223-3

TRABAJO II

EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Verticillium lecanii* (ZIMM.) VIEGAS EN EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA DE LOS INVERNADEROS *Trialeurodes vaporariorum* (WESTWOOD)[1]

Javier García González[2]
A. López-Ávila[3]

Resumen

La mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* es un insecto plaga que posee un amplio rango de hospederos y causa pérdidas significativas en cultivos de fríjol, arveja, habichuela y tomate entre otros. El trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones "Tibaitatá" de CORPOICA, con el propósito de evaluar la eficiencia de varias cepas nativas de *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca de los invernaderos, y seleccionar las mejores cepas para un programa de manejo integrado de la plaga. Determinar la concentración letal media (CL_{50}) y evaluar en campo preformulaciones de las cepas seleccionadas. Se escogieron seis cepas nativas procedentes de aislamientos de adultos colectados en campo en la provincia del Sumapáz. Mediante ensayos en invernadero se evaluaron estas cepas sobre ninfas en II ínstar de la mosca blanca y se seleccionaron dos codificadas como Cepa VI 17 y Cepa VI 26. A éstas se les determinó la CL_{50}; la cepa VI 26 alcanzó su CL_{50} a una menor concentración de propágulos/ml que la cepa VI 17, por lo cual la primera pasó a un proceso de formulación en el que se obtuvieron dos productos, uno polvo mojable y otro liofilizado. Estos productos se evaluaron en un ensayo de campo en el cuál se compararon con otros tres tratamientos. En los tratamientos Polvo Mojable y Liofilizado se observaron niveles de infección de ninfas de mosca blanca, iguales ó superiores a los presentados por los otros tratamientos, sin embargo no mostraron diferencias significativas.

---

[1] Trabajo de tesis. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Santafé de Bogotá.
[2] Ingeniero Agrónomo. Investigador Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas. Transv. 68 Nº 73-09.
[3] P.h. D. Coordinador Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas "MIP".CORPOICA. A.A. 240142, Las Palmas. Santafé de Bogotá.

Introducción

La mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homóptera: Aleyródidae), fue reportada como insecto plaga hacia el año de 1870 en un cultivo de tomate bajo invernadero en zonas del Oeste y Suroeste de Norte América; a partir de esa época se ha distribuido ampliamente en Asia, África, América y Oceanía (Rusell, 1948). En Colombia se le encuentra ubicada en los diferentes pisos térmicos, ocasionando pérdidas que superan el 50% de los rendimientos en cultivos de fríjol y habichuela, los cuales representan una disminución en los rendimientos de 13 toneladas (Ashby et al, 1991); dichas pérdidas son producidas directamente por la extracción de la savia circulante por el floema de la planta, e indirectamente por la mielecilla excretada por el insecto, la cual sirve como medio de crecimiento a hongos saprófitos (Byrne et al, 1990;Byrne y Bellows, 1991). Esta especie es reconocida como polífaga, con más de 249 géneros de plantas reconocidos como sus hospederos (Byrne y Bellows, 1991; Rusell, 1948).

El entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Zímm) Viegas (Deuteromycete: Moniliales), es un hongo imperfecto que se reproduce asexualmente por conidias insertadas en los extremos de conidióforos erectos, con fiálides colocados de manera verticilar. Es un hongo de amplia distribución que puede ocasionar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos. *V. lecanii* posee un amplio rango de huéspedes atacando insectos de los ordenes Homóptera, Coleóptera, Díptera y Collembola entre otros (Mier et al, 1991; Bustillo et al, 1986). Existen numerosos reportes en los que se comenta la acción de *V. lecanii* sobre la mosca blanca *T. vaporariorum*; en uno de ellos Fransen (1990), comenta que este hongo infecta tanto ninfas como adultos del insecto, pero no sus huevos. En ensayos específicos acerca de la patogenicidad del hongo sobre diferentes estados de la mosca blanca, Mier et al (1991) encontraron que los mayores niveles de infección se presentaron sobre el II instar ninfal de la mosca blanca. En general la literatura indica que este entomopatógeno es un agente de control biológico con amplias perspectivas para ser usado en el control de la mosca blanca de los invernaderos.

