

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

(CATIE)

PROGRAMA DE ENSEÑANZA

AREA DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL
MICROBIANO DE *Bemisia tabaci* (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE)

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico de Postgrado y Capacitación del Programa de Enseñanza en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de

Magister Scientiae

por

FRANÇOIS HERRERA JACQUELIN

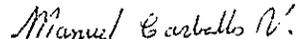
Turrialba, Costa Rica

(1995)

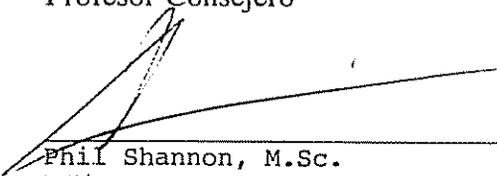
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

FIRMANTES:



Manuel Carballo, M.Sc.
Profesor Consejero



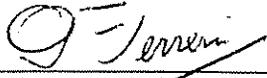
Phil Shannon, M.Sc.
Miembro Comité Asesor



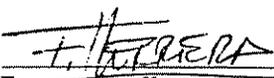
Luko Hilje, Ph.D.
Miembro Comité Asesor



Juan Antonio Aguirre, Ph.D.
Jefe, Area de Postgrado



Pedro Ferreira, Ph.D.
Director, Programa de Enseñanza



Francois Herrera J.
Candidato

DEDICATORIA

A Aída, a mi familia, a mis amigos y a Guatemala

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:

- Al CATIE por darme la oportunidad de estudiar una maestría.
- Al gobierno alemán y al DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst) por haber financiado mis estudios.
- A mis profesores por sus enseñanzas.
- A mi profesor consejero Manuel Carballo por su confianza y su guía.
- A los miembros de mi comité de tesis: Phillip Shannon y Luko Hilje por sus consejos.
- A Johny Pérez por su asesoría en estadística.
- A todo el personal de MIP/CATIE/Costa Rica particularmente a: Lorena Flores, Caroline Smith, Douglas Cubillo, Eduardo Hidalgo, Claudio, Geovani, Guido y Armando por su apoyo y amistad.
- Al CATIE/INTA/MIP (Nicaragua) por proveer material de estudio.
- A mis amigos y compañeros de estudio particularmente a : Aída Wilches, Martha Zamora, Liliana Chávez, Vanda Souza por su amistad.
- A Isabel Gutiérrez, Javier Puig y Ernesto Méndez por su calurosa hospitalidad.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDO	v
RESUMEN	vi
SUMMARY	viii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCION.....	1
A. Objetivo General.....	1
B. Objetivos específicos	2
C. Hipótesis.....	2
II. REVISION DE LITERATURA.....	3
A. <i>Bemisia tabaci</i>	3
A.1 Biología de <i>B. tabaci</i>	3
A.2. Importancia económica de <i>B. tabaci</i>	4
A.3. Biotipos de <i>B. tabaci</i>	6
A.4. Combate convencional de <i>B. tabaci</i>	7
A.5 Otras opciones de combate de <i>B. tabaci</i>	8
B. Hongos entomopatógenos.....	9
B.1. Generalidades y modo de acción.....	9
B.2. Epizootiología de las micosis en moscas blancas.....	11
B.2.1. Factores bióticos asociados al hospedante.....	12
B.2.2. Factores bióticos asociados al patógeno.....	13
B.2.3. Factores abióticos.....	14
B.3. Hongos patógenos de <i>B. tabaci</i>	15
C. Consideraciones para el combate de <i>B. tabaci</i> con entomopatógenos.....	17
C.1. Objetivos del combate.....	17
C.2. Estrategias para la aplicación.....	18
III. METODOLOGIA.....	19
A. Búsqueda de hongos entomopatógenos de <i>B. tabaci</i>	19
A.1. Metodología de muestreo.....	19
A.2. Regiones muestreadas.....	19
A.3. Aislamiento de cepas.....	20
A.4. Conservación de cepas.....	21
B. Metodología para la evaluación de hongos entomopatógenos.....	21
B.1. Hongos utilizados en los bioensayos.....	21
B.2. Cría de <i>B. tabaci</i>	23
B.3. Preparación de las suspensiones de esporas.....	24
B.3.1. Preparación de las esporas.....	24
B.3.2 Preparación de la suspensión "madre".....	24
B.3.3. Preparación de las suspensiones diluidas.....	25
B.3.4. Determinación del error por dilución.....	25
B.4. Determinación del porcentaje de germinación.....	26

B.5. Montaje de los bioensayos	26
B.5.1. Preparación de los discos de hoja	26
B.5.2. Aplicación de las suspensiones	27
B.5.3. Preparación de las “cajas” de bioensayos	28
B.5.4. Condiciones del bioensayo	28
C. Evaluación de hongos entomopatógenos contra <i>B. tabaci</i>	29
C.1. Determinación de la variable de respuesta	29
C.2. Análisis y diseño estadístico	30
D. Determinación de la interacción hongos-parasitoides	31
IV. RESULTADOS	32
A. Resultados de la búsqueda en el campo	32
B. Establecimiento de una metodología de Bioensayo	32
B.1. Discos de hoja	33
B.2. Instars ninfales	33
B.3. Concentración de la suspensión	33
B.4. Condiciones ambientales	34
C. Determinación del error por dilución	34
D. Determinación del porcentaje de germinación	35
E. Resultados de los bioensayos	36
E.1. Bioensayo 1	37
E.2. Bioensayo 2	38
E.3. Bioensayo 3	40
E.4. Bioensayo 4	41
E.5. Bioensayo 5	43
E.6. Bioensayo 6	44
E.7. Bioensayo 7	46
E.8. Bioensayo 8	47
F. Parasitismo	48
V. DISCUSION	51
A. Búsqueda de hongos en el campo	51
B. Error en la dilución y aplicación de suspensiones de esporas	51
C. Selección de los aislamientos promisorios	52
C.1. Aislamientos que no fueron diferentes al testigo	52
C.2. Aislamientos diferentes al testigo pero poco virulentos	53
C.3. Aislamientos muy virulentos	53
E. Efecto de los parasitoides	54
VI. CONCLUSIONES	56
VII. RECOMENDACIONES	56
LITERATURA CITADA	57
ANEXOS	69
Anexo 1: Comprobación de los supuestos del modelo lineal aditivo para los residuos de los porcentajes de mortalidad de los diferentes bioensayos	69

HERRERA, F. 1995. Uso de hongos entomopatógenos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis Mg. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE . 69 p.

RESUMEN

Se probaron en laboratorio 29 aislamientos de *Beauveria* sp., uno de *B. brongniartii*, 10 de *Metarhizium anisopliae*, uno de *M. flavoviride* uno de *Paecilomyces fumosoroseus* y uno de *Paecilomyces* sp. provenientes de las colecciones del CATIE (Costa Rica y Nicaragua) y del USDA (Departamento de Agricultura de Estados Unidos) La metodología de bioensayos consistió en cortar discos de hoja de frijol con ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*. Estos discos se sumergieron en una suspensión de 1×10^7 conidios/ml y se evaluó la mortalidad causada por cada aislado. La mayoría de aislamientos no tuvo ningún efecto marcado sobre las ninfas de *B. tabaci*. Algunos aislamientos de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* fueron diferentes al testigo, pero el porcentaje de mortalidad no sobrepasó el 47%. Cinco aislamientos de *M. anisopliae* fueron muy virulentos con hasta 97% de mortalidad.

HERRERA, F. 1995. Uso de hongos entomopatógenos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis Mg. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE . 69 p.

SUMMARY

29 isolates of *Beauveria* sp., one of *B. brongniartii*, 10 of *Metarhizium anisopliae*, one of *M. flavoviride*, one of *Paecilomyces fumosoroseus* and one of *Paecilomyces* sp. were tested in laboratory trials. The fungi came from the collections at CATIE (Costa Rica and Nicaragua) and from the USDA (Department of Agriculture of the United States). The bioassay methodology consisted of cutting bean leaf disks with fourth instar *B. tabaci* nymphs. These disks were submerged in a suspension of 1×10^7 conidia/ml of each isolate and mortality was evaluated. The majority of the isolations showed no marked effect on *B. tabaci* nymphs. For some isolates of *B. bassiana* and *P. fumosoroseus* significant differences with the experimental control could be observed, however the percentage of mortality didn't surpass 47%. Some isolates of *M. anisopliae* resulted more virulent reaching mortalities as high as 97%.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Zonas de Costa Rica muestreadas en la búsqueda de hongos entomopatógenos de moscas blancas	20
Cuadro 2. Hongos entomopatógenos y sus respectivos hospedantes, procedencias y colecciones de origen, utilizados en bioensayos contra <i>B tabaci</i>	22
Cuadro 3. Hongos entomopatógenos colectados en la fase de campo	32
Cuadro 4: Concentraciones reales de suspensiones obtenidas al diluir una suspensión de concentración conocida para obtener una suspensión de concentración $1 \cdot 10^7$	35
Cuadro 5. Porcentaje de germinación de todas las cepas de hongos entomopatógenos evaluadas	36
Cuadro 6. Comprobación de los supuestos del modelo lineal aditivo de los residuos de los porcentajes de mortalidad transformados	37
Cuadro 7. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del primer bioensayo	38
Cuadro 8. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del primer bioensayo	38
Cuadro 9. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del segundo bioensayo	39
Cuadro 10. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del segundo bioensayo	40
Cuadro 11. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del tercer bioensayo	41
Cuadro 12. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del tercer bioensayo	41
Cuadro 13. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del cuarto bioensayo	42
Cuadro 14. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del cuarto bioensayo	43
Cuadro 15. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del quinto bioensayo	44
Cuadro 16. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del quinto bioensayo	44
Cuadro 17. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del sexto bioensayo	45
Cuadro 18. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del sexto bioensayo	45
Cuadro 19. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del séptimo bioensayo	46
Cuadro 20. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del séptimo bioensayo	47
Cuadro 21. Análisis de varianza del $\arcsen \sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del octavo bioensayo	48

Cuadro 22. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del octavo bioensayo.....	48
Cuadro 23. Porcentaje de parasitismo promedio para los tratamientos de los bioensayos 2-8	49
Cuadro 24: Comprobación los supuestos: los residuos tienen una media igual a cero, una distribución normal y varianzas homogéneas.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Colocación de las microjaulas en el envés de las hojas de frijol.....	27
Figura 2. Diseño de la caja de bioensayo.....	28
Figura 3. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. después de 14 días de aplicados, primer bioensayo.....	37
Figura 4. Porcentajes de mortalidad por nueve aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. después de 14 días de aplicados, segundo bioensayo.....	39
Figura 5. Porcentajes de mortalidad por 4 aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. y uno de <i>P.fumosoroseus</i> después de 14 días de aplicados, tercer bioensayo.....	40
Figura 6. Porcentajes de mortalidad por seis aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. después de 14 días de aplicados, cuarto bioensayo.....	42
Figura 7. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. y 4 de <i>M.anisopliae</i> después de 14 días de aplicados, quinto bioensayo.....	43
Figura 8. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de <i>Beauveria</i> sp., uno de <i>M. flavoviride</i> , dos de <i>M.anisopliae</i> y uno de <i>Paecilomyces</i> sp. después de 14 días de aplicados, sexto bioensayo.....	45
Figura 9. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de <i>Beauveria</i> sp. y dos de <i>M.anisopliae</i> después de 14 días de aplicados, séptimo bioensayo.....	46
Figura 10. Porcentajes de mortalidad por dos aislamientos de <i>M.anisopliae</i> y uno de <i>B.brongniarti</i> después de 14 días de aplicados, octavo bioensayo.....	

I. INTRODUCCION

La mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), (Homoptera: Aleyrodidae) es una de las plagas de mayor importancia en América Central y el Caribe, en donde ha causado cuantiosas pérdidas en tomate, algodón, frijol, plantas ornamentales, por daño directo e indirecto, particularmente por transmisión de virus (Hilje y Arboleda 1993), al punto de convertirlos en actividades poco rentables en ciertas regiones (Hilje, 1993).

Tradicionalmente esta plaga se ha combatido con insecticidas sintéticos, sin embargo debido a su amplio ámbito de hospedantes, corto ciclo de vida, gran plasticidad genética y a características morfológicas particulares (capa cerosa) puede adquirir rápidamente resistencia (Osborne y Landa 1992) por lo que esta estrategia de manejo no ha sido eficiente.

La búsqueda de opciones de combate es una prioridad en la investigación agrícola de las regiones afectadas por esta plaga, entre las cuales el combate biológico es de primordial importancia. Dentro de un amplio espectro de agentes biocontroladores se encuentran los hongos entomopatógenos (Alves 1986; Hall 1982; Hall 1993; Osborne y Landa 1992; Quinlan 1988; Roberts 1989), cuya utilización en el combate de la mosca blanca ha sido poco documentada, particularmente en América Central.

A. Objetivo General

Evaluar la patogenicidad y virulencia de hongos entomopatógenos para determinar cuales son promisorios para el combate de *B. tabaci*

B. Objetivos específicos

- Recolectar en el campo hongos entomopatógenos de *B. tabaci*.
- Caracterizar los hongos disponibles en la colección del CATIE en base a su virulencia sobre *B. tabaci*.
- Afinar una metodología de bioensayos de *B. tabaci* con hongos entomopatógenos.

C. Hipótesis

- Existen hongos promisorios para el combate de *B. tabaci*.
- No todas las especies de hongos entomopatógenos tienen patogenicidad y virulencia similares en *B. tabaci*.
- No todos los aislamientos de una misma especie de hongo entomopatógeno tienen patogenicidad y virulencia similares en *B. tabaci*.

II. REVISION DE LITERATURA

A. *Bemisia tabaci*

A.1 Biología de *B.tabaci*

B. tabaci es un insecto hemimetábolo con aparato bucal perforador-chupador (Byrne y Bellows 1991) conocido comúnmente con el nombre de mosca blanca (CATIE 1990), nombre que incluye aproximadamente a 1200 especies en el mundo y un estimado de 200 en América Central (Caballero 1994).

La hembra oviposita de 48 a 394 huevos ovalados, de unos 0.2 mm de largo durante su vida, individualmente o en grupos pequeños en el envés de la hoja (Byrne y Bellows 1991; López-Avila 1986). El período de incubación varía entre 3 y 29 días (López-Avila 1986).

B. tabaci pasa por cuatro instares ninfales (Byrne y Bellows 1991; López-Avila 1986). La ninfa de primer instar tiene patas funcionales que le permiten desplazarse a sitios en donde pueden punzar el floema con su estilete para luego permanecer sésiles hasta alcanzar el estado adulto. Este instar dura de 2,8 a 9 días (López-Avila 1986). Durante el segundo y tercer instar las ninfas se desarrollan y crecen (hasta 0,36 y 0,49 mm de largo respectivamente) sin tener importantes cambios morfológicos. La duración de estos estadios es de 2,8 a 14 días y de 2 a 7 días respectivamente (López-Avila 1986). Algunos autores consideran el cuarto estadio como una pupa debido a sus cambios morfológicos y de comportamiento (López-Avila 1986), sin embargo otros lo consideran como una pseudopupa debido a que al inicio de este estadio el insecto continúa alimentándose y además no forma una cápsula pupal (Gill 1990).

El adulto tiene dos pares de alas recubiertas de una cera blanca. Los machos miden unos 0,85 mm de largo con una envergadura de 1,81 mm y la hembra mide 0,96 mm de largo con 1,30

mm de envergadura (López-Avila 1986). La longevidad de los adultos varía de 2 a 60 días siendo las hembras las más longevas. Los adultos pueden reproducirse sexual o partenogenicamente por arrenotoquia (Byrne y Bellows 1991) y comienzan a ovipositar a partir de las primeras 24 h después de la emergencia (López-Avila 1986).

Los adultos se dispersan a pequeñas distancias en la misma planta o dentro de un cultivo al volar bajo el dosel (van Lenteren y Noldus 1990) y a grandes distancias al ser arrastrados por el viento (Cock 1986; van Lenteren y Noldus 1990).

B. tabaci es una especie multivoltina y la ausencia de diferencias estacionales drásticas en los trópicos permite el traslape de generaciones (Byrne y Bellows 1991; Hilje 1994). Sin embargo la estacionalidad en los trópicos, debida a variaciones en la precipitación (Janzen, 1983), sí afecta a *B. tabaci*. Se ha visto que las poblaciones alcanzan su pico máximo durante la temporada seca y que son dramáticamente disminuidas con las lluvias (Cock 1986; Hilje *et al.* 1993a).

La duración de los instares y del ciclo de vida completo varía en función de la temperatura, la humedad relativa y del hospedante (López-Avila 1986). Las temperaturas altas acortan la duración del ciclo de vida de *B. tabaci* aumentando su tasa reproductiva y su densidad poblacional (Hilje *et al.* 1993a).

