinación de los conidios, ya que cuando este se inicia en el retículo endoplasmático se fabrica quitina y glucanos, necesarios para la formación de la pared celular. En cuanto al número de UFC no hay una reducción significativa.

Con el insecticida Tiametoxam, que actúa como antagonista de los receptores nicotínicos de la acetilcolina (www.syngenta.com), no se presentó una reducción significativa en la germinación de los conidios ni en la formación de UFC con respecto al control cuando se evaluó media dosis y un cuarto de la dosis del insecticida, en tanto que con la dosis completa en las dos variables se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Finalmente, con el insecticida Malathion, que inhibe la colinesterasa por fosforilación de la acetilcolinesterasa, la germinación del producto a base de *L. lecanii* es mayor al 70% con la dosis media y un cuarto de la misma, resultados que no son significativamente diferentes de la germinación del tratamiento control. En cuanto a la formación de UFC se observó una reducción significativa con respecto al control con la dosis completa y media dosis.

CONCLUSIONES

Con el fin de establecer la sensibilidad del bioplaguicida a base de los conidios de *L. lecanii* a cuatro fungicidas y cinco insecticidas empleados para el control de plagas en los cultivos de algodón, berenjena y tabaco, se evaluó la germinación y la formación de colonias de los conidios germinados y se propuso una escala de sensibilidad con los resultados obtenidos (Figura 4), de acuerdo con la cual el producto biológico evaluado es sensible a los cuatro fungicidas. En cuanto a los insecticidas, para el bioplaguicida a base de *L. lecanii* se presentó una menor sensibilidad con Buprofezin, Tiametoxam y Lufenuron.

Finalmente, vale la pena tener en cuenta que diversos estudios han presentado diferencias entre los resultados de sensibilidad a agroquímicos realizados *in vitro* e *in vivo*, razón por la cual es preciso evaluar la sensibilidad de los conidios formulados bajo condiciones de invernadero y de campo, y llevar a cabo pruebas que integren el uso de los productos biológicos con los productos químicos que presentaron menor sensibilidad.

Referencias

- Cuthberthson, A.; Walters, K.; Deppe, C. (2005). Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Mycopathologia*. 160: 35-41.
- Afipa. (1998). Manual fitosanitario. Asociación nacional de fabricantes e importadores de productos fitosanitarios agrícolas. Santiago, Chile: A. G. pp. 45-137.
- Bruck, D. J. (2009). Impact of fungicides on *Metarhizium anisopliae* in the rhizosphere, bulk soil and in vitro. *BioControl*. 54: 597-606.
- Cardona, C.; Rendón, F.; García, J.; López-Ávila, A.; Bueno, J. M.; Ramírez, J. (2001). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 33-38
- Er, M. K.; Göekce, A. (2004). Effects of selected pesticides used against glasshouse tomato pest on colony growth and conidial germination of *Paecilomyces fumosoroseus*. *Biological Control*. 31: 398-404.
- Espinel, C.; Lozano, M. D.; Cotes, A. M.; López, A. (2006). Eficacia de los productos bajo condiciones de campo. En: Corpoica-Fontagro. Boletín Técnico. Desarrollo de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. pp. 65-72.
- García, M.; Villamizar, L.; Cotes, A. M. (2007). Compatibility of *Trichoderma koningii* with chemical fungicides. *Biological control of fungal and bacterial plant pathogens*. 30 (6): 441-445.
- Ibarra, A. M., Varela, A. (2002). Aislamiento, identificación y caracterización de hongos potenciales como agentes de control biológico en algunas regiones colombianas. *Revista Colombiana de Entomología*. 28 (2): 129-137.
- Insecticides, 2010. Disponible en: <http://www.syngenta.com> Consulta: junio de 2010
- Liñán, C. (1997). Farmacología vegetal. Compendio de las sustancias activas, insectos y ácaros utilizados en la prevención y control de plagas, enfermedades y plantas no deseadas así como en la regulación de la fisiología de los vegetales cultivados. España. pp. 108, 156, 192, 703, 706, 708.
- Marcus, M. S. (2009). Perspectives and challenges for biopesticide industry. *AgraQuest*. ABIM, Lucerne.
- Moorhouse, E. R.; Charnely, A. K.; Gillespie, A. T. (1992). Review of the biology and control of the vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Annual Applied Biology*. 11211: 434-454
- Poprawski, T. J.; Majchrowicz, I. (1995). Effects of herbicides on in vitro vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. *Crop Protection*. (14): 81-87.
- Yeo, H.; Pell, J. K.; Anderson, P. G.; Clark, S. J.; Pye, B. J. (2003). Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. *Pest Management. Sci*. 59, 156-165.



Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de berenjena

Carlos Espinel¹ Ph.D., María Victoria Zuluaga¹ I.A.,
Nora Jiménez² M.Sc. y Martha Gómez¹ Ph.D.

1. Investigadores Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Km 14 vía Bogotá-Mosquera. E-mail: cespinel@corpoica.org.co

2. Investigador Máster. Centro de Investigación Turipana, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Cereté, Córdoba.

GENERALIDADES DEL CULTIVO DE BERENJENA

La berenjena (*Solanum melongena*) tiene como origen geográfico las zonas templadas y subtropicales del sudeste asiático. Existen registros que mencionan su cultivo hace 4.000 años en la India y Pakistán. Hacia el año 1200 se cultivaba en Egipto, desde donde fue introducida en la Edad Media a través de la Península Ibérica y Turquía para posteriormente, en la Edad Media, extenderse por el Mediterráneo y resto de Europa. Fue en el siglo XVII cuando se introdujo en la alimentación humana, tras ser utilizada en medicina para combatir inflamaciones cutáneas y quemaduras. Los árabes, dentro de sus costumbres culinarias, trajeron a Colombia esta hortaliza en los años 30 del siglo XIX, constituyéndose en una parte fundamental y rica de la cocina del norte de Colombia y sobre todo del departamento de Córdoba (Araméndiz et al., 2008).

La berenjena pertenece a la familia de las solanáceas. Está adaptada a temperaturas entre 21° y 32 °C, soporta un periodo de sequía corto y se recomienda para altitudes hasta de 1.200 metros sobre el nivel del mar. Es una planta arbustiva, de tallo semileñoso, con hábitos bien sea postrado, intermedio y erecto. Es una

planta anual aunque puede rebrotar en un segundo año si se cuida y poda de forma adecuada. Su sistema radicular puede alcanzar 1 m de profundidad. Sus tallos son fuertes, de crecimiento determinado cuando se trata de tallos rastreros, que le dan a la planta un porte abierto o de crecimiento indeterminado cuando son erguidos y erectos, pudiendo alcanzar de 0,80 a 1,80 m de altura, dependiendo del genotipo y de la fertilidad del suelo. Las hojas son de gran tamaño, simples, con presencia o ausencia de espinas, alternadas, pecioladas y lobuladas; pueden tener mucha o poca pilosidad. Las flores presentan un número de pétalos, sépalos y estambres que oscila entre 6 y 9, y los pétalos son de color lila a violáceo. Posee de 5 a 8 estambres libres, erectos, amarillos y de filamentos cortos; y la dispersión del polen es favorecida por la presencia de insectos (Figura 17).

La mayor parte de las variedades florecen en ramilletes de una a cinco flores, una de las cuales es hermafrodita y de pedúnculo corto y continuo desde el tallo hasta el cáliz, dando lugar a un fruto comercial, mientras que el resto de las flores abortan o dan lugar a un fruto pequeño y de mala calidad. La fecundación de la flor es de tipo autógama (el polen que fecunda el óvulo procede de los estambres de la misma flor), pero en nuestro medio, con ambientes muy húmedos, es prevalentemente alógama (el polen procede de otra flor de la misma o de otra planta) debido a la acción de insectos como la abeja *Apis mellifera*, cuya mayor actividad polinizadora se presenta en los dos semestres y de preferencia entre las 9 y 10 am. (Araméndiz et al., 2006, Pérez, 2006).