El presente trabajo se planteó, teniendo en cuenta la importancia económica de la mosca blanca en la agricultura nacional y la necesidad de buscar alternativas de bajo impacto ecológico, para una agricultura sostenible. La investigación se desarrolló con el propósito fundamental de evaluar las posibilidades de control biológico de la plaga con el entomopatógeno *Verticillium lecanii*, para lo cual se desarrollaron pruebas a nivel de laboratorio, invernadero y campo en las que se evaluaron cepas nativas y productos preformulados con base en la más promisoria.

Materiales y Métodos

El trabajo de laboratorio e invernadero se realizó en el Centro de Investigaciones "Tibaitatá" de CORPOICA, localizado en Mosquera (Cundinamarca) a 2.640 msnm y con una temperatura promedio de 14 °C. El ensayo de campo estuvo ubicado en el municipio de Silvania (Cundinamarca) a 1.750 msnm y 17 °C de temperatura en promedio. En invernadero se contó con una colonia de la mosca blanca, mantenida sobre plantas de fríjol de la variedad "Simijaca" sembradas en piso; estas plantas se dejaron a libre crecimiento vegetativo, en las cuales fue posible obtener los diferentes estados de la mosca blanca. Para la evaluación de la eficiencia de las cepas se sembraron plantas de fríjol (*Phaseolus vulgaris*) variedad "ICA-Cerinza" en materos de plástico de 20 cm de alto por 15 cm de diámetro. Se plantaron seis semillas por matero, las cuales fueron mantenidas en un cuarto de malla a prueba de insectos hasta que formaron tres hojas verdaderas. Después de este periodo las plantas se sacaban del cuarto de malla y se infestaban con adultos de la mosca blanca provenientes de la cría básica, por un período de 48 hr, para asegurar suficiente oviposición del insecto; posteriormente los adultos de la mosca blanca eran retirados asperjando agua dirigida al envés de las hojas; luego se reaislaban las plantas con las oviposiciones en el cuarto de malla, hasta el momento en que la población del insecto se encontraba en II ínstar ninfal, estado sobre el cual se realizaban los bioensayos.

Las cepas del hongo evaluadas en este trabajo, se obtuvieron de aislamientos de adultos de mosca blanca infectados, colectados en campo, en diferentes regiones de la provincia del Sumapáz. Los aislamientos fueron codificados y almacenados en el banco de cepas del Programa de Manejo Integrado de Plagas de CORPOICA en el C.I.

"Tibaitatá". En la Tabla 1 se presentan los datos de colección de las cepas evaluadas en el ensayo de selección. Las cepas fueron reactivadas en el laboratorio sobre adultos de mosca blanca. Los individuos infectados con el hongo fueron puestos en medio de cultivo PDA para la multiplicación del hongo. Una vez obtenidos los crecimientos suficientes del hongo, éste se separó del medio de cultivo y se llevó a las concentraciones establecidas para su evaluación, mediante técnicas rutinarias en el laboratorio; la aplicación en invernadero se hizo mediante atomizadores plásticos previamente calibrados.

TABLA 1. Información general de las cepas nativas de *Verticillium lecanii* evaluadas en los experimentos de selección en invernadero

CÓDIGO DE LA CEPA EN EL BANCO DE CEPAS DEL MIP	LUGAR DE ORIGEN (MUNICIPIO-VEREDA)	ALTURA SOBRE EL NIVEL DEL MAR
VI 09	Fusagasugá-Usatama	1650 m.s.n.m.
VI 10	Silvania-Subia Oriental	1750 m.s.n.m.
VI 17	Pasca-Guchipas	2130 m.s.n.m.
VI 19	Arbeláez-San Miguel	1850 m.s.n.m.
VI 23	Arbeláez-San luis	1850 m.s.n.m.
VI 26	San Bernardo-Sta Helena	1950 m.s.n.m.