A.2. Importancia económica de *B. tabaci*

Se desconoce con certeza el origen de *B. tabaci* (Byrne y Bellows, 1991). Hidalgo *et al.* (citado por López-Avila 1986) sugiere que viene del Africa mientras que Mound (citado por López-Avila 1986) ubica su origen en la región Oriental desde donde habría sido introducida a América y Africa por el hombre. *B. tabaci* fue descrita por primera vez en Grecia hace más de cien años (López-Avila 1986). En El Salvador se encontró por primera vez en algodón en 1961 reportándose en el resto de América Central entre 1964 y 1970 (CATIE 1990). *B. tabaci* es considerada como una plaga primaria a partir de los ochenta en parte debido al desarrollo de

resistencia a insecticidas sintéticos, a la expansión de monocultivos y al uso de cultivares mejorados (Brown 1993; CATIE 1990).

B. tabaci es cosmopolita y muy polífaga. Greathead (1986) lista más de 500 especies de plantas hospedantes pertenecientes a 74 familias. Caballero (1993) reporta 84 especies de hospedantes en 29 familias para las moscas blancas (no solamente para *B. tabaci*) para América Central y Colombia. Esta plaga ataca muchos cultivos alimentarios, ornamentales y de fibras.

Se pueden distinguir dos tipos de daño: el directo y el indirecto (López-Avila y Cock 1986). El daño directo consiste en lesiones al tejido vegetal por efecto de la alimentación y/u oviposición. Altas poblaciones de la mosca provocan alteraciones fisiológicas, enrollamiento y marchitez del follaje y daño a las estructuras reproductivas que eventualmente conducen a una disminución del rendimiento, a un daño cosmético y a cuantiosas pérdidas económicas (López-Avila y Cock, 1986). Mound (1965) reportó una gran disminución del rendimiento del algodón en Sudán debido al daño directo de *B. tabaci*

Existen varios tipos de daño indirecto causado por *B. tabaci*, uno es la secreción de mielecilla por el ano de las ninfas que causa el crecimiento de fumaginas sobre el follaje que interfieren con la fotosíntesis (López-Avila y Cock 1986). Este daño es el mayor problema causado por *B. tabaci* en algodón (Horowitz *et al.* 1984). Otro tipo de daño indirecto consiste en la transmisión de geminivirus asociados a *B. tabaci* (Brown 1993; CATIE 1990; Lastra, 1993; López-Avila y Cock 1986) y de otros fitovirus (Morales 1993). Brunt (1986) reporta que el adulto de este insecto es vector de 19 virus conocidos. Ramírez y Maxwell (1995) reportan 14 geminivirus transmitidos por moscas blancas que han sido clonados y secuenciados.

La relación virus-vector es del tipo persistente-circulativo. Cuando el vector se alimenta durante por lo menos 4 h de hospedantes infectados adquiere el virus que circula dentro de su cuerpo. Después de 4-20 h de latencia la mosca puede transmitir el virus a plantas sanas intermitentemente durante 10 a 20 días (Lastra 1993).

En América Central se han reportado grandes pérdidas por estos virus en frijol, tomate (Caballero y Rueda 1993; CNMB, 1993; Dardón, 1993; Hilje *et al.* 1993b; Serrano *et al.* 1993). Las pérdidas por geminivirus en tomate pueden alcanzar el 100% cuando la infección se presenta en los primeros 50 días (Lastra 1993). En el valle de Sébaco, Nicaragua, las pérdidas por geminivirus en tomate fueron de 20 a 100%, con una reducción hasta el 60% del área de producción en 1990-91 (CNMB 1993). En República Dominicana las pérdidas, por daño directo e indirecto, en tomate y melón sobrepasaron los US\$ 10 millones en 1988 (Alvarez *et al.* 1993). En algodón transmite el virus del mosaico rizado y el de la clorosis infecciosa del algodón (Dardón 1993; López-Avila y Cock 1986; Serrano *et al.* 1993). También se han reportado virus transmitidos por *B. tabaci* en yuca (*Manihot esculenta*), caupí (*Vigna unguilata*), camote (*Ipomoea batatas*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*) (López-Avila y Cock 1986).

A.3. Biotipos de *B. tabaci*

De acuerdo a su ubicación geográfica, a los hospedantes que atacan, a características morfológicas y a esterasas marcadoras se han distinguido varias razas de *B. tabaci* (Brown 1993; Bedford *et al.* 1994). Hasta 1992 se habían reportado en América Central los biotipos B, C, D y F (Brown 1993, Brown *et al.* 1995). Debido a la gran similitud morfológica (Bethke *et al.* 1991) el término *B. tabaci* muchas veces comprende un complejo de razas o, según ciertos autores, un complejo de especies (Bellows *et al.* 1994; Perring *et al.* 1993).

El biotipo B de *B. tabaci* se caracteriza por una mayor fecundidad (Bethke *et al.* 1991) que le confiere la capacidad de desplazar poblaciones previamente establecidas de otros biotipos, lo que eventualmente podría producir cambios en la epidemiología de los virus que transmiten (Cohen *et al.* 1992). Esta raza produce una o varias toxinas que provocan en los hospedantes síntomas que le son particulares (Bedford *et al.* 1994; Brown *et al.* 1992a; Cohen *et al.* 1992; Costa *et al.* 1993; Yokomi *et al.* 1990). Algunos de estos desórdenes son: hoja plateada, venación

clara, disminución del rendimiento y calidad de fruto de la calabaza (Cohen *et al.* 1992; Hoelmer *et al.* 1991; Yokomi *et al.* 1990; Brown *et al.* 1992a), reducción del crecimiento, distorsión, amarillamiento, tallo y venas centrales blancas en lechuga (Costa *et al.* 1993), brócoli y coliflor (Brown y Costa 1992), puntos cloróticos y deformación de plantas ornamentales (Yokomi *et al.* 1990) maduración irregular del tomate (Hoelmer *et al.* 1991) .

El B es el más voraz y el mayor productor de mielecilla de todos los biotipos de *B. tabaci* (Byrne y Miller 1990) El daño directo, el crecimiento de fumaginas y las pérdidas por daños cosméticos y/o por la reducción del área fotosintética son más importantes para esta raza (López-Avila y Cock, 1986; Horowitz *et al.* 1984). Finalmente este biotipo es el que tiene el mayor ámbito de hospedantes (Burban *et al.* 1992). Todas estas características hacen que el biotipo B sea el de mayor importancia económica.

Estudios genéticos, de comportamiento reproductivo, moleculares y morfológicos han llevado a algunos autores a considerar al biotipo B de *B. tabaci* como una especie diferente, *B. argentifoli* (Bellows *et al.* 1994). Observaciones del comportamiento copulatorio mostraron que el biotipo B no fue capaz de copular y tener prole con los demás biotipos (Bellows *et al.* 1994; Bedford *et al.* 1994). Sin embargo la descripción de esta nueva especie es cuestionable debido a la gran variabilidad que existe entre las diferentes poblaciones de *B. tabaci*, a la falta de diferencias para considerar al biotipo B como una nueva especie y a que el biotipo B sí fue capaz de copular y tener progenie con otros biotipos (Barlett y Gawel 1993; Brown *et al.* 1995; Campbell *et al.* 1993).

A.4. Combate convencional de *B. tabaci*

Tradicionalmente se ha controlado esta plaga con insecticidas sintéticos muchas veces de manera irracional y con costos muy altos (Morales 1993; Salguero 1993). En Guatemala se han hecho hasta 50 aplicaciones en un ciclo de algodón, de las cuales 50% eran dirigidas a la mosca blanca, y se han utilizado 24 insecticidas sintéticos sobre cinco cultivos (Dardón 1993). Por su

gran plasticidad genética y su corto ciclo de vida *B. tabaci* es capaz de desarrollar resistencia a los insecticidas sintéticos (Dittrich *et al.* 1990) por lo que las estrategias de manejo basadas en su uso unilateral generalmente fracasan en el combate del daño directo e indirecto.

A pesar de que los insecticidas no permiten la exclusión de *B. tabaci* ni evitan la diseminación de la virosis, pueden reducir la población de esta plaga (Hilje, 1993) por lo que, manejados racionalmente, son una herramienta útil para su combate (Matthews 1986; Salguero y Morales 1994). El conocimiento de la biología de *B. tabaci*, la mezcla (Prabhaker *et al.* 1996b) y rotación (Natwick, 1996a) de insecticidas con diferentes modos de acción, métodos de aplicación y formulaciones adecuadas, aumentan la eficiencia del control químico y minimizan el desarrollo de resistencia y el impacto ambiental (Matthews 1986; Salguero, 1993; Salguero y Morales 1994).

Entre los insecticidas sintéticos que se han utilizado exitosamente contra *B. tabaci* están: pyriproxyfen (Ansolabehere, 1996) y buprofezin (Chalfant 1994; Lublinkhof y Odom 1996), bifenthrin (Chalfant 1994), fenpropathrin (Ishaaya *et al.* 1986), amitraz (Chalfant, 1994), imidacloprid (Chalfant, 1994; Natwick y Mayberry 1996) y endosulfan (Chalfant, 1994). Sin embargo se ha reportado resistencia de *B. tabaci* a fenopopathrin solo (Latheef y Wolfenbarger, 1996) o mezclado con acephate (Dennehy *et al.* 1996; Latheef y Wolfenbarger 1996), endosulfan (Castle *et al.* 1996), methyl parathion, metamidophos (Martinez-Carrillo, 1996) y bifenthrin (Prabhaker *et al.*, 1996a).

A.5 Otras opciones de combate de *B. tabaci*

Se han buscado opciones no químicas para el combate de *B. tabaci*. Una de ellas es el combate biológico que se basa en el uso de depredadores, parasitoides y patógenos. Cave (1994) lista 10 especies de parasitoides de *B. tabaci* reportadas para América Central (*Encarsia desantisi*, *E. formosa*, *E. hispida*, *E. nigricephala*, *E. pergandiella*, *E. porteri*, *E. quaintancei*, *E. stenua*,

Erectmocerus sp., *Amitus* sp.) de los cuales *E. formosa* y *E. luteola* están disponibles comercialmente para el combate de *B. tabaci* en invernadero (UCIPM 1995).

Se han reportado 30 especies de depredadores, coleópteros, dípteros, hemípteros, neurópteros y ácaros, de *B. tabaci* (Gerling, 1990) siendo *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae) en de mayor potencial en América Central (Cave 1994). Generalmente los parasitoides son más eficientes a densidades bajas mientras que los depredadores son menos eficientes en la búsqueda y tienen mayor efecto cuando la densidad de la presa es alta (Riley y Sparks 1993).

Dentro del espectro de agentes microbianos que pueden ser utilizados para el combate de las moscas blancas se ha considerado principalmente a los hongos (De Barro 1995; Gerling 1992; UCIPM 1995). Los hongos son los patógenos más promisorios ya que son los únicos que tienen la capacidad de atravesar la cutícula del insecto por lo que la infección puede ocurrir independientemente de su modo de alimentación (Ferron 1978; Hall 1993).

B. Hongos entomopatógenos

B.1. Generalidades y modo de acción

Cerca del 80% de las enfermedades de los insectos son provocadas por unas 700 especies de hongos pertenecientes a 90 géneros (Alves 1986) repartidos entre todos los grupos taxonómicos de hongos (Ferron 1978). Los géneros más estudiados han sido *Verticillium*, *Aschersonia*, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea* y *Entomophthora* (Alves 1986; Quinlan 1988). Muchos de estos hongos provocan epizootias en el campo y son un mecanismo regulador de las poblaciones de insectos en ecosistemas naturales.

La adhesión de la espora al hospedante es no-específica para la mayoría de los Deuteromycetes (Charnley, 1994). Sin embargo para *Metarhizium anisopliae* la adhesión de la

espora en escarabajos ha sido correlacionada con su especificidad (Fargues *et al.* 1976; Fargues y Robert 1983).

Al presentarse condiciones de temperatura y humedad adecuadas se forma un tubo germinativo. Landa *et al.* (1994) sugieren que la germinación de las esporas y la orientación de los tubos germinativos son influenciados químicamente por la presencia de ninfas de *B. argentifolii*.

La formación de un apresorio, por engrosamiento de las extremidades del tubo germinativo, y la posterior infección también está mediada por señales químicas del hospedante (Leger *et al.* 1995). Cuando el hongo reconoce a un hospedante “compatible” se forma el apresorio que permite la penetración (Leger *et al.* 1995). La formación del apresorio es influenciada por la hidrofobicidad y la topografía de la superficie del hospedante (Charnley, 1994).

La penetración ocurre por procesos físicos, cuando las hifas rompen mecánicamente las membranas, y/o químicos, al secretar enzimas proteolíticas que facilitan la penetración mecánica (Charnley, 1994; Tanada y Kaya 1993). Algunos hongos forman un gancho de penetración que atraviesa la cutícula del insecto (Alves, 1986). Las áreas de penetración más frecuentes son la región bucal, el ano y las regiones intersegmentales (Alves 1986) en donde la cutícula no está esclerotizada (Charnley, 1994). Ciertas especies de hongos también pueden penetrar por ingestión (Alves 1986; Ferron 1978; Roberts 1989).

El insecto puede responder a la micosis mediante un proceso de melanización por acumulación de los plasmocitos normalmente dispersos en su hemolinfa (Ferron 1978). La hemolinfa de los insectos posee lectinas de enlace que reconocen al hongo y son mediadoras de la fagocitosis (Boucias y Pendland, 1995). Esta respuesta varía con la virulencia y producción de toxinas del hongo y con la susceptibilidad del hospedante (Ferron 1978).

La invasión de los tejidos del insecto ocurre en 76 a 120 h y la muerte se debe a la producción de micotoxinas y a los daños mecánicos producidos por el crecimiento del micelio (Alves

1986; Ferron 1978; Roberts 1981; Roberts 1989; Tanada y Kaya 1993;) Toxinas como las destruxinas A, B y C y la desmetildestruxina B (depsipéptidas cíclicas) fueron aisladas de *Metarhizium anisopliae* (Roberts 1981). Se aislaron las destruxinas A4 y A5 y la homodestruxina B de *Aschersonia* sp. (Krasnoff, *et al.* 1995). Las destruxinas A,B y E extraídas de *M. anisopliae* produjeron una mortalidad del 80% en adultos de *Bemisia argentifoli* (Davidson *et al.* 1995). La beauvericina ha sido aislada de *Beauveria* sp., *B. brongniartii* y *Paecilomyces fumosoroseus*; y la cordicepina de *Cordiceps militaris* (Ferron 1978). Estas toxinas han sido asociadas con la supresión de las defensas celulares de los insectos (Boucias y Pendland, 1995).

Los hongos también secretan sustancias bactericidas que momifican al hospedante permitiendo su crecimiento después de muerto el insecto (Alves 1986; Ferron 1978). En *Beauveria* se ha encontrado oosperina, un pigmento bactericida que le da una coloración rojiza a los cadáveres de sus hospedantes (Ferron 1978; Roberts 1981) y característica de las infecciones de este hongo en ninfas de moscas blancas (Steve Wraight 1995, USDA com.pers.)

En las 48 a 60 h posteriores a la muerte del insecto hay emergencia de hifas a través de los espiráculos y de las regiones intersegmentarias. Algunas cepas de hongos pueden formar conidios sobre la superficie del cadáver cuando las condiciones de temperatura y humedad relativa lo permiten (Alves 1986; Ferron, 1978; Roberts 1989).

B.2. Epizootiología de las micosis en moscas blancas

Epizootiología es el estudio de todos los factores y condiciones que afectan la dinámica de las enfermedades en poblaciones animales (Alves 1986; Onstad y Carruthers 1990; Tanada, Kaya 1993). Los factores involucrados en el desarrollo de la enfermedad pueden ser bióticos o abióticos.

B.2.1. Factores bióticos asociados al hospedante

La susceptibilidad de un insecto al ataque de un hongo entomopatógeno está sujeta a su hábitat, densidad, comportamiento, morfología y fisiología. Los hongos entomopatógenos carecen de capacidad de búsqueda por lo que es muy importante considerar el hábitat del hospedante (Alves 1986; Fuxa 1987). Un insecto volador como *B. tabaci* que se alimenta sobre la superficie de una hoja tiene pocas probabilidades de ser infectada por hongos entomopatógenos que pasan gran parte de su ciclo de vida en el suelo como saprófitos como *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp (Prior 1992).

Los entomopatógenos son denso-dependientes imperfectos ya que no forzosamente causan epizootias con densidades altas del hospedante, pero si necesitan cierta densidad de hospedantes para mantener la infección (Fuxa 1987).

