

CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA

Memoria presentada por

Angel FERNÁNDEZ MARTÍ

En vista de la obtención del

DIPLOMA DE ESTUDIOS AVANZADOS (D.E.A.)

Opción Protección de Cultivos
Université des Antilles-Guyane (Guadeloupe, France)

**DETERMINACION DE LA PERSISTENCIA DEL INOCULO DE
METARHIZIUM ANISOPLIAE Y *PAECILOMYCES SP.* APLICADO
SOBRE FOLLAJE DE TOMATE Y MELON Y SU CAPACIDAD DE
REPRODUCCION SOBRE NINFAS Y ADULTOS DE MOSCA BLANCA**

Bajo la supervisión de:

Eduardo HIDALGO, M. Sc. Entomología

Manuel CARBALLO, M. Sc. Entomología

Turrialba, Costa Rica
2005

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, desearía expresar mi más sincero agradecimiento a Eduardo Hidalgo, por haberme aceptado en el seno de su equipo como estudiante de pasantía y haberme guiado y aconsejado durante este tiempo.

Me gustaría igualmente agradecer a Manuel Carballo por su seguimiento y consejos ofrecidos a lo largo de mi estancia.

Debo expresar todo mi reconocimiento a Armando Portuguez por su ayuda práctica y puesta a disposición de todos los medios técnicos necesarios, al igual que por su gran amistad ofrecida durante estos meses.

No puedo olvidar tampoco a todos los estudiantes y otras personas que he encontrado en Costa Rica, ya que sin ellos mi pasantía no hubiera sido la misma.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. LITERATURA.....	3
2.1. EL TOMATE	3
2.2. EL MELON.....	4
2.3. LA MOSCA BLANCA.....	5
2.3.1. Origen de las Moscas Blancas.....	5
2.3.2. Biología de las Moscas Blanca.....	5
2.3.3. Daños causados por <i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporarium</i>	7
2.3.4. Manejo Integrado de Plagas (MIP)	8
2.3.4.1. Opciones permanentes para luchar contra los enemigos del tomate.....	9
2.4. LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS.....	11
2.4.1. Generalidades y modo de acción.....	12
2.4.2. Formulaciones de los hongos entomopatógenos.....	13
3. MATERIALES Y METODOS	16
3.1. LOCALIZACION	16
3.2. PLANTAS HOSPEDERAS	16
3.3. CRIA DE MOSCA BLANCA	16
3.4. REPRODUCCIÓN DEL HONGO.....	17
3.4.1. Medio de Cultivo.....	17
3.4.2. Recolecta de los Hongos	17
3.4.3. Producción masiva del Hongo.....	17
3.4.4. Determinación de la concentración de conidias	18
3.4.5. Porcentaje de germinación del hongo	19
3.4.6. Formulaciones de Hongos Entomopatógenos	20
3.5. ENSAYOS REALIZADOS EN INVERNADERO	20
3.5.1. ENSAYO I: Evaluación de la formulación de dos hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca en tomate bajo condiciones de invernadero en La Orieta.....	20
3.5.1.1. Establecimiento del ensayo.....	20
3.5.1.2. Tratamientos y diseño experimental.....	21
3.5.1.3. Variables evaluadas.....	22
3.5.2. Ensayo II: Evaluación de la persistencia de dos hongos entomopatógenos sobre <i>Bemisia tabaci</i> usando diferentes formulaciones.....	24
3.5.2.1. Establecimiento del experimento.....	24
3.5.2.2. Tratamientos y diseño experimental.....	24
A. Persistencia de los hongos en plantas con liberación de mosca blanca (<i>B. tabaci</i>).....	26
A.1). Determinación de persistencia del hongo en invernadero.....	25
A.2). Determinación de la persistencia de los hongos al aire libre	25
B. Persistencia de los hongos en plantas sin liberación de mosca blanca (<i>B. tabaci</i>).....	26
3.5.2.3. Variables evaluadas.....	26
4. RESULTADOS	27
4.1. ENSAYO I: Evaluación de la formulación de dos hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca en tomate bajo condiciones de invernadero en La Orieta.....	27
4.1.1. Población de adultos de mosca blanca	27