Para el ensayo en campo el hongo fue multiplicado en medio liquido en bandejas de aluminio con sustrato de arroz previamente cocido, licuado y esterilizado. A la biomasa obtenida en estos crecimientos se le añadió un protector de luz U.V. y luego se sometió a un proceso de secado mediante dos técnicas descritas más adelante.

El experimento de selección de cepas tuvo como modelo estadístico un diseño completamente al azar con 15 tratamientos, seis cepas en las concentraciones $1x10^4$ y $1x10^8$ propágulos/ml más los testigos (Tabla 2); como unidad experimental se usó un

proceso se obtuvieron dos preformulaciones: una secando la biomasa obtenida de los crecimientos en arroz, a 25 ^{o}C en estufa con corriente de aire, para obtener un polvo que se denominó "Polvo Mojable", y la segunda mediante un proceso de liofilización. Dichos productos fueron evaluados en un ensayo en campo en plantas de habichuela sembradas a una distancia de 0,30 m entre plantas y 0,90 m entre surcos, en el cual se compararon con otros tres tratamientos. El experimento de campo tuvo como modelo estadístico un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos y tres replicaciones. Como unidad experimental se tuvo una parcela de 45 m^2 con tres surcos y como unidad de muestreo cinco folíolos por parcela, tomados de los tercios inferior y medio de las plantas ubicadas en los surcos centrales de las parcelas. Los tratamientos consistieron en: el manejo tradicional del agricultor basado en la aplicación de insecticidas químicos; un manejo integrado de la plaga basado en la aplicación del insecticida granular carbofurán a la siembra, colocación de trampas amarillas y la eventual aplicación del insecticida foliar Buprofenzín, a nivel de ataque 3 "presencia de ninfas en el tercio inferior de la planta", según la tabla de nivel de ataque presentada por Ashby et al (1991); un tratamiento con la aplicación del producto comercial biológico Vertisol^{R}, y los productos preformulados "Polvo Mojable" y "Liofilizado".

Resultados y Discusión

Selección de cepas

En el ensayo de selección de cepas, la concentración de 1x10^{8} propágulos/ml presentó los mayores niveles de infección como se puede observar en la Figura 1, mostrando diferencias significativas con la concentración 1x10^{4} prop/ml para la mayoría de las cepas. Estos resultados demuestran la diferencia existente al aplicar una concentración alta comparada con una baja, ya que la primera posee una mayor cantidad de propágulos que pueden infectar al huésped.

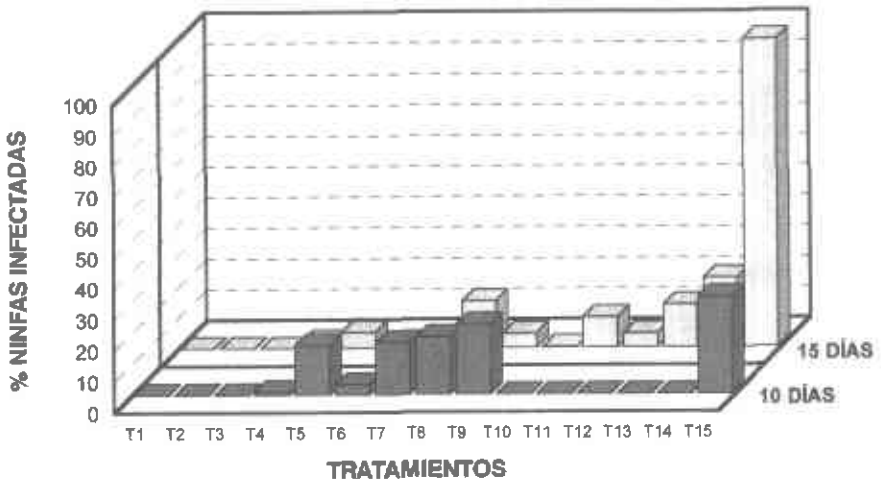

FIGURA 1. niveles de infección por tratamiento en cada una de las observaciones realizadas durante el ensayo de selección de cepas