El gregarismo y la capacidad de dispersión son condiciones que afectan la relación hongo/hospedante. La agregación del insecto determina en gran medida el contagio que puede existir entre “vecinos” (Fuxa 1987). El gregarismo de *B. tabaci* facilita la dispersión de la enfermedad por contacto con inóculo secundario (Hall 1982; Osborne y Landa 1992) aunque existen casos en que se ha reportado lo contrario (Kanagaratman *et al.* 1982). La movilidad de un insecto puede afectar la probabilidad de contacto con el inóculo del patógeno. En insectos móviles se aumenta la dispersión del inóculo secundario (Fuxa 1987). Se ha visto que el adulto de *Trialeurodes vaporariorum* puede acarear inóculo de *Verticillium lecanii* y causar micosis en ninfas a las que no se les aplicó este hongo (Hall 1982).

La penetración de hongos entomopatógenos a través del integumento es afectada por su composición. La capa cerosa que cubre a las ninfas de moscas blancas es una barrera mecánica a la penetración de los hongos (Osborne y Landa 1992).

Finalmente el estado fisiológico del insecto afecta su susceptibilidad a patógenos. En moscas blanca Osborne y Landa (1992) reportan que los instares ninfales, especialmente el primero, segundo y tercero son los más susceptibles a *A. aleyrodis*. Se ha visto que el estado de salud de una población de insectos también puede afectar la virulencia de un patógeno. La aplicación de una dosis subletal de insecticida junto a un patógeno podría tener un efecto sinérgico y favorecer el combate de la plaga (Ferron 1978). El proceso de ecdisis puede funcionar como un mecanismo de defensa ya que las esporas pueden quedar adheridas a la exuvia y no afectar la mosca blanca recién mudada (Fargues 1972).

B.2.2. Factores bióticos asociados al patógeno

La capacidad de un patógeno para producir una epizootia dependen de su patogenicidad, virulencia, capacidad reproductiva, capacidad de supervivencia y de dispersión del inóculo (Alves 1986).

Patogenicidad se define como la capacidad de un organismo para causar una enfermedad (Alvés 1986; Tanada, Kaya 1993) y la virulencia es una medida del poder del patógeno para matar a su hospedero (Tanada, Kaya 1993) o para romper su resistencia específica (Alvés 1986). La patogenicidad es una característica cualitativa de un género o una especie mientras que la virulencia es una medida cuantitativa de la capacidad infectiva de un patógeno (Prior, 1992) por lo que pueden existir aislamientos avirulentos de especies patogénicas (Prior 1992).

La patogenicidad y virulencia de los hongos entomopatógenos varía entre especies (Alvés 1986), entre diferentes aislamientos de la misma especie (Hall 1982) y, para un mismo aislamiento, entre hospederos (Hall 1982).

La capacidad reproductiva de un hongo entomopatógeno varía con la especie, el aislamiento y las condiciones en que se lleva a cabo la infección (Alves 1986). Para que un hongo

entomopatógeno cause una epizootia naturalmente debe de tener una alta capacidad reproductiva que favorezca la dispersión del inóculo (Alves 1986; Hall 1982). Existe una correlación positiva entre el número de esporas en contacto con un insecto y su mortalidad por micosis (Ferron 1978).

Finalmente la capacidad de sobrevivencia de las esporas de los hongos entomopatógenos determina la persistencia del inóculo en el campo y la virulencia del mismo (Alves 1986). La longevidad de las esporas depende en gran medida de la humedad relativa, siendo más longevas en condiciones de baja humedad (Alves 1986; Ferron 1978).

B.2.3. Factores abióticos

Los factores abióticos que influyen sobre una epizootia pueden ser de dos tipos: climáticos y no climáticos (Alves 1986). Entre los factores climáticos los más importantes son la humedad relativa y la temperatura (Ferron 1978; Osborne y Landa 1992)

Los hongos entomopatógenos pueden desarrollarse dentro de un ámbito de temperaturas de 5 a 35°C (Ferron 1978; Osborne y Landa 1992), pero la óptima varía según la especie, el aislamiento y su origen geográfico (Alves 1986; Ferron 1978). Las temperaturas óptimas para el desarrollo de *V. lecanii*, *P. fumosoroseus*, *B. bassiana* y *Manisopliae* son 24, 28, 22-26 y 24-30°C respectivamente (Alves 1986; Hall *et al.* 1994).

La temperatura óptima para el desarrollo del hongo no es necesariamente la óptima para la actividad enzimática y el desarrollo de la enfermedad en el insecto (Ferron 1978).

La humedad relativa, a nivel microclimático tiene más influencia sobre la espora del hongo que el macroclima (Alves 1986; Fransen 1987) y es probablemente el factor climático más limitante en la infección de insectos por hongos (Fuxa 1987; Osborne y Landa 1992).

La germinación de conidias generalmente requiere una humedad relativa de 95-100% durante 12 a 24h para permitir la formación de tubos germinativos y la penetración del insecto (Osborne y Landa 1992). La germinación de esporas de *Aschersonia aleyrodis* es limitada a humedades relativas menores al 98% e imposibilitada cuando son menores al 90% (Osborne y Landa 1992).

Los resultados de una evaluación del efecto de *A. aleyrodis* sobre ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* sugieren que las micro-condiciones de humedad relativa entre la superficie de la hoja y el insecto son adecuadas para el desarrollo de una micosis aunque las macro-condiciones de humedad sean bajas (Fransen 1987).

Una vez que el hongo ha penetrado al insecto, la humedad dentro del insecto afectará el desarrollo del hongo. La humedad también es un limitante en la fase de conidiogénesis y por lo tanto en la dispersión de inóculo secundario (Osborne y Landa 1992). Se ha reportado que *B.bassiana*, *V. lecanii* y *P.fumosoroseus* necesitan una humedad relativa de 95-100% para esporular normalmente (Osborne y Landa 1992).

Factores abióticos no climáticos como la aplicación de plaguicidas también pueden afectar el desarrollo de micosis. Pruebas de laboratorio y de campo demostraron que algunos fungicidas (para combate de hongos fitopatógenos) y los insecticidas inhiben el desarrollo de los hongos entomopatógenos (Clark *et al.* 1982).

B.3. Hongos patógenos de *B. tabaci*

Los hongos entomopatógenos de las moscas blancas pueden ser específicos y generalistas. El grupo Aleyrodiicolae, de la Clase Deuteromycota, es específico de la familia Aleyrodidae y en él se encuentra el género *Aschersonia* (Mains, 1959; Osborne y Landa 1992). En la naturaleza *A. aleyrodis* es un factor de mortalidad de varias especies de mosca blanca incluyendo *B. tabaci*

(Osborne y Landa 1992) atacando únicamente a las ninfas (Gerling 1992) y es promisoría para el control de *T. vaporariorum* y *B. argentifolii* (Meekes y Fransen 1995). Una ventaja de utilizar un hongo específico es que se puede integrar el manejo de estos con el de depredadores y parasitoides sin que estos sean afectados por el hongo (Fransen 1995; Meekes y Fransen, 1995).

También se han estudiado hongos más generalistas. Este es el caso de *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces* spp., *Beauveria* sp. que han sido encontrados en la naturaleza atacando moscas blancas (Hall 1982; Hall *et al.* 1994; Osborne y Landa 1992). *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. son hongos del suelo en donde permanecen en dormancia hasta entrar en contacto con un hospedante (Prior, 1992) por lo que es raro encontrarlos atacando insectos voladores como *B. tabaci*. Estos hongos, aislados del suelo con trampas especiales (Zimmermann 1986), se han usado con éxito en el combate de *B. tabaci* en invernaderos, laboratorios y en cultivos en el campo protegidos con mallas (Cherkasov 1986; Meade y Byrne 1991; Nier *et al.* 1991; Osborne y Landa 1992) en donde es más fácil controlar las condiciones que favorecen una epizootia (van Lenteren y Woets 1988). En el campo los agroecosistemas mucho más complejos limitan el uso de hongos entomopatógenos. Asiático y Zoebisch (1992) reportan que el uso de Mycotol (*V. lecanii*), como única táctica de combate, no tuvo efecto sobre la diseminación de geminivirus en tomate pero sí redujo significativamente las poblaciones de *B. tabaci*.

Los hongos generalistas tienen la ventaja de atacar a todos los estadios de las moscas blancas (Osborne y Landa 1992). Estos hongos pueden atacar a parasitoides y depredadores debido a su falta de especificidad (Poprawski *et al.* 1995). La aplicación de Mycotrol (fórmula comercial de la cepa GHA de *B. bassiana*) reduce las poblaciones de *B. tabaci* y de sus parasitoides ya que puede causar micosis en *Eretmocerus* sp (Simmons *et al.* 1996). Sin embargo la reducción del porcentaje de parasitismo al aplicar un hongo entomopatógeno muchas veces es leve (Jones y Poprawski 1996; Jones y Wraight, 1996).

Los parasitoides de *B. tabaci* afectan el desarrollo de la micosis. Estudios microscópicos sugieren que hifas de *B. bassiana*, dentro de las ninfas de *B. tabaci*, fueron muertas como

consecuencia del parasitismo de *Eretmocerus* sp. (Jones y Poprawsky, 1996). Además *B. bassiana* (cepa GHA de Mycotech) no infecta ninfas de *B. tabaci* parasitadas por *Eretmocerus* sp. (Jones, y Poprawski 1996).

C. Consideraciones para el combate de *B. tabaci* con entomopatógenos

C.1. Objetivos del combate

Antes de la aplicación de cualquier medida de combate hay que considerar las condiciones del cultivo y el objetivo del combate.

El uso de una táctica única para evitar la transmisión de virus generalmente falla. En tomate una población muy baja de *B. tabaci* es suficiente para infectar de virus a toda una plantación por lo que el objetivo del combate es la exclusión del vector (Hilje, 1993). Esta exclusión es muy difícil de cumplir por la aparición de resistencia e inmigración de adultos desde zonas aledañas al cultivo lo que explica en parte el fracaso de la aplicación unilateral de insecticidas para el combate del virus. En este escenario las tácticas de control biológico también tienen un potencial muy limitado (Shannon, 1995).

Una táctica más razonable sería la integración de medidas insecticidas, de interferencia (barreras mecánicas), de repelencia (aceites e insecticidas) y de distracción (coberturas, otros cultivos y malezas) (Hilje 1993). En este contexto podría utilizarse el combate con hongos entomopatógenos como un componente más de este manejo integrado (Riley y Sparks 1993; Shannon 1995).

Para el combate del daño directo y del crecimiento de fumaginas causados por *B. tabaci* sería suficiente reducir las poblaciones a densidades tolerables por la planta. En este caso la estrategia de combate es menos compleja y se puede tener éxito usando una o pocas medidas de combate. La aplicación de hongos entomopatógenos tiene un alto potencial para la reducción de

estos daños (Shannon, 1995). El tratamiento de plantas de pepino infestadas de *Trialeurodes vaporariorum* con *Verticillium lecanii* redujo la secreción de mielecilla y evitó el crecimiento de fumaginas (Kanagaratnam *et al.* 1982).

C.2. Estrategias para la aplicación

Existen varias estrategias para la aplicación de patógenos en el campo: introducción y establecimiento (en donde el patógeno no existía previamente), aumento inoculativo (cuando el patógeno es capaz de perpetuarse por si mismo) y la manipulación del ambiente que incluye las medidas que mejoran las condiciones para que ocurra la infección (Fuxa 1987). La estrategia de aumento inoculativo se ha usado con los hongos *Verticillium lecanii*, *Hirsutella thompsonii* y *Nomuraea rileyi* (Fuxa 1987). Estas estrategias no pueden usarse en sistemas muy perturbados, como lo son muchos de los agroecosistemas afectados por *B. tabaci* (por ejemplo tomate, chile, algodón, melón, etc.) En estos casos es más adecuada una estrategia de aumento inundativo en donde el patógeno es aplicado masivamente como un “insecticida biológico” para mantener las poblaciones bajo un umbral de daño. Las liberaciones masivas pueden ser una estrategia adecuada cuando se usa un patógeno de rápida acción (el hospedante deja de alimentarse en 24 h o menos) y para patógenos con poca o ninguna capacidad de producir prole. El aumento inundativo se ha usado con algunos hongos como *Beauveria* sp. (Fuxa 1987). Hall (citado por Hilje 1993) sugiere la liberación masiva de hongos entomopatógenos para provocar epizootias en la población de *B. tabaci* en los hospedantes silvestres que se encuentran alrededor de la plantación de tomate, antes y durante el ciclo del cultivo.

III. METODOLOGIA

A. Búsqueda de hongos entomopatógenos de *B. tabaci*

A.1. Metodología de muestreo

Se hizo una búsqueda de moscas blancas, principalmente *B. tabaci*, en cultivos afectados y en la vegetación circundante (malezas y árboles). En bosques naturales se escogieron plantas al azar en busca de ninfas de moscas blancas de cualquier especie. Se recolectaron cadáveres de ninfas atacados por hongos. También se recolectaron hongos cuyo crecimiento impedía distinguir al hospedante pero cuyas dimensiones y posición en el envés de la hoja permitía suponer que se trataba de una escama o de una ninfa de mosca blanca. Las muestras fueron guardadas en frascos plásticos rotulados con la fecha, lugar de recolecta y especie de planta en la que se recolectó. Las muestras fueron transportadas al laboratorio para su aislamiento. Todos los muestreos se hicieron durante la estación lluviosa.

A.2. Regiones muestreadas

Las zonas y fechas muestreadas se presentan a continuación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Zonas de Costa Rica muestreadas en la búsqueda de hongos entomopatógenos de moscas blancas

Provincia,Cantón, Distrito	Cultivos Muestreados	Fecha del Muestreo
CARTAGO,Turrialba, Atirro, La Esperanza	Bosque Natural	5-IV-95
CARTAGO, Turrialba, CATIE	Yuca, cítricos,	III, IV V-95
CARTAGO, Turrialba,Guayabo(Parque Nac.)	Bosque Natural	15-IV-95
CARTAGO, Turrialba,Sta Teresita	Guayaba	XI-94
LIMON, Matina, Fca. Turquesa	Banano	10-VIII-95
GUANACASTE, Carrillo, Filadelfia	Sandía, pipián	20-IV-95
GUANACASTE, Cañas	Yuca, melón, chile dulce,sandia,pipian	19-IV-95
PUNTARENAS,Aguirre, Quepos, M Antonio	Bosque Natural	13-V-95

A.3. Aislamiento de cepas

Para el aislamiento de los hongos se utilizaron varias técnicas. En la primera metodología las ninfas se desinfectaron lavándolas con una solución de NaClO (“los conejos”) al 3.0% durante 20 segundos, se enjuagaron con agua destilada estéril para eliminar los residuos de cloro y se colocaron en una caja de petri con PDA (Difco, 40 g/l l). El segundo método consistió en colocar los cadáveres infectados, o porciones de ellos, directamente en una caja de petri con medio de crecimiento, sin una desinfección previa. En el último método se colocaron muestras en cámara húmeda, que consistió en cajas de petri con papel de filtro mojado en el fondo, para inducir la esporulación del hongo. Una vez esporulado el hongo fue cultivado en medio de crecimiento

Se utilizaron dos medios de cultivo: PDA (Difco) al 4% (p/v) y PDA al 4% con ácido láctico (10 ml ac.láctico(25%)/litro de medio) y estreptomina (0.300 g estreptom./litro de medio) para reducir la contaminación bacterial. Se hicieron transferencias del primer cultivo hasta obtener un cultivo puro.

A.4. Conservación de cepas

Los hongos aislamientos en cultivo puro se conservaron en refrigeración a 5° C (refrigerador doméstico) y/o a -20° C (Congelador Revco, modelo: ULT2140-5-ABA) en cajas de petri y/o viales de 33 ml con PDA

B. Metodología para la evaluación de hongos entomopatógenos

B.1. Hongos utilizados en los bioensayos

Se utilizaron los hongos recolectados en moscas blancas en el campo además de los aislamientos de *Beauveria* sp, *Metarhizium anisopliae* y *M. flavoviride* disponibles en la colección del CATIE, que fueron recolectados en el suelo usando larvas de *Galeria melonella* y *Metamasius hemipterus* (Zimmermann, 1986). Inicialmente las cepas de la colección CATIE/Costa Rica a evaluar se escogieron al azar (Bioensayo 1-5), suponiendo que la mayoría de ellas sería muy virulenta en ninfas de *B. tabaci*. Al no obtener los porcentajes de mortalidad esperados se evaluaron cepas que han demostrado ser virulentas contra *Phyllophaga* spp. (Bioensayo 6-8) (Shannon *et al* 1993; Philip Shannon 1995 CATIE, com pers.)