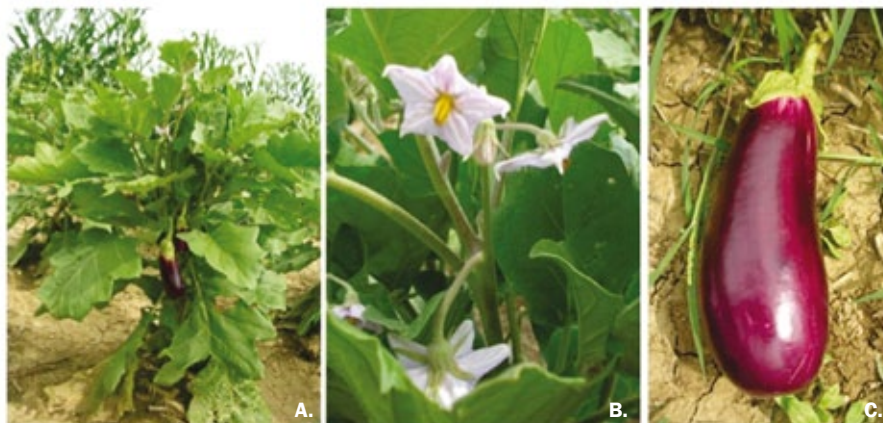


Figura 17. a. Planta de berenjena; b. Flor de berenjena; c. Fruto alargado de berenjena.

El fruto es una baya que puede ser redonda, ovalada, alargada o globosa, de color negro, morado, blanco, blanco jaspeado de morado o verde, normalmente



brillante (Figura 17c). Presenta pequeñas semillas de color amarillo, con un poder germinativo que oscila entre 4 y 6 años. Un gramo de semilla puede llegar a contener entre 250 y 300 unidades.

Su fruto contiene una pequeña cantidad de agua, mientras su porcentaje de hidratos de carbono, proteínas y grasas es muy bajo. Carece de fibra, excepto una pequeña cantidad en la corteza y las semillas. El mineral mayoritario es el potasio, además de pequeñas cantidades de calcio, magnesio y fósforo. Respecto al contenido vitamínico se destaca su pequeña cantidad de vitamina C, pro vitamina A y folatos.

La composición nutricional de la variedad O15 de berenjena, con la cual se realizó el trabajo descrito en este capítulo, es la siguiente: para 100 g de muestra cocida, los valores medios son: 90,7 g de agua; 0,19 g de ceniza; 1,19 g de proteínas; 7,73 g de carbohidratos; 1,76 g de fibra cruda; 0,74 mg de hierro; 77 mg de potasio; 29,7 mg de sodio; 9,31 mg de fósforo; y 42,4 mg de calcio (García et al., 2003).

En el cultivo de berenjena se presentan varios factores limitantes de la producción, ocasionados, entre otros, por la ausencia de riego en la época seca y los problemas fitosanitarios, destacándose las plagas y enfermedades. Entre las plagas de mayor importancia en este cultivo están la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), la chinche de encaje *Corythaica cyathicollis* (Hemiptera Heteroptera: Tingidae), *Thrips palmi*, especies de crisomélidos y el barrenador del tallo *Faustinus apicalis* (Coleoptera: Curculionidae). Las dos primeras pueden causar el debilitamiento y alteraciones fitotóxicas en las plantas, asociadas con la presencia de fumaginas que desmejoran la calidad del fruto (Mestra, 2003) (Figura 18); las dos siguientes pueden causar tanto debilitamiento de la planta como daño de la presentación del fruto; y la última plaga barrena el tallo, debilitando la planta y causando la caída de ramas y frutos (Rizzo, 1976).

Paralelo a esto, se presentan enfermedades que limitan el cultivo. Entre las de mayor importancia por su incidencia y severidad en los lotes productores se encuentran las causadas por *Sclerotium rolfisii* y *Fusarium* sp. Estos hongos se pueden presentar desde el semillero hasta la época de producción, en donde causan pérdidas de 40 a 60% dependiendo de la severidad de la enfermedad (Ortiz, 2005). La característica principal de la presencia de estas enfermedades es el amarillamiento de la planta; en el caso de *Sclerotium* se forma un necrosamiento del tejido

del cuello de la raíz en forma de abanico, y para *Fusarium* se presenta de forma sistémica afectando los tejidos vasculares (las dos enfermedades son causantes de muerte en las plantas).



Figura 18. Cultivo de berenjena afectado por fumagina (hojas oscuras).

En los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar (Colombia) se siembran aproximadamente 374 ha de berenjena, que representan el 72% de la producción nacional. El rendimiento de los cultivares regionales alcanza 16 t/ha, y se cultivan en áreas que oscilan entre 1.000 y 2.500 m² por productores minifundistas, campesinos sin tierras y trabajadores en actividades agropecuarias (Araméndiz *et al.*, 2008). En general, los productores no utilizan semillas certificadas ni mejoradas, simplemente las toman de sus cultivos ocasionando una mezcla de poblaciones genotípicas. La berenjena sería un ejemplo interesante como cultivo alternativo a otros cuyos mercados pueden estar saturados, teniendo en cuenta que la demanda de importación y consumo en el mercado estadounidense y canadiense es grande y presenta grandes expectativas de firmas de tratados de libre comercio (TLC) con estas naciones.

En la Unión Europea los principales importadores son: España con 87.254 toneladas y Holanda con 48.523 toneladas (CIRAD, 2009). En el 2010, los Estados Unidos exportaron 5.650 toneladas e importaron 70.900 toneladas, avaluadas en 64,4 millones de dólares, siendo México el país que suministró el 80% del volumen, seguido por Canadá (www.agmrc.org, 2011). A nivel mundial se dispone de datos del año 2008, los cuales ubican a China como el principal productor con 23.748.144 toneladas, seguido por la India con 9.678.000 toneladas y Egipto con 1.242.670 toneladas. México es el primer productor en las Américas, con 56.000 toneladas (FAO, 2008).



Evaluación de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* dentro de un sistema MIC para el manejo de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera-Homoptera: Aleyrodidae) en un cultivo de berenjena de Cereté (Córdoba)

La mosca blanca ha generado un impacto económico negativo en cultivos de algodón, yuca, hortalizas, ornamentales y leguminosas de grano en el país. Con la llegada a Colombia del biotipo B de *Bemisia tabaci*, el cual desplazó al biotipo A en la Costa Atlántica y en otras zonas del país (Quintero *et al.*, 2001), aumentó el riesgo de ampliación del rango de hospederos, la transmisión de virus, la inducción de desórdenes fisiológicos y en especial la resistencia a los insecticidas de síntesis química utilizados, como los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides, así como insecticidas más novedosos como reguladores de crecimiento y neonicotinoides (Cardona *et al.*, 2001).

Lo anterior hace de este insecto plaga un blanco de medidas que contribuyan a mitigar dicho impacto, siendo el control biológico una alternativa viable, ambientalmente amigable y eficaz, como un componente dentro de una estrategia de manejo integrado de la plaga (MIP) que propendan por la sostenibilidad ecológica y económica del cultivo.

Con el fin de evaluar un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el manejo de *B. tabaci* en un sistema de Manejo Integrado del Cultivo (MIC) de berenjena en el municipio de Cereté (Córdoba), se establecieron dos parcelas, cada una con un área de 2.500 m². En la primera se implementó una estrategia MIC que contó con componentes culturales, químicos, etológicos y biológicos, adaptados a las condiciones del trópico e incluso en ocasiones implementados tradicionalmente por productores de la región.

Dichas medidas correspondieron a la implementación de aplicaciones del bioplaguicida a base de *L. lecanii* al semillero y sitio definitivo (con 40% de infestación de mosca blanca), la instalación de trampas amarillas pegajosas, liberaciones de *Delpasthus* spp., el establecimiento de una barrera viva (maíz en relevo + sorgo dulce, por ejemplo) y la reducción en un 30% de la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Para el manejo de otros problemas como *Spodoptera*, *Thrips palmi*, la pudrición de plantas y de frutos, se emplearon estrategias de manejo que no interfirieran con el de la mosca blanca, tales como la aplicación de un bioplaguicida a base de *Trichoderma koningiopsis* en semillero y en sitio definitivo, la siembra en caballones, el establecimiento de nidos de avispa angolita (*Polybia occidentalis*)

empleadas comúnmente en lotes de maíz y algodón en la zona, tutorado y poda de ramas vegetativas bajas, remoción de flores extras, aplicaciones preventivas de fungicidas, recolección y enterrado de frutos enfermos, entre otras (Figura 19).