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa D.M.S. (Tabla 3), se observó que las cepas codificadas como cepa VI 17 y VI 26 mostraron los mayores niveles de infección presentando diferencias significativas con las demás cepas evaluadas. Según Hajek y Leger (1994), las enzimas de muchos patógenos son determinantes de la virulencia, por que ellas le permiten al patógeno coexistir con los procesos cambiantes asociados con la enfermedad del hospedero. Los resultados en este experimento sugieren que algo en ese sentido puede estar ocurriendo, en este caso si se tiene en cuenta la variación patogénica que se presentó entre las cepas.

Concentración letal media

El análisis de los resultados del ensayo de CL_{50} (PROBIT) mostró valores que correspondieron a $4{,}92 \times 10^{8}$ y $1{,}75 \times 10^{8}$ propágulos/ml para las cepas VI 17 y VI 26 respectivamente, resultados ilustrados en la Figura 2. Se nota una mayor actividad patogénica para la cepa VI 26 la cual alcanza su concentración letal a una menor

TABLA 3. Prueba DMS para los promedios del número de ninfas infectadas por cepa en las observaciones hechas durante el ensayo de selección de cepas.

Cepa N°	Observación diez días después de aplicados tratamientos*	Observación quince días después de aplicados tratamientos*
VI 09	5,0042 b	4,1104 c
VI 10	4,8393 b	2,2920 d
VI 17	6,8478 a	5,5217 b
VI 19	1,8161 c	4,0206 c
VI 23	1,6965 c	5,8058 b
VI 26	5,5970 b	13,5774 a
DMS (P<0,05)	**0,9207**	**0,8774**

* Valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes.

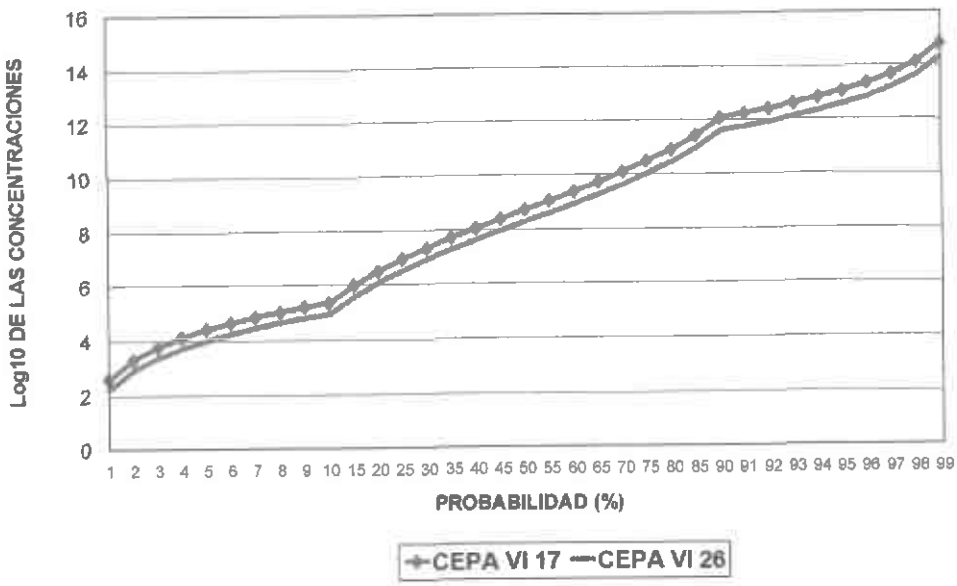

FIGURA 2. Concentraciónes letales de dos cepas de *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*

concentración de propágulos/ml; estos resultados muestran que la CL_{50} se ubicó en la mayor de las concentraciones evaluadas en $1x10^8$ propágulos/ml lo que plantea la necesidad de obtener altas cantidades del hongo para ocasionar esta mortalidad; las altas cantidades requeridas pueden ser atribuidas a la forma de fructificación del hongo el cual produce conídias y conidióforos terminales poco abundantes mostrando una apariencia lisa y algodonosa, tal como lo menciona Rodríguez (1984).