También se utilizaron cepas de *Beauveria* sp. y *M. anisopliae* provenientes del CATIE/Nicaragua y dos cepas élite, una de *B. bassiana* (GHA) y una de *Paecilomyces fumosoroseus* (613). Todas estas cepas tienen una virulencia comprobada en varios insectos (CATIE/INTA/MIP 1994; Tadeuz Poprawski 1995 USDA, com. pers.). La cepa GHA de *B.*

bassiana esta disponible comercialmente bajo la marca Mycotrol para el combate de *B. tabaci* (Simmons *et al.* 1995). Las cepas utilizadas y su origen se enumeran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Hongos entomopatógenos y sus respectivos hospedantes, procedencias y colecciones de origen, utilizados en bioensayos contra *B. tabaci*

# del bioensayo	Trata.	Código de la cepa	Especie	Colectado en	Procedencia ¹	Colección
1	1	BHG	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Metamasius</i> /suelo	Barra Onda, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	2	27-IDR	<i>Beauveria</i> sp.	Hemiptera	Esperanza, Turrialba	CATIE/C.Rica
	3	G-Río Pte	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Río Puente, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	4	Testigo	-----			
2	1	G-ALA-1	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Alajuela	CATIE/C.Rica
	2	G-GTE-3	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Puerto Moreno, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	3	ESP-26	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Esparza, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	4	G-CBR	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Cotobrus, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	5	C-CER-1	<i>Beauveria</i> sp.	Curculionidae/suelo	Cervantes, Cartago	CATIE/C.Rica
	6	G-BSG-16	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Belén Sur, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	7	0-195	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Oriente, Pejiballe, Turrialba	CATIE/C.Rica
	8	P-0085	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Phyllophaga obsoleta</i>	Tierra Blanca, Cartago	CATIE/C.Rica
	9	G-GTE-15	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Belén, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	10	Testigo	-----			
3	1	G-GOL-5	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Golfito, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	2	613	<i>P.fumosoroseus</i>	-----	-----	USDA/E.Unidos
	3	613*	<i>P.fumosoroseus</i>	-----	-----	USDA/E.Unidos
	4	447	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Solenopsis invicta</i>	Cuibá-MS Brasil	CATIE/C.Rica
	5	GHA	<i>B.bassiana</i>	-----	-----	USDA/E.Unidos
	6	GHA*	<i>B.bassiana</i>	-----	-----	USDA/E.Unidos
	7	G-GTE-13	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	La Palmira, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	8	Testigo	-----			
4	1	G-GTE-24	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Sta Elena, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	2	GF-Lajas	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Fca Lajas, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	3	190	<i>Beauveria</i> sp.	-----	-----	CATIE/C.Rica
	4	290	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Anthonomus grandis</i>	Brasil	ESALQ/USP
	5	G-PEJ-2	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Galleria</i> /suelo	Pejiballe, Turrialba	CATIE/C.Rica
	6	G-RGC	<i>Beauveria</i> sp.	-----	-----	CATIE/C.Rica
	7	Testigo	-----			
5	1	4/89	<i>M.anisopliae</i>	-----	Nicaragua	CATIE/Nicaragua
	2	35	<i>B.bassiana</i>	<i>Hypothenemus hampei</i>	Honduras	CATIE/Nicaragua
	3	G-EEE	<i>Beauveria</i> sp.	-----	-----	CATIE/C.Rica
	4	5/89	<i>M.anisopliae</i>	-----	Nicaragua	CATIE/Nicaragua
	5	CB 55	<i>B.bassiana</i>	Insecto	Cuba	CATIE/Nicaragua
	6	NB	<i>M.anisopliae</i>	Lepidoptera	Cuba	CATIE/Nicaragua
	7	Testigo	-----			

Cuadro 2 : continuación

# del bioensayo	Trata.	Código de la cepa	Especie	Colectado en	Procedencia ¹	Colección
6	1	0084	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga obsoleta</i>	Tierra Blanca, Cartago	CATIE/C.Rica
	2	IMI330189	<i>M.flavoviride</i>	<i>Ornithacris cavroisi</i>	Nigeria	CATIE/C.Rica
	3	64/88	<i>M.anisopliae</i>	<i>Hypothenemus hampei</i>	Matagalpa Nicaragua	CATIE/Nicaragua
	4	G-RCP-2	<i>M.anisopliae</i>	<i>Galleria/suelo</i>	Río Cañas, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	5	MB-ST	<i>P.fumosoroseus</i>	Aleyrodidae	Sta Teresita, Turrialba	CATIE/C.Rica
	6	C-ESP-1	<i>Beauveria</i> sp	<i>Galleria/suelo</i>	Esparza, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	7	G-GUA-8	<i>M.anisopliae</i>	<i>Galleria/suelo</i>	Guatuso, San Carlos	CATIE/C.Rica
	8	Testigo	-----			
7	1	C-RIP-2	<i>M.anisopliae</i>	Curculionidae/suelo	Río Puente, Puntarenas	CATIE/C.Rica
	2	38Plut	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Dalbulus maidis</i>	Nicaragua	CATIE/C.Rica
	3	113	<i>Beauveria</i> sp	<i>Hypothenemus hampei</i>	Nicaragua	CATIE/Nicaragua
	4	C-LBD	<i>M.anisopliae</i>	Curculionidae/suelo	L. de Barbadal, Guanacaste	CATIE/C.Rica
	5	Testigo	-----			
8	1	ARE-1	<i>M.anisopliae</i>	<i>Galleria/suelo</i>	Arenal, Alajuela	CATIE/C.Rica
	2	ARE-2	<i>M.anisopliae</i>	<i>Galleria/suelo</i>	Arenal, Alajuela	CATIE/C.Rica
	3	695	<i>B.brongiarti</i>	<i>Metamasius hemipterus</i>	Londrina PR , Brasil	CATIE/C.Rica
	4	Testigo	-----			

* Indica que fue aplicado a una concentración de $1 \cdot 10^8$ conidias/ml, los demás fueron aplicados a $1 \cdot 10^7$ conidias/ml.

¹ Si no se especifica el país es Costa Rica

(Shannon *et al.* 1995; CATIE-INTA/MIP 1994; Eduardo Hidalgo 1995, CATIE, com.pers.)

B.2. Cría de *B. tabaci*

Como fuente de insectos para las pruebas a realizarse se utilizó el criadero de *B. tabaci* del CATIE. Este criadero consiste en un invernadero cerrado con plantas de tomate, frijol y tabaco en donde las densidades de *B. tabaci* biotipo C (Brown *et al.* 1995) son muy altas. Se hicieron introducciones periódicas de plantas de tomate para la alimentación y reproducción de *B. tabaci*.

B.3. Preparación de las suspensiones de esporas

B.3.1. Preparación de las esporas

Los hongos a evaluar se sembraron en cajas de petri con PDA (Difco, 40 g PDA/l agua) y fueron colocados en un incubador a 25°C (LMS, 600A) el tiempo necesario para que esporularan.

B.3.2 Preparación de la suspensión “madre”

Una vez esporulados se raspó la superficie del medio recogiendo únicamente las esporas que se suspendieron en 20 ml de agua destilada esterilizada (ADE) más Tween 80 (1 gota de Tween /50 ml ADE) en un tubo de ensayo (Kimax) de 72 ml con tapadera de rosca.

Las suspensiones madres se agitaron usando un agitador de tubos (Thermolyne modelo: M37615) por 3 min y un baño ultrasónico (Fisher Scientific, FS-9) por 1 min para evitar las agrupaciones de esporas. Se volvió a agitar la suspensión por 1 min e inmediatamente después (antes de que la suspensión comenzara a precipitarse), se colocó, con una pipeta pasteur, una alícuota sobre un hematocímetro (Weber, Improve Neubauen, 1/400 mm²) para contar el número de esporas. Este procedimiento se realizó en una cámara de flujo laminar (The Baker Company, EdgeGARD Hood, Modelo: EG 4326) para evitar contaminación. Para cada aislamiento se tomaron dos alícuotas independientemente, a cada una de las cuales se le hicieron dos conteos. En cada conteo se observaron 40 de los 400 cuadros (de 1/400 mm²) del hematocímetro. Se calculó la media aritmética de los cuatro conteos y se determinó la concentración de la muestra de la siguiente manera:

$$(\text{media}/40) * 400 * 10 * 10^3 = \text{No. de conidias/ml}$$

B.3.3. Preparación de las suspensiones diluidas

Para cada aislamiento se prepararon 30 ml de suspensión con la concentración deseada (generalmente $1 \cdot 10^7$ conidias/ml). Se agitó la suspensión madre por un minuto, se tomó una alícuota cuyo volumen dependió de la concentración de conidias y se aforó a 30 ml con solución de Tween (1 gota/50 ml ADE). Estas suspensiones fueron almacenadas a 5°C (refrigerador doméstico: General Electric). Para evitar la aplicación de conidias germinadas no se usaron suspensiones con más de 24 h de almacenamiento.

B.3.4. Determinación del error por dilución

La determinación de la concentración por dilución de las suspensiones madres introduce un error importante por la precipitación de las esporas y por su tendencia a agruparse. Se trató de evaluar este error determinando la concentración real de esporas de las suspensiones diluidas para compararlas con la concentración estimada por dilución de la suspensión madre. Para ello se agitó la suspensión por 1 min se determinó la concentración de esporas con el promedio de cuatro lecturas hechas a dos alícuotas tomadas independientemente. Este procedimiento se repitió 14 veces para estimar el margen de error mediante los siguientes cálculos:

$$\% \text{ error} = ((\text{concentración real} - \text{concentr. estimada}) * 100) / \text{concentración estimada}$$

En donde:

Concentración real = concentración de conidias en la suspensión diluida, determinada por conteo con el hematocímetro

Concentración estimada = concentración de conidias de la suspensión diluida, estimada por dilución de la suspensión madre

El error global se estimó haciendo el promedio de los errores individuales.

B.4. Determinación del porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación de todas las cepas usadas en bioensayos se determinó mediante el siguiente procedimiento: En una caja de petri con PDA se colocaron cuatro gotas de solución acuosa estéril de Tween. Con un asa de inoculación esterilizada con la llama de un mechero se tomó una pequeña porción de esporas, se suspendió en el agua dentro de la caja de petri y se repartió sobre toda la superficie del medio. Estas cajas se incubaron a 25°C (LMS 600 A) por 20 h. Las esporas fueron observadas al microscopio (Olympus CH-2) con un aumento de 400X. A partir de una muestra de 100 esporas se determinó de las cuales se calculó el porcentaje que no germinó.

B.5. Montaje de los bioensayos

Se usó la metodología de bioensayo modificada de Hall *et al* (1993), que consiste en la aplicación de los hongos a ninfas adheridas a discos de hoja.

B.5.1. Preparación de los discos de hoja

En macetas plásticas de 1 galón se sembraron 12 semillas de frijol de la variedad Negro Huasteco fertilizadas con 8 g de abono triple 15 aplicado a la siembra. Las macetas se colocaron en un invernadero sin *B. tabaci* y se regaron diariamente. Una vez que las hojas verdaderas alcanzaron su tamaño máximo se colocó una microjaula en el envés de la hoja (Fig. 1).

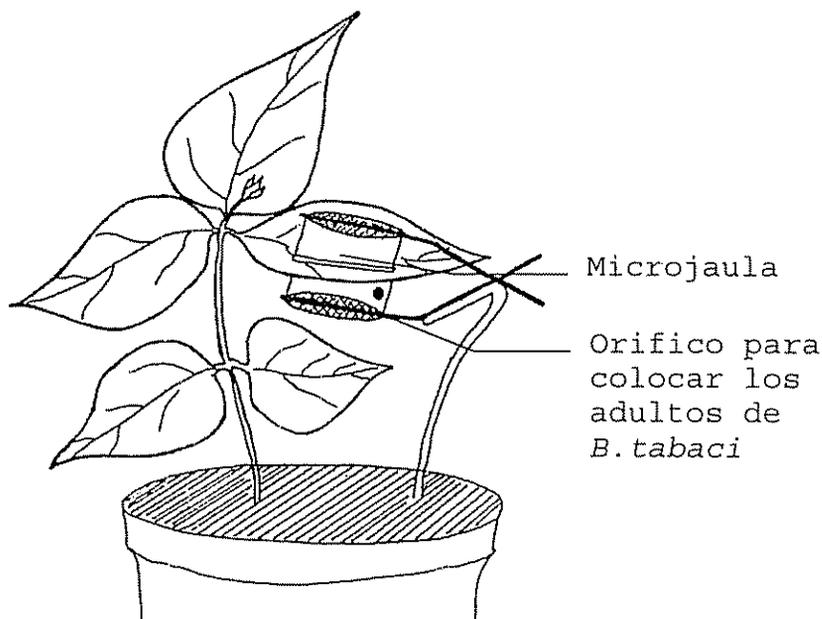


Figura 1. Colocación de las microjaulas en el envés de las hojas de frijol

Dentro de cada microjaula se colocaron 40 adultos de *B. tabaci* durante 48 h para inducir la oviposición. Las hojas con huevos se observaron todos los días. Cuando la mayoría de ninfas alcanzaron el 4o. estadio se recortaron discos de hoja de 3 cm de diámetro con la ayuda de un sacabocados (tapadera metálica de botella) de manera que cada disco tuviera de 20 a 100 ninfas.

B.5.2. Aplicación de las suspensiones

Para cada aislamiento se vertieron 30 ml de la correspondiente suspensión de conidias en cajas de petri estériles. Los discos de hoja, manipulados con unas pinzas finas, se sumergieron y agitaron en las suspensiones por 1 min. Los discos de hoja se colocaron dentro de cajas de petri, abiertas y rotuladas, sobre un disco de papel filtro (Whatman No.1) hasta que se secaron (aproximadamente 15 min).

Para el testigo se utilizó una solución de Tween 80 en la que los discos de hoja fueron sumergidos siguiendo la metodología recién descrita.

B.5.3. Preparación de las “cajas” de bioensayos

Sobre una placa de vidrio de 5X5 cm se vertió una mezcla de yeso y agua (proporción 1:1 peso/peso). Sobre el yeso aún suave se colocó el disco de hoja inoculado. Al secarse parcialmente el yeso (aproximadamente 15 min después de verterlo) la lámina de vidrio se colocó dentro de una caja de petri plástica estéril sobre un disco de papel filtro (Whatman No.1) mojado con 2 ml de agua destilada para proveer una humedad alta (Fig 2).

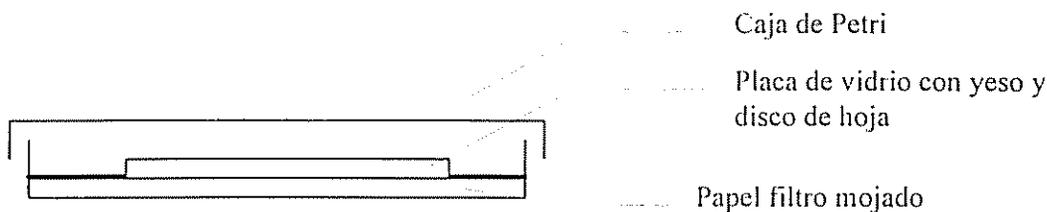


Figura 2. Diseño de la caja de bioensayo

B.5.4. Condiciones del bioensayo

Las cajas de petri se incubaron a 25°C (Incubadora Percival modelo E-30b) durante 48 h. Se cerraron las cajas, sin sellarlas, para mantener un 100% HR y favorecer la germinación de conidias. Transcurridas las primeras 48 h se transfirieron a una sala de crecimiento (debido a la falta de espacio en la incubadora) con aire acondicionado. Se registró la temperatura de la sala con un termógrafo (Cole Parmer, Modelo: 8560-00). Para cada día se calculó la temperatura promedio, con 12 lecturas cada 2 horas, y se registró la temperatura obteniéndose los siguientes promedios: temperatura promedio: 24.4°C. (Desviación Estándar = 0.84), temperatura máxima: 26.2°C (DE=1.0) y temperatura mínima: 21.6°C (DE=0.6)

Durante las primeras 48 h dentro de esta sala las cajas se dejaron parcialmente abiertas para eliminar el exceso de humedad y evitar la condensación de agua sobre las ninfas y la tapadera. Las cajas permanecieron cerradas durante el resto del bioensayo.

C. Evaluación de hongos entomopatógenos contra *B.tabaci*

Se evaluaron los hongos en bioensayos independientes con desiguales números de tratamientos (Cuadro 2).

C.1. Determinación de la variable de respuesta

Para evaluar la mortalidad causada por los tratamientos se hizo un conteo inicial de la ninfas de cuarto instar y al final del periodo de observación se contó el número de adultos emergidos.

En muchas de las repeticiones se encontraron ninfas parasitadas. Para diferenciar el efecto de los hongos del de los parasitoides se tomó como número inicial de ninfas neto el número inicial de ninfas menos el número de ninfas evidentemente parasitadas. El número de ninfas evidentemente parasitadas se determinó contando en número de exuvias con un orificio redondo muy característico o viendo el parasitoide más o menos desarrollado a través de la cutícula de la ninfa.