Figura 19. Estrategias de manejo integrado del cultivo de berenjena en Cereté, Córdoba. **a.** Trampa amarilla pegajosa; **b.** Barrera viva; **c.** Nidos de *Polybia occidentalis*; **d.** Avispas predando larvas; **e.** Planta con tutoreo y con hojas bajas podadas.

En la segunda parcela de igual área el agricultor implementó el manejo tradicional, el cual correspondió a la aplicación de insecticidas de ingredientes activos como el Tiametoxam + Lambdacialotrina, metil fosforoditioato, clorpirifos y profenofos, aplicados para insectos como pulgilla, hormiga, mosca blanca y ácaros.

En las dos parcelas se estableció el nivel de población de mosca blanca semanalmente, en donde se registró en la parcela con manejo tradicional (agricultor) un promedio de adultos de mosca blanca entre 5 y 35 individuos, pico que se presentó entre las semanas 30 a la 32; entre tanto que para la parcela MIC, el promedio de adultos de mosca blanca no superó los 3 individuos a lo largo de todo el ciclo de cultivo (Figura 20).

Las medidas tomadas en la parcela MIC favorecieron el establecimiento de insectos benéficos como *Chrysopa* sp., *Coleomegilla* sp. y en especial *Delphastus pusillus*, los que pudieron ejercer un papel regulador sobre la plaga blanca, siendo evidente en las evaluaciones efectuadas, además del efecto en otras plagas de interés económico para el cultivo.

Con respecto a la producción obtenida en la parcela con manejo integrado del cultivo y la parcela con manejo tradicional, esta fue de 19,5 y 12,7 t/ha, con un ingreso bruto superior a los 10,3 y 6,5 millones de pesos, respectivamente. Aunque los costos de producción fueron más altos en la parcela MIC en relación con los costos de la parcela de manejo tradicional (5,3 y 5,1 millones de pesos, respectivamente), la mayor relación beneficio-costos se obtuvo en la parcela MIC, la cual fue de 1,95, mientras que en la parcela de manejo tradicional fue de 1,2 (Figura 21).

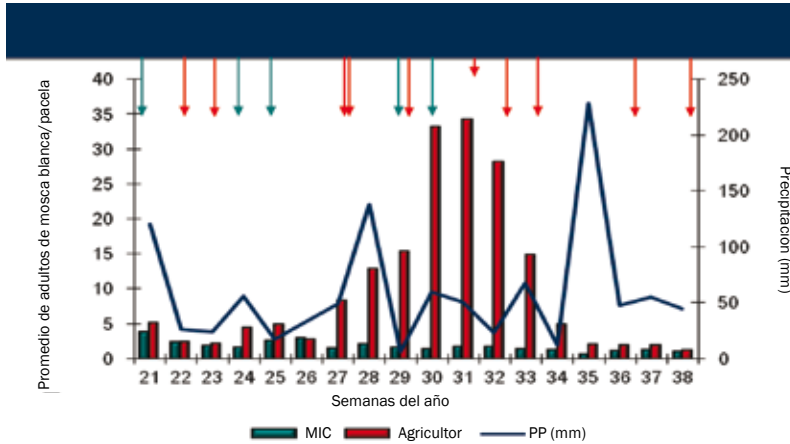


Figura 20. Población de adultos de mosca blanca en parcela MIC y agricultor en el cultivo de berenjena en Cereté, Córdoba (las flechas indican aplicación de productos contra *B. tabaci* aplicados en las dos parcelas).



Figura 21. Berenjenas cosechadas en la parcela MIC (a) y tradicional (b).

En cuanto a la distribución de la inversión por rubros, aquel que presentó el mayor porcentaje de participación fue el de labores (mano de obra), el cual fue del 30%, seguido por la fertilización con el 23 y 26%; y para el de control de insectos de 24% y 21%, respectivamente para la parcela MIP y la parcela de manejo tradicional (Figura 22).

Simultáneamente se realizó un seguimiento de la actividad biocontroladora del bioplaguicida a base de *L. lecanii* sobre ninfas de *B. tabaci*. Para tal fin se llevó a cabo la elaboración de una tabla de vida horizontal sobre individuos de mosca blanca presentes en las dos parcelas. Las tablas de vida horizontales son un método robusto y conveniente para describir la mortalidad en una población y para entender el papel complementario de los bioplaguicidas y otros agentes de control biológico en la supresión de la población de la plaga (Naranjo et al., 2004).

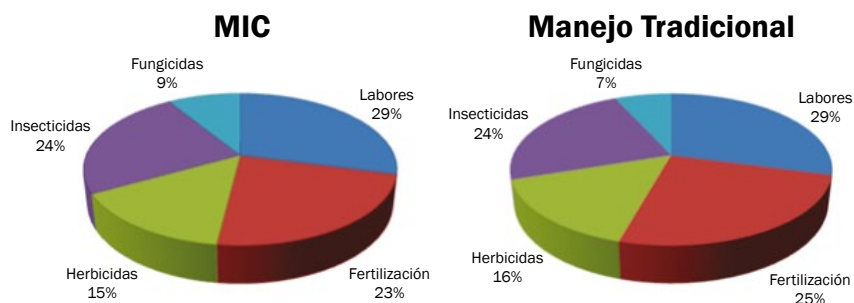


Figura 22. Participación porcentual de costos de producción en la parcela MIC y tradicional en el cultivo de berenjena en Cereté, Córdoba.

En cada una de las parcelas (MIC y tradicional) se determinó la supervivencia instar específica por medio de una tabla de vida horizontal, según la metodología modificada de Edillo et al. (2004). En esta se determinó la supervivencia entre los estados de desarrollo de una misma generación. Para tal fin, se seleccionaron al azar 30 plantas por cada una de las parcelas y se marcaron hojas del estrato superior en las que hubo presencia de posturas o ninfas de segundo instar de mosca blanca (N1). Se contó el número total de ninfas de segundo instar y se realizó una revisión cada dos días con el fin contar el número de individuos sobrevivientes del instar siguiente. Se llevó a cabo esta revisión hasta cuando se evidenciaron exuvias de mosca blanca con la abertura dorsal en forma de "T", característica de la emergencia de adultos de *B. tabaci*.

Basados en los datos registrados, se calculó el índice de supervivencia instar específica con la fórmula:

$$Si = n_i / (n_i - 1)$$

Donde n_i es el número total de inmaduros que entraron al instar i , y $n_i - 1$ es el número de individuos vivos en el instar previo.

Al tiempo de la revisión de las ninfas se determinaron los factores de mortalidad, seguimiento que se realizó por medio de una lente de aumento. Se registró la posible causa de la muerte del insecto según las descripciones hechas por Naranjo et al. (2004), teniendo en cuenta que la formación de micelio o aplastamiento completo del cuerpo de la ninfa con el cuerpo completamente momificado (duro), es causada por el hongo entomopatógeno. El cuerpo de la ninfa cortado en pedazos con evidencia de la acción de corte por mandíbulas es propio de la muerte por un depredador. Cuerpos de ninfas con la marca de un par de orificios equidistantes



en alguna zona de dorso es evidencia de acción depredadora de larvas de Chrysopas. La depredación de chinches se evidencia porque en la mayoría de los casos dejan restos del contenido interno de la ninfa. El parasitismo en estados larvarios iniciales se evidencia porque las dos estructuras amarillas apareadas presentes en las ninfas de mosca blanca (mycetomas) que normalmente se encuentran en el centro del cuerpo, se ubican desplazadas hacia los extremos laterales del mismo. Al evidenciar exuvias de mosca blanca con orificios circulares en el dorso o en otro lugar del cuerpo, en lugar del orificio en forma de "T", se definió como parasitada.