Pruebas de campo

En el ensayo de campo la prueba de comparación de medias D.M.S. no mostró diferencias entre los tratamientos "Polvo Mojable" y "Liofilizado" con los demás tratamientos, sin embargo estos dos tratamientos mostraron niveles de infección iguales o superiores a los otros, lo que demuestra la eficacia y posibilidades de estos preformulados en el control de ninfas de mosca blanca; estos niveles de infección se presentan en la Figura 3. Durante la realización del ensayo se presentaron condiciones de alta humedad ocasionada por las frecuentes lluvias, que favorecieron el desarrollo de enfermedades en el cultivo de tipo fungoso tales como Antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum lindemuthianum* y roya producida por *Uromyces apendiculatus*. Por esta razón fue necesario aplicar los fungicidas carbendazim, propineb, captam y azufrados; iniciandose las aplicaciones a partir de los 40 días de sembradas las plantas. Como se observa en la Figura 3, durante el desarrollo del experimento se presentaron niveles de infección de ninfas de mosca blanca en todas las evaluaciones, lo que plantea la posibilidad de que existe cierto grado de compatibilidad entre el entomopatógeno *V. lecanii* con los fungicidas aplicados; según revisiones hechas por Fransen (1990), algunos fungicidas pueden ser aplicados en forma simultánea con las conidias de *V. lecanii*, mientras que otros deben aplicarse de forma separada para no afectar la acción del entomopatógeno. Según este mismo autor (Fransen 1990), Aplicaciones previas del fungicida Benomyl, cuando se aplicó *V. lecanii* para el control de áfidos, no mostraron efectos adversos sobre el entomopatógeno. Como lo muestra la Figura 3, los mayores niveles de infección de ninfas de mosca blanca se presentaron a partir de la observación hecha a los 60 días después de la siembra para la mayoría de los tratamientos; este

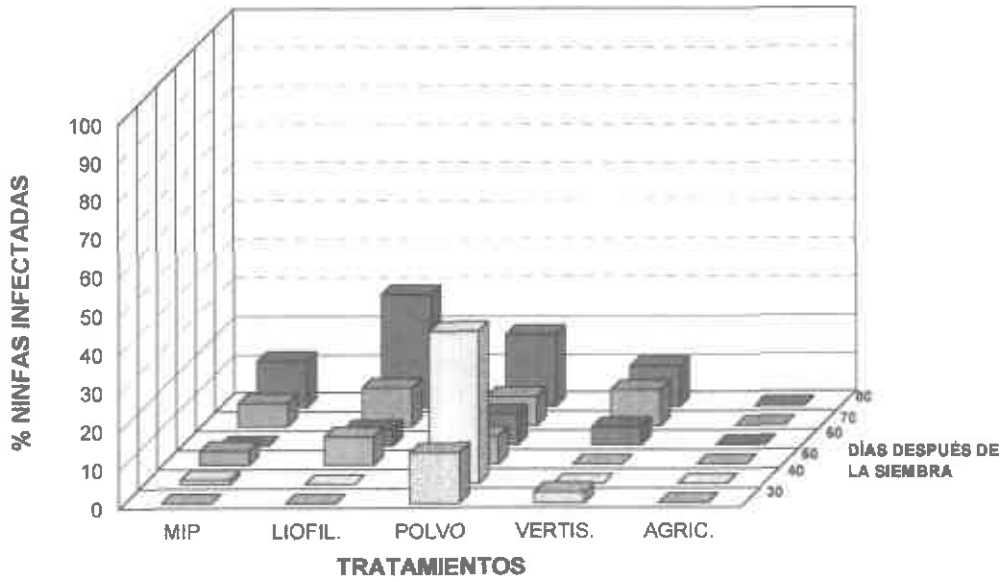

FIGURA 3 . Evaluación en campo de cinco tratamientos para el control de ninfas de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*