4.1.2. Porcentaje de Infección	28
4.1.2.1. Durante las 3 primeras semanas	28
4.1.2.2. Observaciones posteriores al ensayo	29
4.1.3. Producción de Conidias por adulto de mosca blanca	30
4.2. ENSAYO II: Evaluación de la persistencia de dos hongos entomopatógenos sobre <i>Bemisia tabaci</i> usando diferentes formulaciones	31
4.2.1. Prueba en tomate con liberación de <i>Bemisia tabaci</i> bajo condiciones de invernadero	30
4.2.2. Prueba en tomate sin liberación de <i>Bemisia tabaci</i> al aire libre	32
4.2.3. Prueba en melón con liberación de <i>Bemisia tabaci</i> bajo condiciones de invernadero	33
4.2.4. Prueba en melón con liberación de <i>Bemisia tabaci</i> al aire libre	34
5. DISCUSIÓN	36
6. CONCLUSIONES	38
7. PERSPECTIVAS	38
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	39
9. ANEXOS	44

Resumen

La mosca blanca es una de las plagas más importantes en América Central y el Caribe. El daño más perjudicial por este insecto es la transmisión de geminivirus, especialmente en plantas de tomate y de frijol. Dentro de las tácticas del Manejo Integrado de Plagas (MIP), el control biológico se presenta como una alternativa promisorio para la reducción del uso de plaguicidas sintéticos. Este comprende el uso de los enemigos naturales (depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos) para el manejo de plagas. El objetivo general de mi proyecto fue determinar la persistencia de inóculo de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp.* aplicado sobre follaje de tomate y melón y su capacidad de reproducción sobre ninfas y adultos de mosca blanca bajo condiciones de invernadero. En el ensayo realizado en La Orieta efectuamos tres aplicaciones con una semana de intervalo entre cada aplicación, mientras que en el ensayo realizado en CATIE solamente se procedió a una aplicación. La concentración de nuestros formulados fue de 10^7 conidias/ml. Para verificar la persistencia del inóculo sobre los foliolos, los foliolos fueron cortados en círculos de $3,14 \text{ cm}^2$ y guardados a incubar en placas con PDA durante una semana. El hongo más virulento en nuestro ensayo contra la mosca blanca fue *Paecilomyces*, de hecho él presentó los mayores niveles de infección sobre el estadio ninfal IV así como en los adultos a partir de la tercera semana. La alta capacidad de dispersión y colonización de *Paecilomyces* pudo haber enmascarado o incluso obstaculizado el efecto de *Metarhizium* en los ensayos realizados en esta investigación. Al cabo de la octava semana fue cuando se produjo un porcentaje del 100% sobre los adultos. El número de conidias obtenidas por adulto fue de 1.025×10^6 en el tratamiento *Paecilomyces* + Agua.

Palabras Clave: Lucha biológica, mosca blanca, *Paecilomyces sp.*, *Metarhizium anisopliae*, persistencia, capacidad de multiplicación, formulación.

Abstract

Whiteflies are one of the most important insect pests in Central America and the Caribbean, causing direct and indirect damages, especially through the transmission of the Gemini virus in tomatoes and beans. Within the concept of integrated pest management (IPM), biological control offers a promising avenue to reduce dependence on and use of chemical pesticides. This includes the use of natural enemies (predators, parasitoids and entomopathogenic fungi) for the control of insect pests. The general objective of the study was to evaluate the persistence of *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces sp.* Conidia applied to tomato and melon foliage, and their multiplication capacity on nymphs and adult whiteflies under greenhouse conditions. In the experiment carried out in La Orieta, fungal formulations were applied three times, with one-week intervals between applications, while in the experiments carried out at CATIE, the fungi were only applied once. The concentration of the formulation was of 1×10^7 conidia/ml. To verify the inoculum persistence of the foliage, circular leaf cuttings of 3.14cm^2 , containing fungi and Whiteflies at different stages of development were placed on PDA plates and kept in an incubator. At the end of 8 weeks, 100% of adults were parasitized by the fungi. The most virulent fungi tested was *Paecilomyces sp.*, presenting the highest levels of infection of stage IV nymphs, as well as adults, as of the third week of experimentation in the greenhouse. The high dispersal and colonisation capacity of *Paecilomyces sp.* may have masked or even obstructed the effect of *Metarhizium anisopliae* in this study. The number of conidia obtained per adult was 1.025×10^6 in the treatment with *Paecilomyces sp.* and water.