Durante la determinación de la tabla de vida horizontal, se realizó una aplicación tanto del bioplaguicida a base de *L. lecanii* como del insecticida químico Imidacloprid en las parcelas respectivas. Debido a que la toma de datos se realizó durante un periodo de 12 días (tiempo de desarrollo de los estados ninfales del insecto), no fue necesario hacer más de una aplicación contra éste.

En la parcela MIC se observó que la eficacia del bioplaguicida fue significativa desde el segundo instar ninfal, con un 52,4% de mortalidad (Tabla 11, Figura 23), tendencia que se conservó en el tercer instar, con un 53,7% de mortalidad dentro de los diferentes factores registrados. Al concluir el bioensayo, el bioplaguicida ocasionó el 67% de mortalidad y se presentó un 4,4% de depredación; en esta parcela no hubo evidencia de parasitismo (Tabla 12). El mayor porcentaje de mortalidad por el hongo en los primeros instares es comúnmente registrado. Espinel y colaboradores (2009) evaluaron en laboratorio el efecto del aislamiento VIO26 (principio activo del bioplaguicida) sobre estados ninfales de *B. tabaci*, y encontraron que el primero y el segundo instar fueron los más susceptibles, con el 68 y 79% de eficiencia, respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por García (1996) al evaluar el efecto de 46 aislamientos de *L. lecanii* sobre estados de desarrollo inmaduros de la mosca blanca *T. vaporariorum*. En dicho trabajo, la mayor susceptibilidad se encontró con el aislamiento VIO26, el cual al ser aplicado sobre el segundo estadio ninfal ocasionó el 100% de mortalidad a los 15 días posaplicación a una concentración de 1×10^8 conidios. mL⁻¹. Gindin *et al.* (2000), al evaluar 35 aislamientos de *L. lecanii* sobre huevos, ninfas y adultos de *B. tabaci* (biotipo B), encontraron la mayor susceptibilidad sobre ninfas de primer estadio, recién emergidas de los huevos, con una mortalidad que osciló entre el 95 y el 98%.

En la parcela tradicional se presentó un 20,9% de mortalidad en el segundo instar, producto de la aplicación del insecticida químico, pero no hubo un efecto mayor durante los otros estados de desarrollo (Tabla 12). Al finalizar el ensayo, la mortali-

dad total por efecto de Imidacloprid fue de 21,4%. En contraste con la parcela MIC, en la tradicional estuvo presente el factor de mortalidad por parasitismo (14,7%) y fue significativamente mayor la depredación (21%). Esto puede deberse a que el hongo entomopatógeno ejercería una competencia por el recurso, en este caso las ninfas, con otros agentes de control biológico como los depredadores y sobre todo con los parasitoides. Estos últimos se valen de diferentes señales para localizar el hospedero, bien sea por medio de kairomonas originadas por el hospedero, como deyecciones y seda, entre otros, aunque generalmente utilizan mecanismos multi-sensoriales empleando la combinación de estímulos químicos, visuales y mecánicos (Sharkey y Fernández, 2006). Una vez localizado el hospedero viene la etapa de aceptación, en la que se evalúa la calidad del mismo, como la edad y el tamaño, siendo muy importante buscar si existe parasitación intraespecífica previa, evidenciada por feromonas de señalización, o interespecíficas, efectuadas por hongos entomopatógenos (Cabello, 2006). De esta manera, los parasitoides seleccionan de manera minuciosa a su presa, y al encontrar ninfas de mosca blanca con signos de enfermedad fúngica buscarían nuevos hospederos.

En ambas parcelas la desaparición de ninfas fue un factor importante, con el 22,2% y el 34,7% en MIC y tradicional, respectivamente. Se estableció la desaparición como una causa de mortalidad, aunque no se pudo establecer si fue producto de factores bióticos o abióticos que generan el desprendimiento de las ninfas de las hojas.



Figura 23. a. Marcaje de ninfas de *B. tabaci* en las hojas de berenjena de la parcela MIC; b. Ninfa de *B. tabaci* infectada por *L. lecanii*; c. Ninfas de *B. tabaci* con esporulación de *L. lecanii*.



Tabla 11. Tabla de vida horizontal de la población de ninfas de *B. tabaci* presentes en la parcela MIC de berenjena.

X	nx	Lx	dxF	Dx	100 qx
1 inst	202	100	Entomopatógeno		
			Desaparición		
			Depredación		
			Total		
2 inst	202	100	Entomopatógeno	106	52,4
			Desaparición	36	17,8
			Depredación	6	3
			Total	148	73,2
3 inst	54	18.8	Entomopatógeno	29	53,7
			Desaparición	5	9,2
			Depredación	1	1,8
			Total	35	64,7
4 inst	8	2.7	Entomopatógeno		
			Desaparición	4	50
			Depredación	2	25
			Total	6	75

x: intervalo de edades; nx: número de sobrevivientes al inicio de x; lx: proporción de sobrevivientes al inicio de x; dxF: factor causante de la mortalidad; dx: número de muertos entre x y x+1; 100qx: tasa de mortalidad entre x y x+1.

La supervivencia de las ninfas en cada instar, evidenciada por el índice de supervivencia instar específica, fue menor en la parcela MIC que en la tradicional. Se observó que desde el segundo instar el índice se reduce significativamente debido al efecto del bioplaguicida. En la parcela tradicional, el índice se reduce a una tasa menor, evidenciado por la menor mortalidad encontrada por el insecticida biológico (Tabla 14).

Teniendo en cuenta que la relación beneficio-costos para las dos parcelas fue superior a uno, siendo mayor en la parcela MIC (1,95), esto permite inferir que la implementación de este tipo de estrategia es económicamente viable y sostenible, además de contribuir a mitigar el impacto negativo de los agroquímicos, sobre los productores, el medio ambiente, y reducir la posible residualidad de moléculas químicas en el producto final a consumir, nocivas para la salud.

Tabla 12. Tabla de vida horizontal de la población de ninfas de *B. tabaci* presentes en la parcela de manejo tradicional de berenjena.

X	nx	Lx	dxF	dx	100 qx
1 inst	210	100	Insecticida		
			Desaparición		
			Depredación		
			Total		
2 inst	210	100	Insecticida	44	20,9
			Desaparición	35	16,6
			Depredación	12	5,7
			Parasitismo	15	7,1
			Total	106	50,3
3 inst	104	30,5	Insecticida	1	0,9
			Desaparición	23	22,1
			Depredación	30	28,8
			Parasitismo	15	14,4
			Total	69	66,2
4 inst	35	10.3	Insecticida		
			Desaparición	15	42,8
			Depredación	2	5,7
			Exuvias	16	45,7
			Parasitismo	1	2,8
Total	34	97			

x: intervalo de edades; nx: número de sobrevivientes al inicio de x; lx: proporción de sobrevivientes al inicio de x; dxF: factor causante de la mortalidad; dx: número de muertos entre x y x+1; 100qx: tasa de mortalidad entre x y x+1.



Tabla 13. Factores de mortalidad de ninfas de *B. tabaci* encontrados en el ensayo de tabla de vida horizontal del cultivo de berenjena.

Factores de mortalidad	Parcela MIC (%)	Parcela Tradicional (%)
Bioplaguicida a base de <i>L. lecanii</i>	67	0
Insecticida químico Imidacloprid	0	21,4
Depredación	4,4	21
Parasitismo	0	14,7
Desaparición	22,2	34,7

Tabla 14. Índice de supervivencia instar específico de ninfas de *B. tabaci* encontrado en el ensayo de tabla de vida horizontal del cultivo de berenjena.