resultado puede ser atribuido al incremento en la población de ninfas de mosca blanca presentado a partir de esta fecha de observación. Al presentarse mayor cantidad de ninfas de mosca blanca, además de su hábito gregario se favorece la posibilidad de acción por parte de *V. lecanii*, tal y como lo menciona Tanada (1987), el cual afirma que mientras más cercanos los individuos de una población de insectos mayor será la oportunidad de diseminación de la enfermedad. En la Figura 4 se observa una ninfa de mosca blanca infectada por *V. lecanii*, en la cual el micelio del hongo cubre el cuerpo de la ninfa y a su costado derecho la exuvia pupal de un adulto emergido, situación observada con frecuencia en el experimento de campo.

De acuerdo con las observaciones al momento de las aplicaciones en campo, las características físicas de los productos preformulados "polvo mojable" y "liofilizado" tales como solubilidad, tamaño del grano y dilución del producto en la mezcla, fueron superiores para el producto "liofilizado", el cual formó una solución homogénea y se pudo

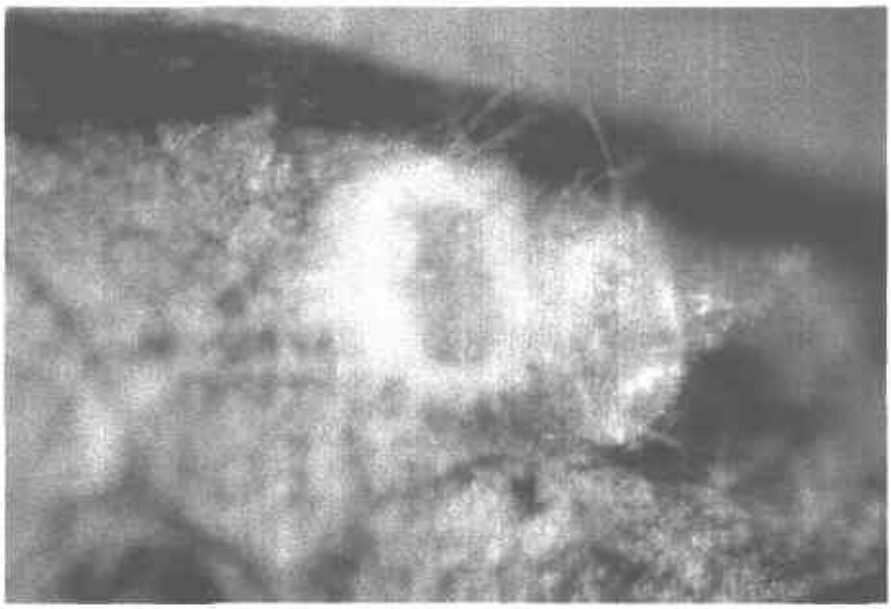

Figura 4. Ninfa de la mosca blanca de los invernaderos infectada con el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. Obsérvese la coloración amarilla de la ninfa infectada y el micelio cubriendo el cuerpo de la misma. A su costado derecho la exuvia ninfal después de la emergencia del adulto.

aplicar fácilmente mediante la bomba de espalda que comúnmente utiliza el agricultor. Esta característica puede ser debida a la forma de secado de la biomasa por el método de liofilización en el cual se obtiene un secado rápido y eficiente del producto.

Conclusiones

Las cepas codificadas en este trabajo como VI 17 y VI 26, fueron seleccionadas por presentar los mayores niveles de infección de ninfas en II instar de mosca blanca en invernadero, frente a las demás evaluadas, lo cual las hace promisorias para el control de esta plaga.

Los más altos niveles de infección se obtuvieron con la concentración $1x10^{8}$ propágulos/ml, que corresponde a la mayor de las concentraciones evaluadas en el ensayo de selección de cepas, información valiosa para el desarrollo de preformulaciones y productos comerciales.