Con los datos obtenidos se calculó el número de ninfas muertas como el número inicial neto de ninfas menos el número de adultos emergidos (determinado por el número de exuvias con apertura con forma de T). Debido a que no se pudo tener el mismo número de insectos en cada repetición se trabajó con porcentajes. La variable de respuesta fue el porcentaje de ninfas muertas que se calculó de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \% \text{ ninfas muertas} &= (\text{ninfas muertas} * 100) / \text{ninfas iniciales netas} \\ &= [(\text{ninfas iniciales} - \text{ninfas parasitadas}) - \text{adultos emergidos}] * 100 / (\text{ninfas iniciales} - \text{ninfas} \\ &\text{ parasitadas}) \end{aligned}$$

C.2. Análisis y diseño estadístico

Los bioensayos fueron analizados independientemente y se consideraron las cepas probadas y el testigo como los tratamientos. Para todos los bioensayos, salvo el primero, se hicieron cuatro repeticiones para cada tratamiento. En el primer bioensayo se hicieron 3 repeticiones. Cada repetición correspondió a una caja de bioensayo. Cada bioensayo tuvo su propio testigo.

Para cada bioensayo se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA) ya que las unidades experimentales y las condiciones ambientales fueron homogéneas y que los tratamientos se aplicaron aleatoriamente (Steel y Torrie 1985). Cada bioensayo tuvo un solo factor, la aplicación de suspensiones, con un número de niveles variable entre los bioensayos. Cada nivel correspondió a las diferentes cepas aplicadas en el bioensayo. En estas condiciones un análisis de varianza de una vía fue el adecuado para determinar si existieron diferencias entre los tratamientos (Steel y Torrie 1985).

Para poder evaluar los porcentajes de mortalidad, variable binomial, con un análisis de varianza se aplicó una transformación angular ($Y = \arcsen \sqrt{x}$) que es especialmente recomendada cuando las proporciones son mayores a 70% o menores al 30% (Steel y Torrie, 1985).

La descomposición de la variabilidad en las observaciones de un análisis de varianza es válida únicamente si se cumplen los siguientes supuestos: los errores deben de tener una media igual a cero ($\mu_{(e)} = 0$), los datos deben de tener una distribución normal, con varianzas y ser

independientes entre sí (Montgomery, 1991). La comprobación de estos supuestos se hizo sobre los residuos ($\epsilon = x - \bar{x}$) (Montgomery, 1991). El primer supuesto ($\mu_{\epsilon} = 0$) se verificó mediante una prueba de T y la normalidad de los residuos con el estadístico W. La homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Barlett y la independencia de los residuos se verificó gráficamente.

En los casos en que el ANDEVA resultó significativo ($\alpha=0.05$) se hizo una comparación de medias por Dunnett ($\alpha=0.05$) que es la más adecuada cuando únicamente se quieren comparar los tratamientos contra el testigo (Montgomery, 1991).

Los análisis de varianza, de residuos y la prueba de Dunnett se hicieron en computadora utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

A pesar de no poder comparar todas las cepas en un mismo análisis estadístico los análisis independientes permitieron tener una idea de la eficiencia relativa de cada cepa ya que se pudieron comparar con sus respectivos testigos.

D. Determinación de la interacción hongos-parasitoides

Es probable que exista una interacción entre los hongos entomopatógenos y los parasitoides que cambie la susceptibilidad y mortalidad de las ninfas de *B. tabaci* (Fransen 1995; Jones y Poprawski 1996; Meeke y Fransen, 1995; Poprawski *et al.* 1995; Simmons *et al.* 1996).

Se calculó la diferencia entre el porcentaje de parasitismo en los tratamientos (en donde sí existe la interacción) y sus respectivos testigos (en donde no puede existir la interacción) para tratar de estimar esta interacción. No se hizo un análisis estadístico de estos datos ya que esta nueva variable no es un indicador preciso de la interacción.

IV. RESULTADOS

A. Resultados de la búsqueda en el campo

Los resultados de la búsqueda de hongos entomopatógenos de *B. tabaci* se resumen a continuación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Hongos entomopatógenos colectados en la fase de campo

Especie del hongo	Insecto Hospedante	Cultivo	Lugar de colecta
<i>Aschersonia</i> sp.	Escama desconocida	Bosque natural	La Esperanza de Atirro, Turrialba
<i>Aschersonia</i> sp.	Aleyrodidae	Guayaba	CATIE, Turrialba
<i>Paecilomyces</i> sp.	Aleyrodidae	Guayaba	Sta. Teresita, Turrialba

De los tres aislamientos de hongos entomopatógenos solamente el de *Paecilomyces* sp. (MB-ST) fue usado en bioensayos contra *B. tabaci*.

B. Establecimiento de una metodología de Bioensayo

Debido a que la literatura no reporta ningún método de bioensayo estandarizado para evaluar el efecto de hongos entomopatógenos en *B. tabaci*, salvo el descrito por Landa *et al.* (1994) se describirán algunos resultados metodológicos cualitativos que se obtuvieron después de muchas pruebas preliminares.

B.1. Discos de hoja

Inicialmente se usaron discos de hoja de tomate para los bioensayos pero su superficie irregular, principalmente en plantas viróticas, dificultó su adherencia al yeso y la obtención de discos de diámetro adecuado. Se sustituyó el tomate por frijol que tiene una hoja más plana, menos susceptible a la virosis y sobre la cual *B. tabaci* si oviposita. El uso de microjaulas con 40 adultos durante 48h (Fig. 1) permitió obtener discos de hoja con únicamente ninfas de *B. tabaci* (ya que en el criadero también había *Trialeurodes vaporariorum*), de la misma edad y a una densidad adecuada.

B.2. Instars ninfales

En pruebas preliminares los hongos se aplicaron a ninfas de tercer instar que son más susceptibles que las de cuarto (Osborne y Landa, 1992) pero el testigo tuvo una mortalidad alta. Para reducir la duración del experimento, y por lo tanto el estrés causado por las condiciones experimentales, se usaron ninfas de cuarto instar y se disminuyó la mortalidad del testigo. El tiempo necesario para que una ninfa de cuarto instar se convierta en adulto es suficiente para que se desarrolle una micosis letal (Drummond *et al.* 1987; Landa *et al.*, 1994).

B.3. Concentración de la suspensión

En la mayoría de bioensayos se aplicaron las suspensiones a una concentración de $1 \cdot 10^7$ conidias/ml que es suficientemente alta para causar un efecto sobre *T. vaporariorum* (Drummond *et al.* 1987; Kanagaratnam *et al.* 1982) (y probablemente también sobre *B. tabaci*) y lo suficientemente baja para permitir discriminar cepas de hongos entomopatógenos por su falta de virulencia (Manuel Carballo, Philip Shannon 1995, CATIE, com.pers.). Únicamente las dos cepas provenientes de USDA fueron aplicadas a dos concentraciones ($1 \cdot 10^7$ y $1 \cdot 10^8$ conidias/ml). En

estudios previos se demostró la alta virulencia de estas cepas (Wraight *et al.* 1995: Tadeuz Poprawsky 1995, USDA, com. pers.) al ser aplicados a dosis del orden de $1 \cdot 10^8$. También se aplicaron a $1 \cdot 10^7$ conidias/ml para ver si la virulencia se mantenía al aplicarse con la concentración de conidias usada en este experimento ($1 \cdot 10^7$).

B.4. Condiciones ambientales

Se trabajó a 25°C, que es la temperatura más cercana al óptimo para el desarrollo de la infección de la mayoría de hongos entomopatógenos (Ferron, 1978).

Inicialmente se pensó mantener dentro de las cajas de bioensayo una humedad muy alta durante todo el experimento para favorecer la infección, desarrollo y esporulación del hongo. Estas condiciones provocaron una alta mortalidad del testigo y promovieron la descomposición del disco de hoja lo que dificultó la observación de las ninfas. Una humedad del 100% durante únicamente 48 h permitió la infección de los insectos con una mortalidad baja en los testigos y redujo la descomposición de los discos de hoja.

C. Determinación del error por dilución

Se calculó la concentración real promedio de las suspensiones diluidas determinándose el siguiente intervalo de confianza: $P(1.01 \cdot 10^7 \leq \mu \leq 1.15 \cdot 10^7) = 0.95$ (Cuadro 4).

Cuadro 4: Concentraciones reales de suspensiones obtenidas al diluir una suspensión de concentración conocida para obtener una suspensión de concentración 1×10^7

Asilamiento	Especie	Conteo (conidias/ml)				Promedio 4 conteos	Porcentaje error (*)
		1	2	3	4		
Pfr	<i>P.fumoso roseus</i>	$9,8 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	$8,9 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	8 %
0084	<i>Beauveria</i> sp.	$1,1 \times 10^7$	$8,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	0 %
64/88	<i>B bassiana</i>	$6,4 \times 10^6$	$7,7 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$8,5 \times 10^6$	15 %
G-RCP-2	<i>M anisopliae</i>	$9,7 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	20 %
IMI330189	<i>M flavoviride</i>	$8,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	10 %
G-GUA-8	<i>M anisopliae</i>	$9,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$7,8 \times 10^6$	$8,6 \times 10^6$	$8,9 \times 10^6$	11 %
38-PLUT	<i>Beauveria</i> sp.	$1,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$9,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	20 %
113	<i>Beauveria</i> sp.	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	10 %
447	<i>Beauveria</i> sp.	$1,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	30 %
C-RIP-2	<i>M anisopliae</i>	$1,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	20 %
G-LBD	<i>M anisopliae</i>	$8,5 \times 10^6$	$9,6 \times 10^6$	$7,6 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$9,2 \times 10^6$	8 %
G-ARE-1	<i>M anisopliae</i>	$7,8 \times 10^6$	$9,8 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	0 %
G-ARE-2	<i>M anisopliae</i>	$1,1 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	10 %
695	<i>B brongniarti</i>	$1,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	20 %
<i>Promedio</i>					<i>x</i>	$1,08 \times 10^{07}$	
<i>Desviación Estandard</i>					<i>s</i>	$1,39 \times 10^{06}$	
<i>Límite de confianza al 95%</i>					<i>x ±</i>	$7,05 \times 10^{05}$	

D. Determinación del porcentaje de germinación

Salvo tres excepciones (38PLUT, 35 y 613) los porcentajes de germinación de los 43 aislamientos superaron el 80% ($33 \geq 90\%$) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de germinación de todas las cepas de hongos entomopatógenos evaluadas

Cepa	% de germinación	Cepa	% de germinación	Cepa	% de germinación
BHO	100	G-GTE-13	97	55-CO	100
27 IDR	98	G-GTE-24	86	0084	100
G-RíoPte	95	GF-LAJAS	97	64/88	85
G-ALA-1	90	190	94	C-ESP-1	99
G-GTE-3	97	290	96	G-RCP-2	100
ESP-26	92	G-PEJ-2	87	G-GUA-8	95
G-CBR	94	G-CRG	86	38-PLUT	65
C-CER-1	98	4/89	95	113	90
G-GOL-5	86	5/89	89	IMI330189	98
613	80	NB	100	C-RIP-2	97
GHA	91	35	0	C-LBD	99
447	84	G-EEE	92	MB-ST	98
ARE-1	98	ARE-2	94	695	62
G-BSG-16	90	0-195	97	P-0085	87
G-GTE-15	97				

La determinación de la germinación se hizo después de montar los bioensayos por lo que se usaron todos los hongos evaluados aunque su germinación fuera baja.

E. Resultados de los bioensayos

La comprobación de los supuestos del modelo lineal aditivo para los residuos de los porcentajes de mortalidad transformados (transformación angular) se presentan a continuación (Cuadro 6, Anexo 1).

Cuadro 6. Comprobación de los supuestos del modelo lineal aditivo de los residuos de los porcentajes de mortalidad transformados

Bioensayo	$\mu (\epsilon) = 0^1$	Homogeneidad ² de varianzas	Normalidad ³ de los residuos	Independencia ⁴ de los residuos
1	Sí	Sí	Sí	Sí
2	Sí	Sí	Sí	Sí
3	Sí	Sí	Sí	Sí
4	Sí	Sí	Sí	Sí
5	Sí	Sí	Sí	Sí
6	Sí	Sí	Sí	Sí
7	Sí	No	Sí	Sí
8	Sí	Sí	Sí	Sí

¹ La media de los residuos igual a cero se comprobó mediante una prueba de T (Anexo 1)

² La normalidad de la distribución de los residuos se probó con el estadístico W (Anexo 1)

³ La homogeneidad de las varianzas de los residuos se comprobó usando X^2 en análisis de contingencia(Anexo 1)

⁴ La independencia de los residuos se comprobó gráficamente (Anexo 1)

E.1. Bioensayo 1

En el primer bioensayo ninguna de las cepas de *B. bassiana* utilizadas provocó un porcentaje de mortalidad alto (Fig 3) pero si existió una diferencia significativa entre los tratamientos (P = 0.0045) (Cuadro 7 y 8).

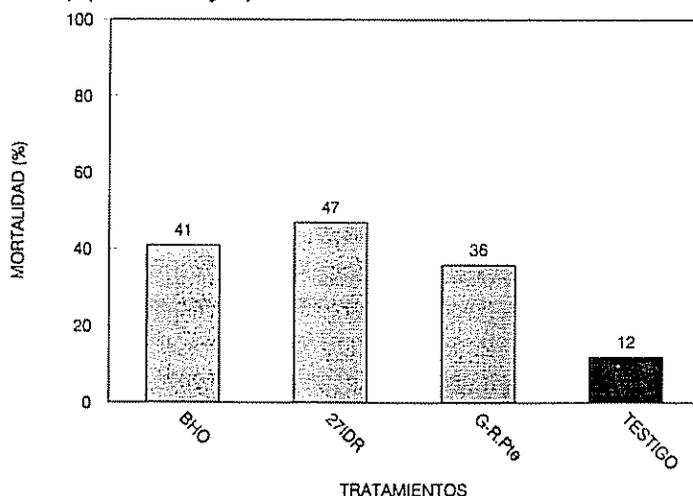


Figura 3. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de *Beauveria* sp. después de 14 días de aplicados, primer bioensayo

Cuadro 7. Análisis de varianza del arcosen $\sqrt{(\% \text{mortalidad})}$ de los tratamientos del primer bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,33265095	3	0,11088365	9,95	0,0045
Error	0,08912300	8	0,01114037		
Total					
Corregido	0,42177395	11			

Coeficiente de Variación = 17.45 R Cuadrado = 0.79

Cuadro 8. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del arsen $\sqrt{(\% \text{mortalidad})}$ de los tratamientos del primer bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transf.	Prueba Dunnett ¹
BHO	41,27	0,7544	***
27IDR	46,94	0,6960	***
G.Río Puente	36,11	0,6441	***
Testigo	11,99	0,3244	-----

¹ Las diferencias significativas al 5% con respecto al testigo se son indicadas por “***”

E.2. Bioensayo 2

Las diferencias entre los tratamientos del segundo ensayo no fueron significativas según el ANDEVA ($p = 0,1555$) (Fig. 4, Cuadro 9 y 10).

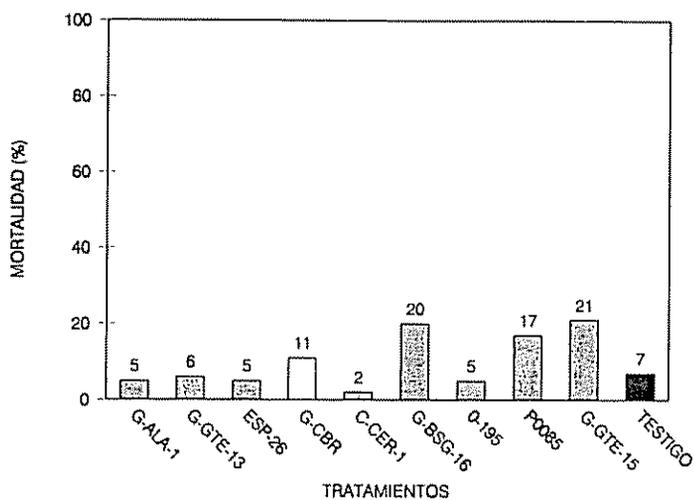


Figura 4. Porcentajes de mortalidad por nueve aislamientos de *Beauveria* sp. después de 14 días de aplicados, segundo bioensayo

Cuadro 9. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del segundo bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,50378187	9	0,05597576	1,62	0,1555
Error	1,03898893	30	0,03463296		
Total					
Corregido	1,54277079	39			

Coefficiente de Variación = 70.24

R Cuadrado = 0.33

Cuadro 10 .Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del segundo bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transformada
G-ALA-1	5,19	0,223
G-GTE-13	5,61	0,167
ESP-26	4,63	0,185
G-CBR	11,28	0,291
C-CER-1	2,30	0,107
G-BSG-16	19,91	0,400
0-195	5,39	0,163
P0085	17,38	0,391
G-GTE-15	20,89	0,461
Testigo	6,95	0,262

E.3. Bioensayo 3

En este bioensayo sí se observaron diferencias entre los tratamientos (Fig 5) como lo demuestra el análisis de varianza ($P = 0,0002$) (Cuadro 11).