Cultivo de berenjena		
Instar	Parcela MIC	Parcela Tradicional
S _{i1}	1	1
S _{i2}	0,26	0,50
S _{i3}	0,14	0,33
S _{i4}	0,25	0,48

Referencias

- http://www.agmrc.org/commodities__products/vegetables/eggplant_profile.cfm En línea. (Consulta: agosto 18 de 2011).
- Araméndiz, H.; Cardona, C.; Jarma, A.; Espitia, M. (2008). El cultivo de la berenjena (*Solanum melongena* L.). Bogotá: Produmedios. ISBN: 978-958-9244-17-3. 152 p.
- Cabello, T. (2006). Aspectos comunes a entomófagos: Ecología de depredadores y parasitoides. URL: <http://www.ual.es/personal/tcabello/Temarios/CBTema05Web.pdf> (Consulta: septiembre 12 de 2011).
- Cardona, C.; Rendón, F.; García, J.; López-Ávila, A.; Bueno, J. M.; Ramírez, J. (2001). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. Revista Colombiana de Entomología 27 (1-2): 33-38.
- CIRAD. (2009). FruitTrop supplement. Statistics yearbook fresh fruit and vegetables, 2007 and 2008 EU-27 imports. French Agricultural Research Centre for International Development, CIRAD No. 169.
- Edillo, F.; Toure, Y.; Lanzaro, G.; Dolo, G.; Taylor, C. (2004). Survivorship and distribution of immature *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in Banambani Village - Mali. J. Med. Entomology. 41: 333-339.
- Espinel, C.; Torres, L.; Cotes, A. M. (2009). Efecto de hongos entomopatógenos sobre estados de desarrollo de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Revista Colombiana de Entomología. 35 (1): 18-21.
- FAO. (2008). Top production eggplants: Countries by commodity. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- 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). Bogotá, Colombia: Trabajo de grado Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional. 121 p.
- García, E.; Hernández, E.; De Paula, C.; Araméndiz, H. (2003). Caracterización bromatológica de la berenjena (*Solanum melongena* L.) en el departamento de Córdoba. Temas Agrarios, v.8 (1): 27-32.
- Gindin, G.; Geschtovt, N.; Racaah, B.; Barash, I. (2000). Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Phytoparasitica 28 (3): 1-11.
- Naranjo, S.; Cañas, L.; Ellsworth, P. (2004). Mortalidad de *Bemisia tabaci* en un sistema de cultivos múltiples. Horticultura Internacional. 43: 14-21.
- Pérez, J. D. (2006). Estudio de la biología floral de la berenjena (*Solanum melongena* L.) en el Valle del Sinú medio. Tesis de grado. (Ingeniero agrónomo). 72. P. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba, Montería.
- Quintero, C.; Cardona, C.; Ramírez, D.; Jiménez, N. (1998). Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia. Revista Colombiana de Entomología. 24 (1-2): 23-28.
- Sharkey, M. J.; Fernández, F. (2006). Biología y diversidad de Hymenoptera. En: Introducción a los Hymenoptera de la región neotropical. Fernández, F.; Sharkey, M. J. (eds.) Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C. pp. 102-103.



Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón

Hugo Fernando Rivera I.A. y María Victoria Zuluaga I.A.

Investigadores Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Km 14 vía Bogotá-Mosquera. E-mail: mzuluga@corpoica.org.co

GENERALIDADES DEL CULTIVO DE ALGODÓN

El algodón es la planta textil de fibra suave más importante del mundo, y su cultivo es de los más antiguos. Fue el primer textil en la India, centro principal de la producción y transformación de la fibra aldonera por más de 3.000 años. A través del tiempo el cultivo fue expandiéndose a otros países de Asia, África y Europa.

El aldonero es cultivado en más de 60 países en el mundo, en un área de más de 34 millones de hectáreas. Cada año se producen cerca de 20 millones de toneladas por un valor de 35 millones de dólares. Esto demuestra su importancia mundial (Silva, 2005).

El algodón pertenece al género *Gossypium*, familia Malvaceae, el cual comprende un amplio número de especies. Citológicamente las especies de este género se pueden dividir en diploides ($n=13$) y tetraploides ($n=26$), cuya distribución geográfica se encuentra por todo el mundo. De las especies diploides únicamente *G. herbaceum* y *G. arboreum* han sido cultivadas comercialmente, y aún son importantes en áreas restringidas de la India, Asia y África. Entre las tetraploides del Nuevo Mundo, solamente *G. hirsutum* y *G. barbadense* se cultivan ampliamente y son las responsables del 98% de la producción mundial de fibra de algodón. En Colombia la especie de algodón cultivada comercialmente es *Gossypium hirsutum* L., originaria de México y Centro América (Negrete et al., 2009).

En Colombia, por su condición de país tropical el algodón es un producto agrícola de ciclo semestral, con dos temporadas algodonereras en el año, lo que permite garantizar continuidad en la oferta. La duración total del ciclo desde la siembra varía entre 100 y 140 días.

La temporada "Costa-Meta" inicia sus siembras a mediados de cada año y recolecta la producción entre diciembre y marzo del siguiente año, tradicionalmente en los departamentos de Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena, Sucre, Casanare, Meta, Guaviare y Vichada. Generalmente es la temporada que aporta el mayor porcentaje de la producción nacional, con un promedio del 70%. La temporada del "Interior" inicia sus siembras a comienzos del año y cosecha su producción entre julio y octubre de cada año en los departamentos de Caldas, Cauca, Cundinamarca, Huila, Risaralda, Tolima y Valle del Cauca, los cuales aportan aproximadamente el 30% de la producción nacional. Para los meses en que no hay cosecha la industria debe acopiar y almacenar el algodón, de modo que el país garantiza cierta continuidad en la oferta (Agrocadenas, 2005).

Para 2010, la producción mundial de fibra fue de 19,3 millones de toneladas, siendo China el principal productor del mundo, con 4,4 millones de toneladas. Actualmente, el consumo de algodón *per cápita* mundial y de Colombia es de 3,08 y 1,87 kg respectivamente, mientras que el mayor productor en América es Estados Unidos con 3,7 millones de toneladas, que también es el mayor exportador del mundo, con 1,4 millones de toneladas; entretanto, el mayor importador del mundo es Indonesia, con 578 mil toneladas, y en América es México, con 425 mil toneladas (FAOSTAT, 2011).

La producción de fibra de algodón en Colombia del año 2010 cerró en 36.165 toneladas, superando la producción del año 2009 que tan solo fue de 29.868 toneladas. Esto se ve reflejado en el área sembrada, ya que en el año 2010 se sembraron 44.655 hectáreas, mientras que en el año 2009 se sembraron 38.271 hectáreas. Este nivel de producción dio como resultado para el 2010 un rendimiento nacional de 810 kg/ha y generó durante todo el año 93.133 empleos directos en Colombia (Conalgodón, 2011).

En la zona interior del país los registros históricos muestran que el área sembrada en el año 2010 fue de 14.112 hectáreas, lo que generó 35.145 empleos directos. Dentro de esta área sembrada, el departamento del Tolima participó con el 78%, es decir, 10.967 hectáreas, logrando un rendimiento promedio de algodón



fibra de 1.053 t/ha. Sin embargo, este cultivo es a su vez un sistema productivo al que le falta mejorar en aspectos como la productividad, la calidad y la eficiencia en la producción de la fibra de algodón (Conalgodón, 2011).

Uno de los grandes problemas del cultivo del algodón es el ataque de plagas y enfermedades, que exige gran cantidad de aplicaciones de productos químicos que afectan la salud humana y el medio ambiente, además de tener una alta incidencia sobre los costos de producción, que afectan negativamente la competitividad del cultivo por los altos niveles de residualidad causada por el uso de pesticidas. A pesar de los avances logrados en otros países en programas de erradicación de las plagas, en Colombia los insecticidas de origen químico siguen siendo la principal herramienta, lo cual conlleva un riesgo importante por su utilización continua que puede aumentar la resistencia de las plagas que se combaten con estos.

En los últimos años la mosca blanca se ha convertido en una limitante fitosanitaria en el cultivo de algodón. A la fecha, el único método de control eficiente es el uso de insumos de síntesis química que afectan directamente el medio ambiente y los costos de producción.

Altas poblaciones de mosca blanca (inmaduros y adultos) alimentándose en el follaje pueden afectar los procesos fisiológicos de las plantas produciendo debilitamiento, amarillamiento, deformación del follaje y hasta defoliación. Como consecuencia de este daño, puede presentarse reducción en los rendimientos del cultivo de algodón.



Figura 24. Adultos de mosca blanca (Foto: http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Bemisia_tabaci_from_USDA_1.jpg).