Se presentó variación en la actividad patogénica de las cepas seleccionadas, teniendo mayor capacidad de infección la Cepa VI 26 al alcanzar su CL_{50} a una menor concentración de propágulos/ml.

A pesar de las aplicaciones con fungicidas químicos, se presentaron diversos niveles de infección por parte de *V. lecanii*, después de su aplicación en las distintas fechas durante el ensayo de campo, lo que sugiere posible compatibilidad del entomopatógeno con dichos productos.

Los productos preformulados "Polvo Mojable" y "Liofilizado" son promisorios para el control de la mosca blanca *T. vaporariorum*, ya que los resultados de campo mostraron que los niveles de infección en las poblaciones de mosca blanca fueron iguales o superiores a los demás tratamientos evaluados.

El producto preformulado "liofilizado" comparado con el "polvo mojable", presentó mayor facilidad de manejo al momento de su aplicación en campo; debido a que formó una solución homogénea de fácil aplicación mediante los métodos de fumigación convencionales, lo cual indica que este es un proceso adecuado para formular el entomopatógeno *Verticilium lecanii*.

Agradecimientos

Alba Marina Cotes directora del laboratorio de control biológico de CORPOICA en "Tibaitatá" por su asesoría prestada en la fase de producción y preformulación del entomopatógeno.

Marcela Quintana y Consuelo Vanegas encargadas de la fase de producción masiva y preformulación de *V. lecanii*.

Pedro Prada director del Creced provincia del Sumapáz por su asesoría en la fase evaluación del producto preformulado en campo.

Rubén Molina, Gregorio Escobar y Sinibaldo Quintero auxiliares de técnico por su colaboración durante la realización del ensayo de campo.

933-4

CORPOICA y PRONATTA por la colaboración logística y financiera para la ejecución de este proyecto de investigación.

Bibliografía

ASHBY, J; CARDONA, C.; PRADA, P.; QUIRÓS, C.; RODRÍGUEZ, A. 1991. Bases para establecer un programa de manejo integrado de plagas en habichuela en la provincia del Sumapáz (Colombia). Abril. Documento de trabajo No 86. p.78.

BYRNE, D.; BELLOWS, T.; PARRELLA, M. 1990. Whitiflies in agricultural systems. IN: Whitiflies: their bionomics, pest status and management. D. Gerling (Ed.). (Israel). p. 227-262.

BYRNE, D.; BELLOWS, T. 1991. Whitefly biology. IN: Annual review of entomology (United States). p. 431-457.

BUSTILLO, A.; GONZÁLEZ, J.; TAMAYO, P. 1986. Evaluación del hongo *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*. (Colombia). p.15.

FRANSEN, J. J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. IN: Whiteflies: their bionomics, pest status and management. D. Gerling (Ed.). (Israel) p. 187-205.

HAJEK, A.E.; ST LÉGER, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. IN: Annual review of entomology (United States). Vol: 39. p.293-322.

MIER, T.; RIVERA, F.; BERMÚDEZ, J.; DOMÍNGUEZ, Y.; BENAVIDES, C.; ULLÓA, M. 1991. Primer reporte en México del aislamiento de *Verticillium lecanii* a partir de la mosquita blanca y pruebas de patogenicidad in vitro sobre este insecto. EN: Revista Mexicana de micología (México). Vol: 7. p. 149-165.

RODRÍGUEZ SIERRA, D. A. 1984. Hongos entomopatógenos registrados en Colombia. EN: Revista de la Sociedad Colombiana de entomología (Colombia). Vol: 10. p. 57-64.

RÚSELL, L. 1948. The North American species of whiteflies of the genus *Trialeurodes*. USDA, miscellaneous publication. No. 635. Washington D.C. (United States) p. 11.

TANADA, Y. 1987. Epizootiología de las enfermedades de insectos. EN: Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. De Bach P. Ed. CECSA. México. p. 647-678.