Key Words: Biological control, White Fly, *Paecilomyces sp.*, *Metarhizium anisopliae*, persistence, multiplication capacity, formulation.

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1.	Variación del desarrollo de la mosca blanca en función de la temperatura..	7
Cuadro 2.	Distribución aleatoria de las parcelas bajo condiciones de invernadero en La Orieta.....	21
Figura 1.	Ciclo de desarrollo de la mosca blanca.....	7
Figura 2.	Estado poblacional de adultos de mosca blanca antes y una semana después de la tercera aplicación semanal. El nivel 3 muestra una población Alta (<50 adultos), el nivel 2 muestra una población Media (20-50 adultos por hoja) y el Nivel 1 una población Baja (>20 adultos). Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag), <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.....	27
Figura 3.	Porcentaje de Infección producido sobre adultos de mosca blanca durante las 3 primeras semanas y a la 8ª semana. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag), <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.....	29
Figura 4.	Porcentaje de Infección producido sobre ninfas IV de mosca blanca durante las 3 primeras semanas y a la 8ª semana. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag), <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.....	29
Figura 5.	Nº de conidias producidos por el hongo sobre el estado adulto de mosca blanca.....	30
Figura 6.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B. tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	31
Figura 7.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B. tabaci</i> durante 3 semanas después la de aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	31
Figura 8.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos sin liberación de <i>B. tabaci</i> durante 3 semanas después la de aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	32
Figura 9.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos sin liberación de <i>B. tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	32
Figura 10.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B. tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag),	

	<i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	33
Figura 11.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B.tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	34
Figura 12.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B.tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	35
Figura 13.	Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de <i>B.tabaci</i> durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), <i>Paecilomyces</i> + Agua (P+Ag), <i>Paecilomyces</i> + Aceite (P+Ac), <i>Metarhizium</i> + Agua (M+Ag) y <i>Metarhizium</i> + Aceite (M+Ac).....	35

1. INTRODUCCIÓN

(La mosca blanca (Homoptera: Aleyrodidae) es una de las plagas más importantes en América Central y el Caribe, donde ha sido encontrada en por lo menos 84 especies de plantas (Herrera et al. 1999).) Su importancia es tal que se han diversificado e intensificado las investigaciones, con la producción de una gran cantidad de información científica y el diseño de modelos de investigación muy útiles para otros problemas similares.

(Se han propuesto diferentes tácticas para el manejo de esta plaga las cuales forman parte del muy conocido enfoque de Manejo Integrado de Plagas (MIP) el cual consiste en la combinación de varios métodos para mantener las plagas a niveles que no causen pérdidas de importancia económica y se reduzca el perjuicio ambiental y en la salud (Hilje, 2001).)

(Dentro de las tácticas del Manejo Integrado de Plagas (MIP), el control biológico se presenta como una alternativa promisoría para la reducción del uso de plaguicidas sintéticos. Este comprende el uso de los enemigos naturales (depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos) para el manejo de plagas (CATIE, 1990).) Esta táctica, se ha constituido actualmente como uno de los temas de investigación más importantes para el manejo de la mosca blanca en el laboratorio de fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Como parte de las investigaciones que se realizan en control biológico, se está trabajando en el desarrollo de un bio-insecticida con la meta de ofrecer al agricultor productos de protección vegetal no contaminantes para el medio ambiente y compatible con las prácticas de control de insecto plaga, tanto para la producción convencional en la cual se recomiendan estrategias MIP como en las de agricultura orgánica.

El eje principal de este estudio es el desarrollo de un nuevo bio-insecticida destinado al control de la mosca blanca en cultivos hortícolas de invernadero, basados en los hongos entomopatógenos *Metarhizium sp* y *Paecilomyces sp*. Estos hongos han sido citados en la literatura como buenos agentes biocontroladores gracias a su alta

capacidad patogénica y virulenta contra la mosca blanca (Herrera *et al.* 1999, Ruiz Vega y Aquino Bolaños, 1999, Vázquez Moreno, 2002).