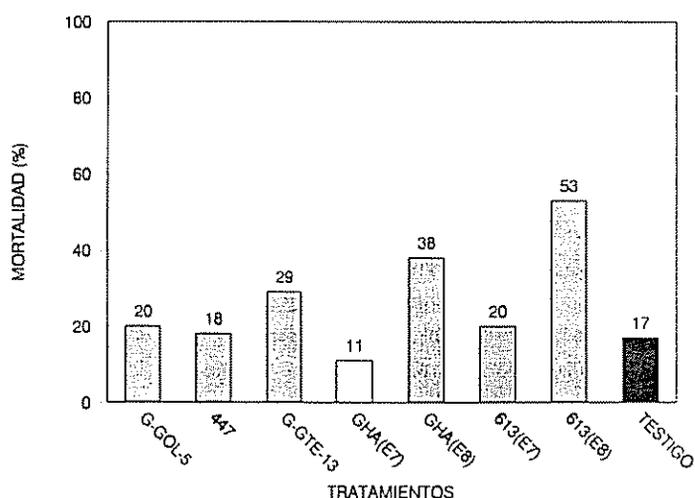


Figura 5. Porcentajes de mortalidad por 4 aislamientos de *Beauveria* sp.y uno de *P.fumosoroseus* después de 14 días de aplicados, tercer bioensayo

Cuadro 11. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del tercer bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,67080447	7	0,09582921	6,65	0,0002
Error	0,34582735	24	0,01440947		
Total					
Corregido	1,01663182	31			

Coefficiente de Variación = 23,37 R Cuadrado = 0,66

La comparación de medias por Dunnett Cuadro 12) muestra que las cepa 613 de *P.fumoso* y la GHA de *B.bassiana*, fueron diferentes al testigo únicamente al ser aplicadas a 1×10^8 conidias/ml.

Cuadro 12. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del tercer bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transf.	Prueba Dunnett ¹
Pfr 613(E8)	52,90	0,8144	***
GHA (E8)	36,36	0,6434	
G-GTE-13	29,16	0,5698	
G-GOL-5	19,85	0,4490	
Pfr 613(E7)	20,04	0,4391	
447	18,03	0,4359	
TESTIGO	17,35	0,4278	-----
GHA (E7)	11,23	0,3289	

¹ Las diferencias significativas al 5% con respecto al testigo se son indicadas por “***”

E.4. Bioensayo 4

En este bioensayo no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 6) como lo demuestra el análisis de varianza ($P = 0,5726$) (Cuadro 13 y 14).

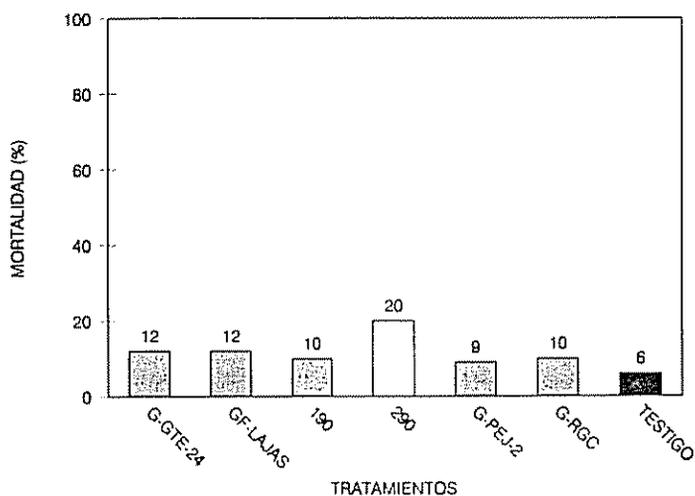


Figura 6. Porcentajes de mortalidad por seis aislamientos de *Beauveria* sp. después de 14 días de aplicados, cuarto bioensayo

Cuadro 13. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del cuarto bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,15077267	6	0.02512878	0,81	0,5726
Error	0,65004117	21	0,03095434		
Total					
Corregido	0,80081384	27			

Coeficiente de Variación = 58.68 R Cuadrado = 0.19

Cuadro 14. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del cuarto bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transformada
G-GTE-24	11,79	0,292
GF-Lajas	11,58	0,339
190	10,03	0,273
290	19,53	0,456
G-PEJ-2	9,28	0,255
G-RGC	10,08	0,276
Testigo	5,69	0,208

E.5. Bioensayo 5

En este bioensayo las cepas de *Beauveria* sp. siguen la misma tendencia que la observada en los anteriores. Sin embargo las tres cepas de *Manisopliae* difieren dramáticamente del testigo y de los otros tratamientos (Fig. 7). Las evidentes diferencias entre los tratamientos se confirman con modelo estadístico que resultó altamente significativo ($P = 0,0001$) (Cuadro 15) y en la comparación de medias (cuadro 16).

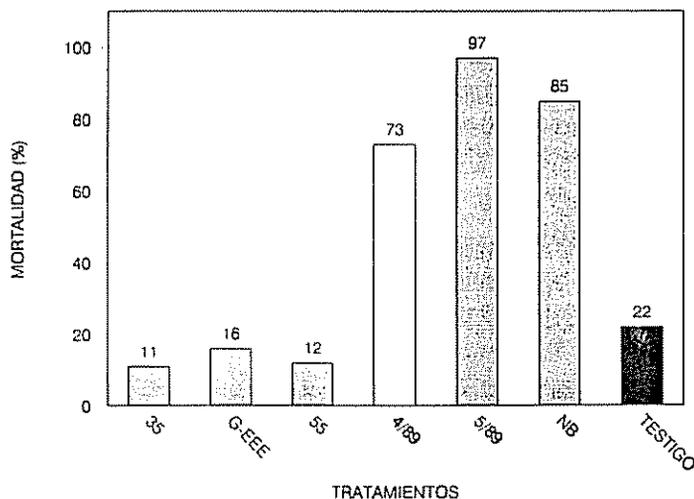


Figura 7. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de *Beauveria* sp. y 4 de *Manisopliae* después de 14 días de aplicados, quinto bioensayo

Cuadro 15. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del quinto bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	5,42747851	6	0,90457975	29,76	0,0001
Error	0,63833577	21	0,03039694		
Total					
Corregido	6,06581428	27			

Coeficiente de Variación = 23,61 R Cuadrado = 0,89

Cuadro 16. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del quinto bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transf.	Prueba Dunnett ¹
5/89	97,33	1,431	***
NB	94,79	1,224	***
4/89	72,77	1,027	***
Testigo	22,45	0,485	-----
G-EEE	15,82	0,384	
35	11,10	0,323	
55 C.O.	12,00	0,296	

¹ Las diferencias significativas al 5% con respecto al testigo se son indicadas por “***”

E.6. Bioensayo 6

En este bioensayo no se encontró ninguna diferencia significativa entre los tratamientos (Fig. 8, Cuadro 17 y 18).

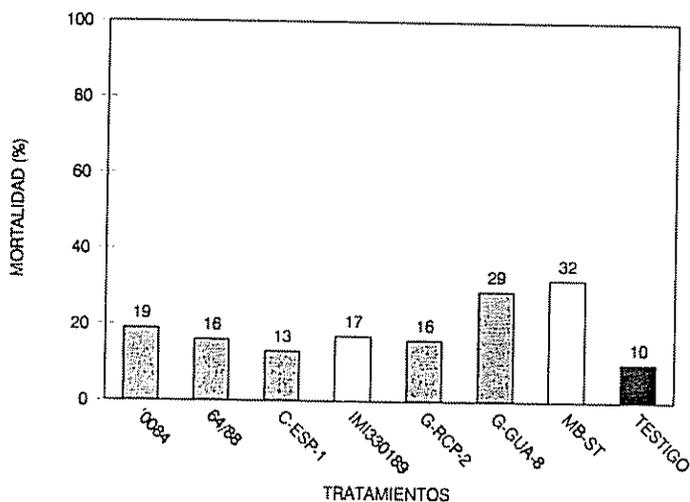


Figura 8. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de *Beauveria* sp., uno de *M. flavoviride*, dos de *M. anisopliae* y uno de *Paecilomyces* sp. después de 14 días de aplicados, sexto bioensayo

Cuadro 17. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del sexto bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,25749561	7	0,03678509	0,52	0,8111
Error	1,70015918	24	0,07083997		
Tot. Corregido	1,95765479	31			

Coefficiente de Variación = 65,47

R Cuadrado = 0,13

Cuadro 18. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del sexto bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transformada
0084	19,07	0,437
IMI330189	17,22	0,371
64/88	16,00	0,374
G-RCP-2	16,47	0,365
MB-ST	32,27	0,559
C-ESP-1	12,83	0,357
G-GUA-8	29,03	0,524
Testigo	10,35	0,265

E.7. Bioensayo 7

Ninguno de los tratamientos fue distinto al testigo (Fig. 9), lo que se reflejó en la falta de significancia del modelo estadístico ($P = 0,735$) (Cuadro 19 y 20).

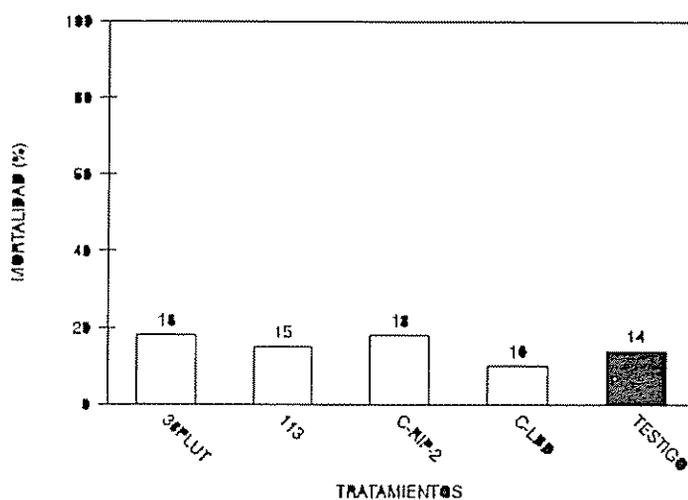


Figura 9. Porcentajes de mortalidad por tres aislamientos de *Beauveria* sp. y dos de *M. anisopliae* después de 14 días de aplicados, séptimo bioensayo

Cuadro 19. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del séptimo bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,05925095	4	0,01481274	0,50	0,7352
Error	0,44303979	15	0,02953599		
Total					
Corregido	0,50229074	19			

Coefficiente de Variación = 46,49 R Cuadrado = 0,12

Cuadro 20. Porcentaje de mortalidad promedio y $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del séptimo bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transformada
C-RIP-2	17,72	0,424
38 PLUT	18,23	0,425
113	14,57	0,389
C-LBD	9,74	0,308
Testigo	13,88	0,302

E.8. Bioensayo 8

El análisis de varianza detectó diferencias entre los tratamientos ($P = 0,04$) (Cuadro 21) debidas al efecto de las dos cepas de *M. anisopliae* (ARE-1 y ARE-2) (Figura 10 y Cuadro 22).

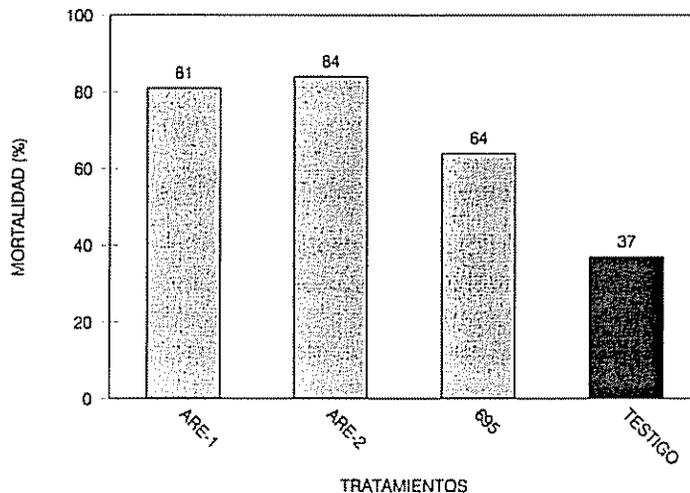


Figura 10. Porcentajes de mortalidad por dos aislamientos de *M. anisopliae* y uno de *B. brongniarti* después de 14 días de aplicados, octavo bioensayo

Cuadro 21. Análisis de varianza del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del octavo bioensayo

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad de F
Modelo	0,94678007	3	0,31559336	3,83	0,0391
Error	0,98993914	12	0,08249493		
Total					
Corregido	1,93671921	15			

Coefficiente de Variación = 28.95 R Cuadrado = 0.49

Cuadro 22. Prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$) del $\arcsen\sqrt{(\%mortalidad)}$ de los tratamientos del octavo bioensayo

Tratamiento	Porcentaje de mortalidad	Mortalidad transf.	Prueba Dunnett [†]
ARE-2	83,80	1,226	***
ARE-1	80,63	1,192	***
695	63,60	0,929	
TESTIGO	36,91	0,621	-----

[†] Las diferencias significativas al 5% con respecto al testigo se son indicadas por “***”

F. Parasitismo

En todos los bioensayos, salvo el primero, se registró la presencia de ninfas parasitadas (Cuadro 23).

Cuadro 23. Porcentaje de parasitismo promedio para los tratamientos de los bioensayos 2-8

Bioensayo	Cepa	% de parasitismo	% de parasitismo del respectivo testigo	Interacción *
2	G-ALA-1	18,5	8,43	10.07
2	G-GTE-3	8,43	8,43	0.00
2	ESP-26	11,57	8,43	3.14
2	G-CBR	19,05	8,43	10.62
2	C-CER-1	7,84	8,43	- 0.59
2	G-BSG-16	25,43	8,43	17.00
2	0-195	0,84	8,43	- 0.39
2	P0085	24.36	8,43	15.93
2	G-GTE-15	13,53	8,43	5.10
3	G-GOL-5	10,24	2,77	7.47
3	613 +	6,1	2,77	3.33
3	613	6,41	2,77	3.64
3	447	6,79	2,77	4.02
3	GHA +	4,68	2,77	1.96
3	GHA	9,15	2,77	6.38
3	G-GTE-13	13,29	2,77	10.52
4	G-GTE-24	11,69	10,57	1.52
4	GF-LAJAS	3,36	10,57	- 7.21
4	190	9,01	10,57	- 1.56
4	290	8,22	10,57	- 2.35
4	G-PEJ-2	2,75	10,57	- 7.82
4	G-RGC	2,58	10,57	- 7.99
5	4/89	4,99	6,52	- 1.53
5	35	8,46	6,52	1.94
5	G-EEE	12,28	6,52	5.76
5	55	7,14	6,52	0.62
5	5/89	3,03	6,52	- 3.49
5	NB	9,7	6,52	3.18
6	0084	0,34	5,25	- 4.91
6	IMI330189	15,22	5,25	9.97
6	64/88	6,65	5,25	1.40
6	GRCP-2	9,55	5,25	4.30
6	MB-ST	8,77	5,25	3.52
6	C-ESP-1	16,85	5,25	11.60
6	G-GUA-8	10,82	5,25	5.57

Cuadro 23: Continuación

Bioensayo	Cepa	% de parasitismo	% de parasitismo del respectivo testigo	Interacción *
7	C-RIP-2	18,2	11,47	6.73
7	38 PLUT	19,6	11,47	8.13
7	113	18,82	11,47	7.35
7	C-LBD	6,76	11,47	- 4.71
8	ARE-1	1,14	2,93	- 7.79
8	ARE-2	0,00	2,93	- 2.93
8	695	3,09	2,93	0.16
Promedio			9.56	3.01
Desviación Estandar			6.06	5.90

* Interacción = (%parasitismo del tratamiento) - (% parasitismo del testigo respectivo)

+ Concentración de la suspensión de hongos aplicada: $1 \cdot 10^8$ conidias/ml

V. DISCUSION

A. Búsqueda de hongos en el campo

La búsqueda de hongos entomopatógenos de *B. tabaci* se hizo durante la estación lluviosa esperando que la alta humedad favoreciera las epizootias naturales, sin embargo se encontraron muy pocos hongos. Esta escasez dentro de cultivos probablemente fue consecuencia de la reducción de las poblaciones de moscas blancas por las lluvias o por el uso de plaguicidas, principalmente insecticidas y fungicidas, que tienen un efecto antagónico sobre los hongos entomopatógenos (Clark *et al.* 1982). Se encontraron hongos entomopatógenos en los cultivos de guayaba, cítricos y en bosques naturales probablemente porque la ausencia de perturbaciones, la protección de la lluvia y la alta humedad favorecieron el desarrollo de micosis.