Aun cuando los daños directos pueden ocasionar reducción en la producción, el daño principal en algodón se relaciona con los daños indirectos, los que correspon-

den a la acumulación sobre las diferentes estructuras de las plantas de secreciones azucaradas (miel de rocío) producidas tanto por las ninfas como por los adultos, sustancia que favorece el crecimiento de la fumagina (hollín), que interfiere y reduce la fotosíntesis y otros procesos fisiológicos, además de afectar la calidad de la fibra por manchado. La secreción de sustancias azucaradas ocasiona que la fibra se torne pegajosa, y es rechazada por la industria por afectar su procesamiento en las máquinas desmotadoras de alta velocidad, representando el daño económico más grave causado por la mosca blanca en el cultivo de algodón (Figura 25).



Figura 25. Daño causado por secreciones de adultos de mosca blanca.

Los huevos de mosca blanca son de forma oval sub-elíptica y delgada (en punta) hacia el extremo distal, amplia en la base y provistos de una especie de pecíolo que les sirve de anclaje, ya que la hembra al ovipositar introduce esa estructura en el tejido de la planta. Miden en promedio 0,21 mm de largo y 0,09 mm de ancho en la parte más ancha.

Son puestos en el envés de las hojas, algunas veces en grupos en círculos o semicírculos, dependiendo de la textura de la superficie de la hoja. Los huevos recién puestos tienen un corión suave, amarillento y brillante, cubierto por un polvillo blanco proveniente de las alas de la hembra. El periodo de incubación varía con la temperatura y la humedad relativa, y la duración del estado de huevo varía entre seis y siete días.

La ninfa pasa por cuatro instares y un estado conocido como pupa al final del cuarto instar (Figura 26). Una vez eclosionado el huevo, emerge una pequeña ninfa



que mide alrededor de 0,27 mm de largo, es móvil y se desplaza sobre la superficie de la hoja hasta que encuentra un lugar apropiado para alimentarse, introduce su aparato bucal y se fija allí, donde transcurrirá el resto del estado de ninfa sin volverse a desplazar.

Los instares se diferencian principalmente por cambios en el tamaño y acumulación de sustancias cerosas sobre su cuerpo. Una vez terminado el estado de ninfa, dura de 15 a 17 días y emerge el adulto por una abertura dorsal en forma de "T" invertida.

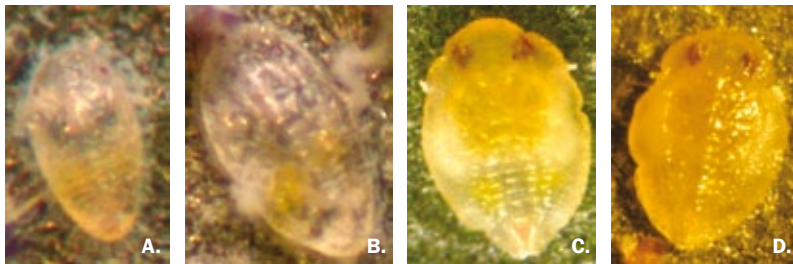


Figura 26. Estados de ninfa de *B. tabaci*. **A.** ninfa 1; **B.** ninfa 2; **C.** ninfa 3; **D.** ninfa 4. (Fotos: Piedrahíta, Camilo).

El adulto de la mosca blanca (*B. tabaci*) recién emergido presenta el cuerpo blando y una coloración blanca amarillenta, pero después de unas pocas horas cambia a completamente blanca debido a la acumulación de polvo de cera sobre el cuerpo y las alas. El cuerpo de las hembras mide aproximadamente 1 mm de largo y el de los machos un poco menos. El adulto presenta dos pares de alas cubiertas de polvo de cera, que sobrepasan la longitud del cuerpo. La duración del estado adulto varía considerablemente de machos a hembras, siendo de 5 a 15 días para los primeros y de 5 a 32 para las hembras. Algunos estudios indican que una hembra es capaz de ovipositar hasta 300 huevos durante su vida y que los huevos de hembras vírgenes producen machos, mientras que las que han copulado dan origen a los dos sexos. En condiciones tropicales, *B. tabaci* puede tener de 11 a 15 generaciones por año.

USO DE *Lecanicillium lecanii* Y PRÁCTICAS DE MANEJO INTEGRADO (MIC) ORIENTADAS AL CONTROL DE MOSCA BLANCA EN EL CULTIVO DE ALGODÓN EN TOLIMA

El presente capítulo tiene como objetivo plantear algunas prácticas de manejo integrado del cultivo del algodón en el departamento del Tolima, enmarcadas en un

contexto ambiental y económicamente aplicable, para disminuir el impacto negativo del cultivo en el medio ambiente. De esta forma, se pretende orientar al productor en la sustitución gradual de la aplicación de productos químicos en el control de plagas y en la disminución de la fertilización química, por alternativas ecológicas como la disminución de la cantidad de fertilizante nitrogenado y prácticas de manejo integrado del cultivo.

Con el fin de evaluar un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el manejo de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón en el departamento del Tolima, se diseñó una estrategia de manejo integrado del cultivo (MIC) enmarcada en un contexto ambiental y económicamente viable. La evaluación en condiciones de campo se llevó a cabo en el municipio El Espinal (Tolima) a 323 msnm, la cual consistió en establecer dos parcelas experimentales cada una con un área de 2.500 m²; una llamada MIC en donde se incluyó uso del bioplaguicida a base del entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* para el control de la mosca blanca, y la otra llamada agricultor, en donde se hizo un manejo tradicional del cultivo hecho por el agricultor.

Dentro del esquema MIC se implementaron las siguientes prácticas:

Fecha de siembra. La siembra se efectuó en la fecha oportuna de acuerdo con la Resolución 30 de 2011 del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), con el propósito de romper los ciclos de vida de los insectos plaga.

Uso de semilla certificada. Se usó semilla certificada con tecnología Bt, que ofrece calidad y sanidad al cultivo. Además ofrece protección contra *Spodoptera* y confiere resistencia a herbicidas.

Tratamiento de semilla. Con el objetivo de disminuir los niveles de aplicación de nitrógeno químico y mejorar el desarrollo de la planta antes de la siembra, la semilla se trató con Monibac, un biofertilizante producido por Corpoica a base de la bacteria *Azotobacter chroococcum* fijadora de nitrógeno.

Barrera viva. Con el objetivo de evitar el paso de insectos plaga hacia el cultivo, como es el caso de mosca blanca, 20 días antes de la fecha de siembra del algodón se estableció una barrera viva de maíz transgénico (resistente a herbicidas y al ataque de algunos insectos plaga) alrededor de la parcela MIC (Figura 27).



Figura 27. Barrera viva establecida en parcela MIC.

Aplicación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* para el control de mosca blanca

Con el propósito de disminuir el impacto ambiental causado por el uso de insecticidas químicos se hicieron aplicaciones del bioplaguicida para el control de mosca blanca, para lo cual se determinó el nivel de infestación de mosca blanca en cada parcela.

Para determinar el nivel de infestación se siguió la metodología sugerida por Ellsworth *et al.* (1995); Ellsworth *et al.* (1996) y Diehl *et al.* (1997), en donde se seleccionaron al azar 30 plantas dentro de la parcela y en cada planta se escogió la quinta hoja contada desde el extremo apical del tallo principal. En cada hoja se hizo la observación de ausencia o presencia, y si en la observación se encontraban más de 2 ninfas o adultos de mosca blanca la planta se clasificaba como infestada. Si 12 plantas (40%) de las 30 muestreadas estaban infestadas, se hacía la aplicación.

La aplicación de este producto se hizo en horas de la tarde, utilizando una bomba de espalda y dirigiendo la boquilla al envés de las hojas, con el propósito de exponer los estados inmaduros y adultos de mosca blanca a la acción del bioplaguicida (Figura 28).

Tanto las aplicaciones con *L. lecanii* como de fungicidas aplicados para el control de problemas fitosanitarios en el cultivo, se realizaron con un intervalo mínimo

Figura 28. Aplicación del bioplaguicida a base de *L. lecanii*.



de 8 días entre estos, periodo que permite que el hongo entomopatógeno colonice los estados inmaduros y adultos de mosca blanca y ejerza su efecto biocida sobre mosca blanca.