El objetivo general de esta investigación fue evaluar diferentes formulaciones de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* bajo condiciones de campo y de invernadero contra los estadios ninfales y adultos de las dos especies de mosca blanca (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*) con mayor incidencia en los cultivos de tomate y melón.

Como objetivos específicos tuvimos:

- Determinar la persistencia del inóculo de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* aplicado sobre el follaje de tomate y melón.
- Evaluar la capacidad de multiplicación de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* sobre ninfas y adultos de mosca blanca bajo condiciones de invernadero.
- Evaluar la efectividad de tres formulaciones de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp*. para el control de *Trialeurodes vaporariorum* a nivel de invernadero comercial.

2. LITERATURA

2.1. EL TOMATE

El tomate tiene su centro de origen en la zona oeste de América del Sur, entre Chile y Colombia, donde se encuentra creciendo en forma silvestre, al igual que todas las otras especies del género *Lycopersicon* (Nuez, 1995). Su domesticación habría ocurrido en México (Davis et Dinham, 2002) a partir del tomate cereza (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) que crece espontáneamente en toda la América tropical y subtropical. Desde esta zona y con el nombre vulgar de tomate (derivado de tomatl en el lenguaje Nahuatl de México), fue llevado a Europa a inicios del siglo XVI, donde fue considerada como planta venenosa por la presencia de tomatina, un alcaloide presente en sus hojas y frutos inmaduros. Por esto, inicialmente se usó sólo como planta ornamental y en los siglos siguientes, al comprobarse la inocuidad del alcaloide, pasó a constituirse en un producto central para la alimentación en los países europeos, en especial los de la zona mediterránea. En la actualidad, es una especie de gran y creciente importancia en el mundo, donde destacan China, India, Estados Unidos y Egipto, como los países de mayor superficie cultivada y, al mismo tiempo, como ejemplos de su amplia distribución actual.

El tomate puede ser cultivado al aire libre o bajo condiciones de invernadero. La planta se cosecha principalmente en invernaderos esencialmente en América del Norte así como en Europa, ya que los sistemas de producción son extremadamente intensivos y pueden producir rendimientos verdaderamente elevados. La producción al aire libre es mucho menos intensiva, y es el sistema más común en las regiones tropicales y subtropicales (Davis et Dinham, 2002).

Es una planta monocotiledónea, ramificada, con tallo sarmentado, sosteniéndose difícilmente sin la ayuda de soportes artificiales. El tomate tiene un sistema radicular importante. Las raíces pueden alcanzar los 90 cm de largo, pero las principales raíces alimenticias se encuentran entre 25 y 35 cm de profundidad (CIRAD, 2002).

Las hojas comprenden un tamaño de 10 a 50 cm de longitud, ellas son compuestas y la mayoría comprenden un par de folíolos (normalmente tres) a parte del folíolo terminal. Ellas son de color verde oscuro, peludas, un poco dentadas y grisáceos en la cara inferior. Las flores, hermafroditas, cuentan en principio con autofecundación, pero el porcentaje de polinización cruzada aumenta con el número de insectos polinizadores (Chamarro, 1995).

El fruto corresponde a una típica baya, generada a partir de un ovario sincárpico de dos o más carpelos, con una placentación axial, y con numerosos óvulos. Los tomates son a menudo rojos, pero existen variedades cuyas frutas son amarillas e incluso blancas. El grosor de los tomates varía a menudo dependiendo de la riqueza del suelo, la temperatura así como de la cantidad de frutas por planta. Los tomates suelen pesar entre 60 y 200 gramos (Anderlini, 1970).

El tomate es una planta que necesita calor para asegurar el ciclo completo de su vegetación. La germinación de las semillas es óptima a temperaturas comprendidas entre 18 y 24°C, lenta a temperaturas entre 10 y 18°C, y se vuelve muy lenta si las temperaturas son inferiores a 10°C.

El crecimiento de la planta requiere temperaturas medias situadas entre 23 y 24°C en el día y 14°C en la noche (Anderlini, 1970). A partir de 13°C, el crecimiento se detiene y a temperaturas inferiores a 2°C la planta se hiela completamente.