B. Error en la dilución y aplicación de suspensiones de esporas

El error encontrado en la determinación de la concentración de una suspensión a partir de una suspensión madre, de concentración conocida, se debió a la precipitación de las esporas. Para reducir este error se determinó la concentración de la solución madre promediando cuatro conteos. No se hicieron más lecturas debido a que el tamaño de los bioensayos limitó el tiempo disponible para este paso. La determinación de la concentración real de las soluciones diluidas, por conteo directo, permiten definir un límite de confianza que permite estimar el error. No se puede calcular un estimado preciso de este error, ya que existe variación entre las diluciones, y por lo tanto no se hizo una corrección sistemática de las suspensiones diluidas.

La aplicación de los tratamientos por inmersión es otra fuente de error ya que su inestabilidad pudo afectar el número de esporas en contacto con las ninfas.

C. Selección de los aislamientos promisorios

Contrario a lo que se esperaba pocas de las cepas probadas causaron una alta mortalidad de *B. tabaci*. El efecto de los aislamientos se puede caracterizar en tres tipos: los que no fueron diferentes al testigo (ej. G-CBR, 447 y G-GUA-8), los que fueron distintos al testigo pero causaron un porcentaje de mortalidad bajo (alrededor del 50%)(ej: BHO y 27IDR) y los que causaron un porcentaje de mortalidad muy alto (más del 73%) (ej: NB y ARE-2). Treinta y cinco aislamientos entran en la primera categoría, 3 en la segunda y 5 en la tercera (Cuadros 6-21, Fig. 4-11).

C.1. Aislamientos que no fueron diferentes al testigo

La falta de efecto de la mayoría de los aislamientos se pudo deber a varios motivos. Muchas de las cepas de *Beauveria* sp. fueron escogidas al azar en la colección del CATIE/C.R. por lo que no tienen una virulencia comprobada. Esta falta de virulencia podría deberse a la misma naturaleza inocua del hongo. La pérdida de virulencia asociada con largos períodos de almacenamiento (a -20°C) (Alves y Stimac 1995) también pudo influir en los resultados. Una manera de asegurar una virulencia adecuada de estas cepas era infectar insectos susceptibles (por ej. *Galleria* sp.) y reaislar las esporas producidas sobre el cadáver, sin embargo este proceso no se pudo llevar a cabo debido a la falta de tiempo.

La baja concentración de las suspensiones de la mayoría de los tratamientos puede explicar en parte la baja mortalidad manifestada en estos ensayos. Es probable que si se hubiera aumentado la cantidad de inóculo el porcentaje de mortalidad hubiera aumentado, como se comprobó con la cepa 613 (*P. fumosoroseus*) que causó mayores niveles de mortalidad al aplicarse a una concentración de $1 \cdot 10^8$ conidias/ml que al aplicarse a $1 \cdot 10^7$ conidias/ml.

Se esperaba que las dos cepas de la colección del USDA fueran altamente virulentas ya que se ha reportado que causan hasta un 95% de mortalidad (Wraight *et al.* 1995). En el presente trabajo ambas cepas causaron bajos porcentajes de mortalidad al ser aplicadas a 1×10^7 conidias/ml. La discrepancia entre estos resultados probablemente se deba a diferencias en la metodología de bioensayo. En el experimento descrito por Wraight *et al.* (1995) estos hongos fueron aplicados en el campo a una concentración de 1.0×10^8 conidias/ml, a 4-5 días de intervalo, durante 21 días. Este tipo de aplicación periódica y repetitiva sobre la misma planta probablemente aumenta el estrés, la susceptibilidad del insecto y la probabilidad de contacto con conidias viables y virulentas. Los ensayos descritos por Wraight *et al.* (1995) se hicieron sobre varias especies de *Bemisia* mientras que en este trabajo se usó el biotipo C de *B. tabaci* (Brown *et al.* 1995). Es posible que diferencias en susceptibilidad a micosis entre los insectos “blanco” de ambos estudios expliquen parcialmente las diferencias en los resultados. Otros factores que pudieron causar las diferencias entre estos dos experimentos son diferentes métodos de aplicación, formulaciones, alimentación de las ninfas y edad de las ninfas.

C.2. Aislamientos diferentes al testigo pero poco virulentos

Los únicos tres casos de esta categoría se observaron en el mismo bioensayo (Fig. 4) lo que nos hace pensar que las condiciones particulares de este experimento pudieron influir en los resultados. Podría ser que las condiciones de humedad fueron más adecuadas que en el resto para la penetración del hongo pero sin ser lo suficientemente altas para matar a las ninfas (12% de mortalidad del testigo).

C.3. Aislamientos muy virulentos

Cinco cepas de *M. anisopliae* (4/89, 5/89, NB, ARE-1 y ARE-2) causaron mortalidades del 73 al 97% (Figuras 8 y 11; Cuadros 14,15,20 y 21). La marcada diferencia de estas cepas con respecto al testigo se debió a la virulencia de los hongos y no al efecto de las condiciones

experimentales ya que otros tratamientos con cepas de *Beauveria* sp. y *B. brongniarti* en el mismo bioensayo no difirieron del testigo.

La virulencia de 4/89, 5/89 y NB había sido comprobada previamente en el picudo del algodón y en la broca del café (CATIE-INTA/MIP, 1994) y la de ARE-1 y ARE-2 en *Phyllophaga* spp. (Phillip Shannon 1995, CATIE, com.pers.). A diferencia de *Beauveria* sp. las cepas de *M. anisopliae* con una virulencia comprobada provocaron una alta mortalidad en este experimento. La diferencia en la virulencia en *B. tabaci* de estas dos especies puede atribuirse a muchos factores como: la producción de toxinas que son diferentes entre estas especies (Tanada y Kaya 1994) o a la adherencia de las esporas (Prior 1992). Se ha visto que en *M. anisopliae* la agresividad o especificidad de las cepas aplicadas a escarabajos está asociada a su adhesión (Fargues *et al.* 1976; Fargues y Robert 1983). Podría ser que las dimensiones de la espora de *M. anisopliae*, grande y alargada, favorecieran más la adherencia a las ninfas de *B. tabaci* que las esporas de *Beauveria* sp., pequeñas y redondas, lo que aumentaría su virulencia.

No se puede generalizar la alta virulencia para la especie *M. anisopliae* ya que otros aislamientos de la misma especie (G-rcp-2, C-esp-1, G-Gua-8, C-Rip-2, C-Lbd) no provocaron una mortalidad distinta a la de sus respectivos testigos (Fig 9 y 10).

E. Efecto de los parasitoides

Dado que la metodología no contempló la presencia de parasitoides no se pudo medir con claridad si la mortalidad registrada se debió sólo al hongo, al parasitoide o a su interacción.

La susceptibilidad a micosis de las ninfas de *B. tabaci* cambia al ser parasitadas (Fransen 1995; Jones y Poprawski 1996; Meeke y Fransen, 1995; Poprawski *et al.* 1995; Simmons *et al.* 1996). Al aplicar los tratamientos a ninfas recién parasitadas (en las que la presencia del

parasitoide no es evidente), se pudo matar a la ninfa y al parasitoide. Estos tratamientos podrían no haber tenido efecto sobre ninfas sin parasitar.

Otra posible consecuencia del parasitismo es que el parasitoide mate, por si solo, a la ninfa y muera, sin que su presencia sea evidente. Estas muertes se estarían atribuyendo al efecto de los hongos.

VI. CONCLUSIONES

- La mayoría de cepas evaluadas no fueron capaces de infectar y matar las ninfas de 4o estadio de *B. tabaci*.
- Las cepas 4/89, 5/89, NB, ARE-1 y ARE-2 de *Manisopliae* fueron altamente virulentas para *B. tabaci* lo que las hace promisorias para el combate de esta plaga.
- Cepas cuya virulencia ha sido comprobada en algunos insectos no son obligatoriamente virulentas para *B. tabaci*.
- La presencia de parasitoides en el ensayo es una gran fuente de error del experimento.

VII. RECOMENDACIONES

- Afinar la metodología de bioensayo hasta que los ensayos sean replicables.
- Eliminar la interferencia de los parasitoides o encontrar una metodología para medir su efecto con precisión.
- Evaluar el efecto de la forma y tamaño de las esporas sobre su adherencia y su virulencia en *B. tabaci*.

LITERATURA CITADA

- ALVES, S.B. 1986. Controle microbiano de insetos. Editora Manole, Brazil 407 p.
- _____; STIMAC, J.L. 1995. Delayed germination of *Beauveria bassiana* conidia after prolonged storage at low temperatures. *In* Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.2.
- ALVAREZ, P.; ALFONSECA, L.; ABUD, A.; VILLAR, A.; ROWLAND, R.; MARCANO, E.; BORBON, J.C.; GARRIDO, L. 1993. Las moscas blancas en la República Dominicana. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 34-37.
- ANSOLABEHERE, M.J. 1996. Silverleaf whitefly control in cotton with KNACK insect growth regulator. *In* Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 50.
- ASIATICO, J.M.; ZOEBISCH, T.G. 1992. Control de mosca blanca *Bemisia tabaci* con insecticidas de origen biológico. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 24-25: 1-7.
- BARLETT, A.; GAWEL, N. 1993. Determining whitefly species. Science (technical comments) 261: 1333-1334.
- BEDFORD, D.; BRIDDON, R.; BROWN, J.; ROSELL, R.; MARKHAM, P. 1994. Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Annals of Applied Biology*, 125: 311-325.
- BELLOWS, T.; PERRING, T.; GILL, R.; HEADRICK, D. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 87(2): 195-206.
- BETHKE, J.; PAINE, T.; NUSSLY, G. 1991. Comparative biology, morphometrics and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America*, 84(4): 407-411.
- BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C. 1995. The strategies used by mycopathogens to invade and develop within insect hosts. *In* Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.9.

- BROWN, J. 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. In Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 1-9.
- _____. COATS, S.A.; BEDFORD, I.D.; MARKHAM P.G.; BIRD, J.; FROHLICH, D.R. 1995. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the Whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics* 33(7/8):205-213.
- _____.; COSTA, H.; LAEMMLEN; F. 1992a. First report on whitefly-associated squash silverleaf disorder of cucurbita in Arizona and of white streaking disorder of *Brassica* species in Arizona and California. *Plant Disease*, 76:426 (Abstract).
- _____.; COATS, S.; BEDFORD, Y.; MARKHAM, P.; INNES, J.; BIRD, J. 1992b. Biotypic characterization of *Bemisia tabaci* populations based on esterase profiles, DNA fingerprinting, virus transmission, and bioassay to key host plant species. *Phytopathology*, 82: 1104 (Abstract)
- BRUNT, A.A. 1986. Transmission of diseases. In Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* a literature survey. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 3-11.
- BURBAN, C.; FISHPOOL, L.D.; FAUQUET, C.; FARGETTE, D.; THOUVENEL J.C. 1992. Host-associated Biotypes within West African populations of the whitefly *Bemisia tabaci*(Genn) (Homoptera, Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*. 113: 416-423.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T.S. 1991. Whitefly Biology. *Annual Review of Entomology*. 36: 431-457.
- _____.; MILLER, W.B. 1990. Carbohydrate and amino acid composition of phloem sap and honeydew produced by *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Physiology*. 36: 433-39.
- CABALLERO, R. 1993. Moscas blancas neotropicales (Homoptera: Aleyrodidae): hospedantes, distribución, enemigos naturales e importancia económica. In Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 10-15.
- _____. 1994. Clave de campo para inmaduros de moscas blancas de centroamerica (Homoptera: Aleyrodidae) Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 4 p.

- CABALLERO, R.; RUEDA, A. 1993. Las moscas blancas en Honduras. **In** Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 50-53
- CAMPBELL, B.; DUFFUS, J.; BAUMANN, P. 1993. Determining whitefly species. *Science* (technical comments) 261: 1333.
- CASTLE, S.; HENNEBERRY, T.; WEDDLE, D. 1996. Responses of *Bemisia tabaci* populations in Imperial Valley to bifenthrin and endosulfan in a vial bioassay. **In** Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 52.
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Informe técnico. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 138 p
- CATIE-INTA/MIP. 1994. Uso de hongos entomopatógenos para manejo de plagas en Nicaragua. Informe final del Proyecto Hongos Entomopatógenos Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario, MAG Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORAD-ASDI) (1991-94). Managua, Nicaragua, Noviembre 1994.
- CAVE, R.D. 1994. Es viable el control biológico de un vector de geminivirus, como *Bemisia tabaci*?. *Manejo integral de Plagas* (Costa Rica). 34: 18-22.
- CHALFANT, R.B. 1994. Evaluation of insecticides by chemigation and ground application to control sweetpotato whitefly on cucurbit and tomatoes. *ARS-125* p 85.
- CHARNLEY, A.K. 1994. Host invasion by insect pathogenic fungi. *In* XXVII th. annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology (1994, Montpellier, France). Proceedings. p 31.
- CHERKASOV, V.A. 1986. Effectiveness of the biological method in the greenhouse. *Zashchita-Rastenii* (Russia) 2:54-56.
- CLARK, R.A.; CASAGRANDE, R.A.; WALLACE, D.B. 1982. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle. *Environmental Entomology*, 11: 67-70.
- COCK, M.J.W. 1986. Population ecology. **In** Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* a literature survey. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. 121 p.

- COHEN, S.; DUFFUS, J.; LIU, H. 1992. A new *Bemisia tabaci* biotype in the southwestern United States and its role in silverleaf of squash and transmission of lettuce infectious yellows virus. *Phytopathology*, 82: 86-90.
- COMISION NACIONAL DE MOSCA BLANCA. 1993. Las moscas blancas en Nicaragua. **In** Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 54-57.
- COSTA, H.; ULLMAN, D.; JOHNSON, M.; TABASHNICK, B. 1993. Association between *Bemisia tabaci* density and reduced growth, yellowing, and stem blanching off lettuce and kai choy. *Plant Disease*, 77:969-972.
- CUBILLO, D.; CHACON, A.; HILJE, L. 1994. Producción de plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 34: 23-27.
- DARDON, D. 1993. Las moscas blancas en Guatemala. **In** Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 38-41.
- DAVIDSON, E.W.; PATRON, R.; VEY, A.; FRUTOS, R.; LEGER, R.; LACEY, L.A.; HENDRIX, D. 1995. *In* Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.15.
- DE BARRO, P. 1995. *Bemisia tabaci* biotype B: a review of its biology, distribution and control. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation. Canberra, Australia. Division of entomology Technical Paper No.33. 57 p.
- DENNEHY, T.J.; LIVY, W.; RUSSELL, J.; XIAOHUA, L.; WIGERT, M. 1996. Monitoring and management of whitefly resistance to insecticides in Arizona. **In** Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 58.
- DITTRICH, V.; ERNST, G.H.; RUESH, O.; UK, S. 1990. Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera, Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala and Nicaragua. *Journal of Economic Entomology*. 83: 1665-1670.
- DRUMMOND, J.; HEALE, J.B.; GILLESPIE, A.T. 1987. Germination and effect of reduced humidity on expression of pathogenicity in *Verticillium lecanii* against the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *Annals of Applied Biology*, 111: 193-201.

- FARGUES, J.F. 1972. Étude des conditions d'infection des larves de dory-phore *Leptinotarsa decemlineata* Say, par *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. (Fungi Imperfecti). *Entomophaga*, 17: 319-337.
- _____; ROBERT, P.H.; VEY, A. 1976. Le rôle du tégument et de la défense cellulaire des coleoptères hôtes dans la spécificité des souches entomopathogènes de *Metarhizium anisopliae* (Fungi Imperfecti). *C.R. Acad. Sci. Paris Ser. D* 282: 2223-2226.
- _____; _____; _____; PAIS, M. 1986. Toxicité relative de la destruxine E pour lépidoptère *Galleria mellonella* L. *C.R. Acad. Sci. Paris Ser. III* 303: 83-86.
- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*. 23:409-442.
- FRANSEN, J.J. 1987. *Aschersonia aleyrodis* as a microbial control agent of greenhouse whitefly. Tesis de doctorado. Holanda. Universidad de Wageningen. 167 p.
- FRANSEN, J.J. 1995. Multitrophic interactions between entomopathogenic fungi, parasitoids and insect hosts. *In Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts*. p.19.
- FUXA, J. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology*. 32:225-251.
- GERLING, D. 1990. Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept, Andover, UK. p: 13-46.
- GERLING, D. 1992. Approaches to the biological control of whiteflies. *Florida Entomologist (USA)* 75(4):446-456.
- GILL, R.J. 1990. The morphology of Whiteflies. *In Gerling, D. ed. Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept, Andover, UK. p: 13-46.
- GREATHEAD, H.A. 1986. Host plants. *In Cock, M.J.W. (ed.). Bemisia tabaci a literature survey*. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 3-11.
- HALL, R.A. 1982. Control of whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouses by two isolates of the fungus *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology*, 101:1-11.
- _____. 1993. The use of pathogens to control whiteflies in Europe and the tropics: possibilities for integrated control. *Memoria del II taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus*, Managua, Nicaragua. 1993.