Control de malezas. Debido a que la mosca blanca tiene gran diversidad de hospederos, durante el ciclo de cultivo se hizo el control de malezas constante con el objeto de disminuir el número de estos, evitando así infestaciones elevadas del insecto.

Disminución de niveles de nitrógeno en la fertilización. En cada fertilización edáfica se redujo la dosis de nitrógeno en un 30%.

Instalación de trampas mata picudo TMP. Para el control del picudo del algodón (*Anthonomus grandis*) se instaló un tubo mata picudo por hectárea antes de la siembra del algodón, el cual sirve para hacer monitoreo constante de este y determinar fechas de aplicación para su control.

Trampas amarillas pegajosas. Teniendo en cuenta el hábito volador de la mosca blanca, se instalaron trampas amarillas pegajosas en sentido del viento. El objeto de esta práctica es capturar el mayor número de adultos del insecto y determinar niveles de población que indiquen fechas de aplicación.

Eliminación de socas. Con el propósito de disminuir la disponibilidad de alimento y a su vez niveles de población de insectos plaga como el picudo y la mosca blanca, después de realizar la cosecha se recomienda eliminar lo antes posible la soca o el residuo del cultivo.

Las dos parcelas evaluadas se establecieron con el propósito de determinar cuál de estas dos es más rentable y amigable con el medio ambiente, para lo que se evaluaron las siguientes variables:



- Niveles de población de mosca blanca
- Mortalidad y factores de mortalidad de *Bemisia tabaci* mediante el uso de tablas de vida horizontales en campo
- Índice beneficio-costeo

Niveles de población de mosca blanca. Para establecer los niveles de población de *B. tabaci* en las dos parcelas, se hizo un conteo semanal de ninfas y adultos a partir de los 45 días después de la siembra sobre 30 plantas para determinar el momento de aplicación del bioplaguicida y hacer la tabla de vida horizontal.

En cuanto a los niveles de población de mosca blanca en las dos parcelas, se observó que hubo menor porcentaje de población en la parcela MIC con un 33% y un 63% en parcela agricultor (Figura 29). Los anteriores resultados muestran que el MIC y el uso del bioplaguicida inciden directamente en los niveles de población de la plaga, reduciéndolos significativamente. Lo anterior indica que es posible reemplazar insumos químicos por insumos biológicos con mayor capacidad de control sobre mosca blanca, que además contribuyen a disminuir el impacto ambiental y a mejorar la calidad de la fibra de algodón mediante la reducción de niveles de población en época de apertura de botones, siendo beneficiados directamente los agricultores.

En la Figura 29 se observa que cada pico de color verde es seguido por un descenso, lo cual coincide con las épocas de aplicaciones con nivel que se hicieron del bioplaguicida, lo que demuestra la eficiencia del bioproducto y su rápida acción, en comparación con la parcela del agricultor, que según los reportes obtenidos del ciclo del cultivo hizo un manejo químico de la plaga frecuentemente, lo cual se ve reflejado en el aumento del impacto ambiental, costos de producción y rentabilidad del cultivo.

Tabla de vida horizontal de *Bemisia tabaci* en campo y factores mortalidad

Una tabla de vida horizontal es un método que nos permite hacer seguimiento de uno o varios individuos de una misma generación. La tabla de vida permite registrar parámetros biológicos, como lo es el número de individuos vivos y muertos en cada estado del insecto, la longevidad de la hembra y los huevos puestos por la hembra, entre otros. Con los datos obtenidos se determinan parámetros de fecundidad, comportamiento de sobrevivencia y mortalidad en cada uno de los estados evaluados de las poblaciones en estudio.

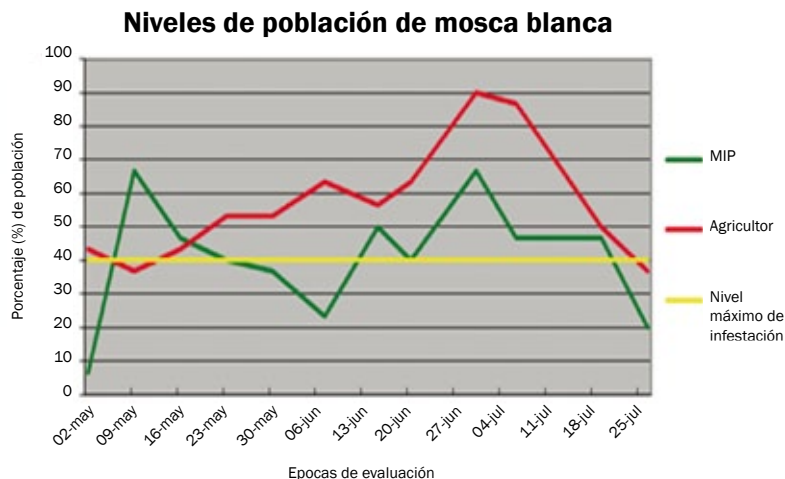


Figura 29. Niveles de población de mosca blanca en las parcelas MIC y agricultor. Aplicaciones para el control de *B. tabaco*. Flechas rojas: agricultor; flechas verdes: MIC.

En este experimento se evaluaron dos cohortes durante el ciclo de cultivo para determinar el porcentaje de mortalidad de mosca blanca en cada una de las parcelas experimentales y establecer el factor de mortalidad, definiendo así el mejor tratamiento para el control de mosca blanca.

Las tablas de vida se hicieron sobre las plantas seleccionadas que se usaron para determinar la época de aplicación según el nivel de población. Sobre cada hoja seleccionada se contó el número de ninfas de segundo estado de ninfa, y a partir de esta población se hizo el seguimiento hasta llegar al estado adulto (metodología descrita en el capítulo de berenjena). En cada estado de ninfa se midió el número de individuos que iniciaba y el número de individuos que finalizaba el estado, para determinar de esta forma la mortalidad y la supervivencia.

En cada individuo muerto se determinó el factor de mortalidad, para lo que se definieron cuatro factores:

Entomopatógenos. Las ninfas del insecto se observan momificadas (secas) y en algunos casos recubiertas de micelio algodonoso, como en el caso de los adultos de mosca blanca (Figura 30).

Parasitismo. En el caso de mosca blanca en el cultivo de algodón, las ninfas son usadas como hospederos de huevos de avispas de la especie Syrphidae. El parasitismo en estados larvarios iniciales se evidencia porque las dos estructuras amarillas presentes en las ninfas de mosca blanca (mycetomas) que normalmente se encuentran en el centro del cuerpo, se ubican desplazadas hacia los extremos



Figura 30. Ninfas de mosca blanca afectadas por el bioplaguicida a base de *L. lecanii*.



laterales del mismo. Al evidenciar exuvias de mosca blanca con orificios circulares en el dorso o en otro lugar del cuerpo, en lugar del orificio en forma de "T", se definió como parasitada (Figura 31).



Figura 31. Ninfa de mosca blanca parasitada.

Depredación. Ocurre cuando insectos de una especie específica se alimentan de otras especies, como es el caso de *Coleomegilla maculata* y *Delphastus pusillus*, que se alimentan de huevos y ninfas de mosca blanca ayudando a reducir los niveles de población.

Su daño es identificado cuando se observa el cuerpo de la ninfa cortado en pedazos con evidencia de la acción de corte por mandíbulas, propio de la muerte por un depredador. Cuerpos de ninfas con la marca de un par de orificios equidistantes en alguna zona de dorso, es evidencia de acción depredadora de larvas de *Chrysopa*.

Otros. En este factor de mortalidad se incluyeron los individuos posiblemente muertos por acción de insecticidas y por factores abióticos como lo son las condiciones ambientales.

Durante el ciclo de cultivo se colectaron datos de tres cohortes evaluadas tanto de mortalidad como de factores de mortalidad; solamente se presentan los resultados de la primera cohorte (tablas 15 y 16). En la Tabla 17 se presentan los porcentajes promedio de participación de cada uno de los factores de mortalidad de las tres cohortes evaluadas.

Al efectuar el análisis de los factores de mortalidad instar específica en la parcela MIC, se observa que el mayor porcentaje de mortalidad instar específica se presentó en el estado ninfa 4, con un porcentaje de participación del 45% (Tabla 15). El mismo comportamiento se observó en la parcela agricultor (Tabla 16), lo que demuestra que el estado ninfa 4 es el más susceptible a los diferentes factores de mortalidad evaluados.

Tabla 15. Tabla de vida horizontal de la población de ninfas de *B. tabaci* presentes en la parcela MIC en el cultivo de algodón.

X	nx	Lx	dxF	dx	100 qx
Ninfa 2	187	100	Abiótico	24	13
			Depredación	22	12
			Parasitismo	0	0
			Total	46	25
Ninfa 3	141	75	Abiótico	11	8
			Depredación	14	10
			Parasitismo	15	11
			Bioplaguicida	5	4
Total	45	32			
Ninfa 4	96	68	Abiótico	4	4
			Depredación	6	6
			Parasitismo	13	14
			Bioplaguicida	20	21
Total	43	45			
Adulto		55			



Tabla 16. Tabla de vida horizontal de la población de *B. tabaci* en la parcela agricultor en el cultivo de algodón.

X	Nx	Lx	dxF	dx	100 qx
Ninfa 2	192	100	Abiótico	28	15
			Depredación	8	4
			Parasitismo	5	3
			Total	41	21
Ninfa 3	151	79	Abiótico	19	13
			Depredación	12	8
			Parasitismo	11	7
			Entomopatógenos	5	3
Total	47	31			
Ninfa 4	104	69	Abiótico	5	5
			Depredación	8	8
			Parasitismo	17	16
			Entomopatógenos	5	5
Total	35	34			
Adulto	69	66			

En cuanto a los factores de mortalidad, se observa que en los estados de ninfa 2 y 3 el mayor porcentaje de mortalidad es ocasionado por los factores de parasitismo y depredación (Tabla 15). En el estado ninfa 4 se observa el efecto del bioplaguicida con el mayor porcentaje de mortalidad (21%), comportamiento que se da ya que en el momento de iniciar la cohorte se hicieron las aplicaciones del bioplaguicida y solo hasta estado ninfa 4 se pudo observar el efecto del entomopatógeno, tiempo en el cual el bioplaguicida coloniza los estados inmaduros de la plaga y causa su muerte.

Tabla 17. Porcentaje de participación de factores de mortalidad en tres cohortes evaluados en el cultivo de algodón

Factores de mortalidad	MIC %	Agricultor %
Entomopatógeno	23,55	1,94
Parasitismo	8,82	7,52
Depredación	12,87	9,81
Otros	34,01	40,58

Con respecto a los factores de mortalidad en la parcela agricultor, se observó que en los estados de ninfa 2 y 3 el mayor porcentaje de mortalidad es atribuido a factores abióticos (Tabla 16), lo que indica que tanto las condiciones ambientales y el control químico ejercieron control sobre la plaga. Pero hay que tener en cuenta que en la parcela MIC en estos dos estados de ninfa fue en los que se presentó el mayor porcentaje de control por factores de parasitismo y depredación, lo que indica que las prácticas de manejo integrado del cultivo de algodón empleadas en este experimento promueven el control biológico sobre mosca blanca, aumentando los niveles de población de insectos benéficos como lo es de *C. maculata* y *Chrysopas* (depredadores).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para el estado de ninfa 4, en donde se registró el mayor control ejercido por los parasitoides, en comparación con los factores químico y abiótico se pudo evidenciar la importancia de relacionar el estado de desarrollo del insecto con la selección del control a ejercer. Lo anterior obedece a que las ninfas de mosca blanca dejan de succionar fotoasimilados de la planta cuando se acercan a la terminación del estado ninfal (4° estadio), y que buena parte de los productos de síntesis química aplicados comúnmente por los agricultores son de acción sistémica, sin ser ingeridos por las ninfas, razón por la que no son efectivos en el control del insecto.

En relación con los porcentajes de mortalidad causados por los factores de parasitismo y depredación, fueron más altos en la parcela MIC que en la parcela agricultor, efecto atribuido a los bajos niveles de parasitoides y depredadores que son blanco del uso indiscriminado de insecticidas en la parcela del agricultor.

En cuanto a los factores de mortalidad de cada una de las parcelas experimentales, se determinó que el entomopatógeno es el factor biológico que mayor porcentaje de mortalidad causa en los niveles de población de mosca blanca (Tabla 17). Teniendo en cuenta la sumatoria de los porcentajes de mortalidad de cada uno de los factores evaluados, se obtuvo un porcentaje de mortalidad total del 79,25% para la parcela MIC y del 59,85% para la parcela agricultor, lo que evidencia que el manejo integrado del cultivo tiene un efecto directo en los niveles de población de mosca blanca, lo que se ve reflejado en los costos de producción y en la disminución del impacto ambiental.

Índice Beneficio-costo. Durante el ciclo productivo de algodón se determinaron los costos directos e indirectos de las dos parcelas evaluadas para obtener



los egresos netos del cultivo. Al final del ciclo se calcularon los ingresos del cultivo obtenidos de la venta de semilla y fibra de algodón (Tabla 18). En la parcela MIC hubo menores egresos con respecto a la parcela agricultor, lo cual es atribuido directamente a la disminución en la aplicación de fertilizante nitrogenado. En cuanto al índice beneficio-costo, este fue mayor en la parcela MIC con respecto a la parcela agricultor, aunque los dos tratamientos son viables económicamente, la parcela MIC genera mayor rentabilidad que la del agricultor.

Tabla 18. Evaluación de la producción en parcela MIC y agricultor en algodón. Espinal-Tolima (Semestre A 2011).

Tratamientos	MIP	Agricultor
Variabes		
Producción (t/ha)	1,92	1,89
Venta (\$/ha)	\$ 7.691.290	\$ 7.542.200
Costos (\$/ha)	\$ 4.114.222	\$ 4.382.101
Beneficio-costo	1,86	1,72

Los resultados obtenidos permiten evidenciar que la inclusión del bioplaguicida a base de *L. lecanii* en un esquema de manejo integrado del cultivo es un componente que además de contribuir a mantener los niveles de la mosca blanca por debajo del nivel de daño económico, permite favorecer otros factores bióticos de control no solamente de mosca blanca sino de otras plagas, siendo una herramienta ambiental y económicamente viable para su implementación.

Referencias

- Agrocadenas, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2005). La cadena del algodón en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica 1991 - 2005. Documento de trabajo No. 53. 46 p.
- Consulta en línea. Septiembre de 2011: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Conalgodón. 2011. Estadísticas del área, producción nacional y rendimientos de algodón 2005-2010 pry. Unidad de Estadística y Análisis Económico Conalgodón. Disponible en internet: <http://www.conalgodon.com.co/portal/actualizables/ExcelEstadistica/Area%20Y%20Produccion%20Regional%202002-2011.pdf>
- Diehl, J.W.; Ellsworth, P.C. & Naranjo, S.E. (1997). Whiteflies in Arizona No. 11: Binomial Sampling of Nymphs. The University of Arizona, Cooperative Extension. 2 p.
- Ellsworth, P.; Diehl, J.; Dennehy, T. & Naranjo, S. (1995). Sampling sweetpotato whiteflies in cotton. IPM Series No 2. Cooperative Extension, University of Arizona, Tucson.
- Ellsworth, P.; Diehl, J. W.; Naranjo, S. E. (1996). Sampling Sweetpotato Whitefly Nymphs in Cotton. IPM Series No. 6. The University of Arizona, Cooperative Extension. Publication #196006. Tucson, AZ. 2 pp.
- Negrete, F.; Morales, J. y Martínez, L. (2009). Buenas prácticas agrícolas para el cultivo del algodón en el departamento de Córdoba. Boletín técnico. pp. 1-36.
- Silva, C. (2005). Algodón

Terminó de imprimirse
en junio de 2012 en



Tel: 893 7710
Bogotá, DC, Colombia

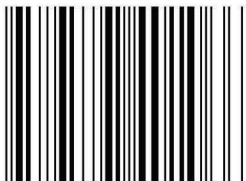


Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
República de Colombia

Prosperidad
para todos



ISBN: 978-958-740-106-6



9 789587 401066