- HALL, R.A.; PETERKIN, D.; POLLARD, G. 1993. A system of caging *Thrips palmi* for laboratory bioassay of pathogens. *Florida Entomologist (USA)* 76(1): 171-175.
- _____; _____. 1994. Fungal control of whitefly, *Thrips palmi* and sugarcane froghopper in Trinidad and Tobago. *In XXVII th. annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology (1994, Montpellier, France). Proceedings.* p 277.
- HILJE, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo del tomate. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 29:51-57.
- _____. 1994. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. *In* Mata, M.; Dardón, D.; Salguero, V. (eds). *Biología y Manejo del complejo mosca blanca-virosis. Memorias del III taller centroamericano y del caribe sobre mosca blanca, Antigua Guatemala, Guatemala.* p. 53-69.
- _____; CUBILLO, D.; SEGURA, S. 1993a. Observaciones ecológicas sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 30:24-30.
- _____; LASTRA, R.; ZOEBSCH, T.; CALVO, G.; SEGURA, L.; BARRANTES, L.; ALPIZAR, D.; AMADOR, R. 1993b. Las moscas blancas en Costa Rica. *In* Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). *Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas.* Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 58-63.
- _____; ARBOLEDA, O. (eds). 1993. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). *Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas.* CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p.66.
- HOELMER, K.; OSBORNE, L.; YOKOMI, R. 1991. Foliage disorders in florida associated with feeding by sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Florida Entomologist* 74(1): 162-166.
- HOROWITZ, A.R.; PODOLER, H.; GERLING, D. 1984. Life table analysis of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in cotton fields in Israel. *Acta Oecológica, Oecológica Applicata.* 5, 221-223.
- ISHAAYA, Y.; AUSTERWEIL, M.; FRANKEL, H. 1986. Effect of the petroleum oil Virol on toxicity and chemical residue of fenprothrin applied against adults of *B. tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) as high and low volume sprays. *Journal of Economic Entomology* 79:596-599.
- JANZEN, D.H. 1983. Insectos. *In* Janzen, D.H. (ed.). *Historia natural de Costa Rica.* Editorial de la Universidad de Costa Rica, Costa Rica. p 631-793.

- JONES, W.A.; POPRAWSKI, T.J. 1996. *Bemisia argentifolii* parasitized by *Eretmocerus* sp. is immune to infection by *Beauveria bassiana*. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 109.
- _____; WRAIGHT, S.P. 1996. Effects of fungal pathogen applications in vegetables on the foraging activity of native parasitoids. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 110.
- KANAGARATNAM, P.; HALL, R.A.; BURGESS, H.D. 1982. Control of glasshouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, by an "aphid" strain of the fungus *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology*, 100: 213-219.
- TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press Inc., San Diego, USA. 666 p.
- KRASNOFF, S.B.; BELFOSKY, G.N.; GLOER, K.B.; GLOER, J.B.; GIBSON, D. 1995. New destruxins from *Aschersonia* sp. In Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.75.
- LANDA, Z.; OSBORNE, L.; LOPEZ, F.; EYAL, J. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. *Biological Control* 4: 341-350
- LASTRA, R. 1993. Los geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. In *Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica)*. Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 16-19.
- LATHEEF, M.A.; WOLFENBARGER, D.A. 1996. Toxicity of mixtures of fenprothrin and bifenthrin with acephate against resistant and susceptible strains of sweetpotato whitefly. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 69.
- LEGER, R.J.St.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M.J.; ROBERTS D.W. 1995. Signal transduction in the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. In Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.75.

- LOPEZ-AVILA, A. 1986. Taxonomy and biology. In Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* a literature survey. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 3-11.
- _____; COCK, M.J.W. 1986. Economic damage. In Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* a literature survey. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 51-53.
- LUBLINKHOF, J.; ODOM, P.N. 1996. Buprofezin (Applaud), a new IGR for whitefly control. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 72.
- MAINS, E.B. 1959. North american species of *Aschersonia* parasitic on Aleyrodidae. *Journal of Insect Pathology*, 1: 43-47.
- MARTINEZ-CARRILLO, J.L. 1996. Trend in resistance in whitefly populations from Yaqui valley, Sonora, Mexico. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 73.
- MATTHEWS, G.A. 1986. Overview of chemical control with special reference to cotton crops. In Cock, M.J.W. (ed.). *Bemisia tabaci* a literature survey. International Institute of Biological Control, Ascot, UK. p. 55-58.
- MEADE, D.L.; BYRNE, D.N. 1991. The use of *Verticillium lecanii* against subimaginal instars of *Bemisia tabaci*. *Journal of Invertebrate Pathology (USA)* 57(2): 296-298.
- MEEKES, E.T.M.; FRANSEN, J.J. 1995. Pathogenicity of entomopathogenic fungus of the genus *Aschersonia* against whitefly. In Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.43.
- MONTGOMERY, D.C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica. 589 p.
- MORALES, F.J. 1993. Virus y epidemiología. Memoria del II taller latinoamericano y del caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Managua, Nicaragua. p. 9-16.
- MOUND, L.A. 1965. Effect of whitefly (*Bemisia tabaci*) on cotton in the Sudan Gezira. *Empire Cotton Growing Review*. 42, 290-294.

- NATWICK, E. 1996a. Control of silverleaf whitefly in cotton using insecticide rotations. **In** Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 76.
- _____. 1996b. Efficacy evaluation of insecticides for silverleaf whitefly control in cantaloupe. **In** Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 78.
- _____; MAYBERRY, K. 1996. Effects of imidacloprid as trasplant drench and soil treatments on colonization of silverleaf whitefly, phytotoxicity, plant growth and marketability of cauliflower. **In** Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 77.
- NIER, T.; RIVERA, F.; BERMUDEZ, J.C.; DOMINGUEZ, Y.; BENAVIDES, C.; ULLOA, 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. *Revista Mexicana de Micología (México)* 7:149-156.
- ONSTAD, D.W.; CARRUTHERS, R.I. 1990. Epizootiological models of insect diseases. *Annual Review of Entomology*. 35:399-419.
- OSBORNE, L.; LANDA, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist (USA)* 75(4): 457-471.
- PERRING, M.; COOPER, A.; RODRIGUEZ, R.; FARRAR, C.; BELLOWS, T. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science (Washington D.C.)* 259: 74-77.
- _____; FARRAR, C.; COOPER, A.; BELLOWS, T. 1993. Determining whitefly species. *Science (technical comments)* 261: 1334-1335.
- POPRAWSKI, T.J.; PARKER, P.E.; WENDEL, L.E.; CARRUTHERS, R.I. 1995. Differential susceptibility of beneficial insects to *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. **In** Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.50.

- PRABHAKER, N.; TOSCANO, N.; CASTLE, S.; HENNEBERRY, T. 1996a. Effect of synergist pyrethroid and organophosphate resistance in *Bemisia tabaci*. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 85.
- _____; TOSCANO, N.; CASTLE, S.; HENNEBERRY, T. 1996b. Evaluation of insecticide rotations and mixtures as a resistance management strategy for whiteflies. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 86.
- PRIOR, 1992. Discovery and characterization of fungal pathogens. In Biological control of locust and grasshoppers (1991, Cotonou, Benin). Proceedings. Eds. C.J. Lomer; C. Prior. CAB International, International Institute of Tropical Agriculture. p 159-180.
- QUINLAN, R.J. 1988. Use of fungi to control insects in glasshouses. In Burges, M.N. (ed.). Fungi in biological control systems. Manchester University Press, Manchester. p 18-36.
- RAMIREZ, P.; MAXWELL, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. Manejo Integrado de plagas (Costa Rica) 36: 22-27.
- ROBERTS, D.W. 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. In Burges, H.D. (ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London p.441-464.
- ROBERTS, D.W. 1989. World picture of biological control of insects by fungi. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.84, Supl.III, 89-100.
- RILEY, D.; SPARKS, A. Managing the sweetpotato whitefly in the lower Rio Grande valley of Texas. Texas Agricultural Extension Service. Publicación técnica B-5082.
- RIVAS, G.G.; LASTRA, R.; HILJE, L. 1994. Retardo de la virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 31: 12-16.
- SALGUERO, V. 1993. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. In Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 20-26.
- _____; MORALES, J. 1994. Eficiencia de insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 31: 25-28.

- SAS INSTITUTE INC. 1989. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth edition, Volume 2. Cary, NC: SAS Institute Inc. 1989. 486 p.
- SERRANO, L.; SERMEÑO, J.; LARIOS, J. 1993. Las moscas blancas en el Salvador. In Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 42-49.
- SHANNON, P.J. 1995. Taller sobre control biológico aumentativo en america tropical y subtropical CATIE, Turrialba, Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 38:51-62.
- _____ ; SMITH, S.; HIDALGO, E. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costaricenses y exóticos de *Metahizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae). In: Morón, M.A. de. Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Mexico. p. 203-215.
- SIMMONS, G.S.; HOELMER, K.; JARONSKI, S.; LORD, J. 1996. Effect of *Beauveria bassiana* GHA (Mycotrol WP) on parasitoids of *Bemisia* in spring melons. In Fourth Annual Progress Review of the 5-year National Research and Action Plan for Development of Management and Control Methodology for Silverleaf Whitefly (1996, San Antonio, Texas, USA). Abstracts. Eds. T.J. Henneberry; N.C. Toscano; R.M. Faust; J.R. Coppedge. p 135.
- STEEL, R.D.G.; TORRIE, J.H. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos. 2a ed. McGraw Hill, Mexico.
- TANADA, Y.; KAYA, H.K. 1993. Insect Pathology. Academic Press Inc., San Diego. 666 p.
- UNIVERSITY OF CALIFORNIA. 1995. Whiteflies in California: a resource for cooperative extension. UC IPM publication 19. 53 p.
- VAN LENTEREN, J.C.; NOLDUS, L.P.J.J. 1990. Whitefly-plant relations. In Gerlin, D. Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept, Andover, UK. p: 13-46.
- VAN LENTEREN, J.C.; WOETS, J. 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. Annual Review of Entomology, 33:239-69.
- WRAIGHT, S.; CARRUTHERS R.I.; JARONSKI, S.T.; BRADLEY, C.A. 1995. Development and field testing of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for biological control of whiteflies. In Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts. p.75.

YOKOMI, R.; HOELMER, K.; OSBORNE, L. 1990. Relationships between the sweetpotato whitefly and the squash silverleaf disorder. *Phytopathology*, 80: 895-900.

ZIMMERMANN, G. 1986. The "*Galleria* bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 102: 213-215.

ANEXOS

Anexo 1: Comprobación de los supuestos del modelo lineal aditivo para los residuos de los porcentajes de mortalidad de los diferentes bioensayos

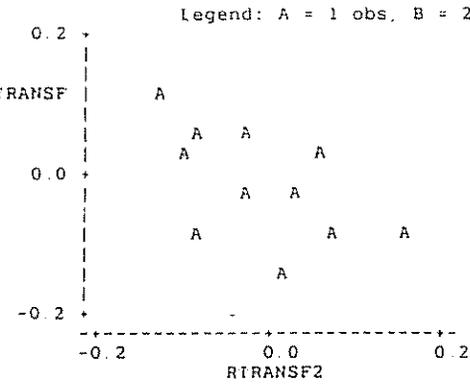
Cuadro 24: Comprobación los supuestos: los residuos tienen una media igual a cero, una distribución normal y varianzas homogéneas

Bioensayo	Media		Normalidad		Homogeneidad (Barlett)	
	T	Prob. T	W	Prob. W	Chi Cuadr	Prob. Chi C.
1	0	1.000	0.967	0.832	1.679	0.642
2	0	1.000	0.983	0.866	10.339	0.324
3	0	1.000	0.965	0.429	8.952	0.256
4	0	1.000	0.948	0.193	6.267	0.394
5	0	1.000	0.969	0.579	3.811	0.702
6	0	1.000	0.963	0.389	6.073	0.531
7	0	1.000	0.938	0.231	7.858	0.097
8	0	1.000	0.945	0.413	1.605	0.658

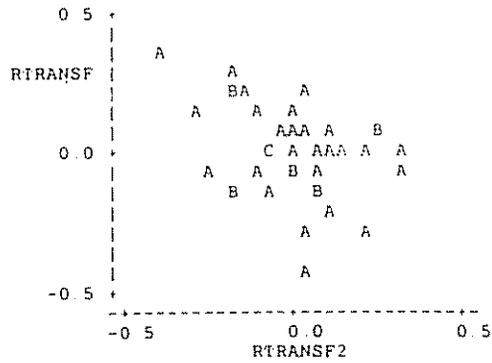
Las hipótesis nulas para estas tres pruebas son:

- Para la media del error igual a cero $H_0: \mu_{(e)} = 0$
- Para la distribución de los residuos H_0 : Los residuos tienen una distribución normal
- Para la homogeneidad de varianzas H_0 : Las varianzas sí tienen una distribución normal

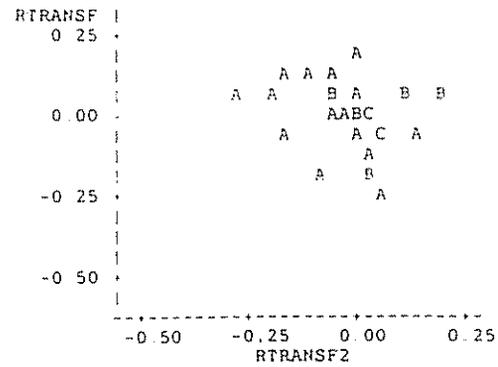
En ninguno de los bioensayos se rechaza la hipótesis nula de ninguna de las tres pruebas por lo que se cumplen los tres supuestos para todos los bioensayos.



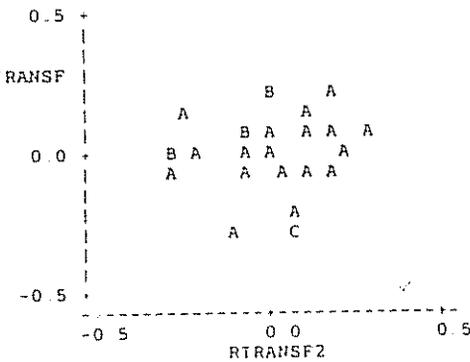
Bioensayo 1



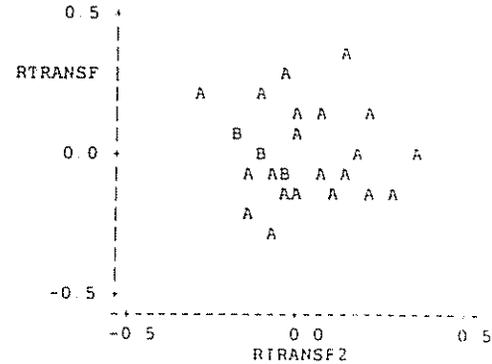
Bioensayo 2



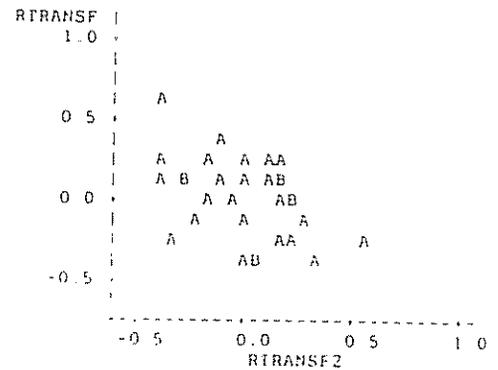
Bioensayo 3



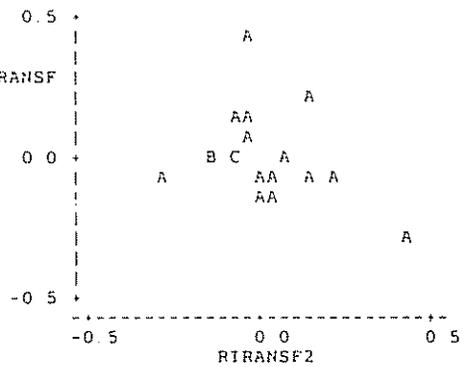
Bioensayo 4



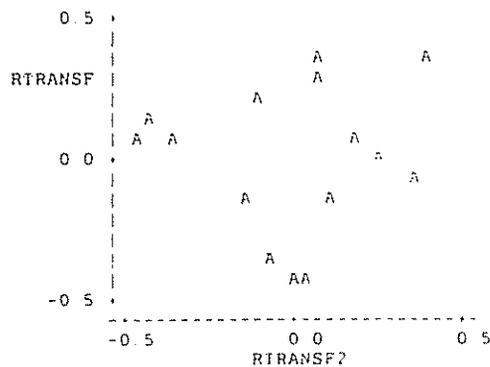
Bioensayo 5



Bioensayo 6



Bioensayo 7



Bioensayo 8

Figura 11: Comprobación gráfica de la independencia de medias para los 8 bioensayos

Se observa que para ninguno de los bioensayos existe una tendencia muy marcada en la distribución de los datos en el gráfico por lo que se cumple el supuesto de independencia entre los residuos para todos los casos.