La planta necesita suelos profundos, húmedos, ricos en humus y nutrientes, de buena textura y ligeramente ácidos con un pH entre 6 y 7. El terreno debe estar bien drenado (Fernandez et al., 1992).

2.2. EL MELON

El melón (*Cucumis melo L.*) es una planta tropical que pertenece a la familia de las cucurbitáceas. Algunos autores sitúan el origen de dicha planta en India, otros lo hacen en África. Sabemos que los egipcios lo cultivaban ya 5 siglos antes de nuestra era. Hacia el siglo primero, el melón atravesó el Mediterráneo llegando así a las costas griegas, italianas y españolas (Moral, 1969). El melón es una planta trepadora, cultivada por sus frutos tan azucarados y perfumados. Estos últimos son circulares u ovalados, verdes, amarillos o marrones y con el interior anaranjado o verde según las variedades.

El melón posee un tallo principal herbáceo y rastrero. Sus hojas redondeadas son rugosas al tocarlas. Las flores masculinas aparecen en primer lugar apareciendo más tarde las femeninas, las cuales son hermafroditas. Ellas son fecundadas por los insectos. El desarrollo de los frutos es bastante rápido necesitando un mes y medio más o menos (Marco-Moll, 1972).

La planta exige calor y luminosidad, con un óptimo de 25°C durante el día desde la germinación y de 20°C la noche. Su cero vegetativo se sitúa entorno a los 12-13°C. El melón requiere suelos bien drenados, con un pH óptimo de 6.5 a 7.5 bien provistos en caliza activa. Los suelos arcillo-calcáreos son particularmente indicados (Larousse Agricole, 2002).

2.3. LA MOSCA BLANCA

2.3.1. Origen de las Moscas Blancas

(El origen de *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* es actualmente desconocido (Byrne y Bellows, 1991). Lopez-Avila (1986) sugiere que ellas vienen de África mientras que Mound (citado por Lopez-Avila, 1986) sitúa sus orígenes en la región Oriental desde donde habrían sido introducidas en América y en África por el hombre. *Bemisia tabaci* fue descrita por primera vez en Grecia hace más de cien años (Lopez-Avila, 1986). En el Salvador, ellas fueron encontradas por primera vez en los cultivos algodóneros en 1961 extendiéndose así por el resto de América Central entre 1964 y 1970 (CATIE, 1990). La mosca blanca es una de las plagas más importantes de América Central y el Caribe (Hilje y Arboleda, 1993), ya que ellas provocan pérdidas bastante considerables tanto en los invernaderos de clima tropical como en los de clima templado.)

2.3.2. Biología de las Moscas Blanca

(La mosca blanca es un insecto diminuto, raramente de más de 2-3 mm de longitud que se asemejan a pequeñas polillas y pertenece al orden de los Homópteros, familia de las Aleyrodidae que se dividen al mismo tiempo en 2 subfamilias: Aleurodicinae y Aleyrodynae. Las dos especies más perjudiciales son: el aleurode de invernadero *Trialeurodes vaporariorum* y el aleurode del tabaco *Bemisia tabaci*.

Podemos encontrar ambas especies tanto en cultivos hortícolas (tomate, pepino, chile, berenjena...) como en plantas ornamentales (Hibiscus...).

Bemisia y *Trialeurodes* presentan una fisonomía similar. Los huevos son blancos amarillentos convirtiéndose más tarde en negros. También son ovalados, de 0.2 mm de largo dispuestos generalmente formando un círculo entre ellos (Byrne y Bellows, 1991).

Los aleurodes pasan por 4 estadios ninfales (**Figura 1**) (Byrne y Bellows, 1991; Lopez-Avila, 1984). Los estadios larvarios suelen ser de color amarillo pálido convirtiéndose más tarde en transparentes, ovalados y planos (Byrne y Bellows, 1991).

Las ninfas (pupas) de *B. tabaci* L4 se desarrollan dentro de un pupario, de ahí su nombre de pupa. Las pupas son inmóviles, amarillas, ovaladas y sus ojos adquieren un color enrojecido, a diferencia de las ninfas de *T. vaporariorum*, cuyas pupas son de un color menos intenso y los ojos no son rojizos.

El adulto de *B. tabaci* es un pequeño insecto que mide 1 mm de longitud (en general más pequeño que *T. vaporariorum*), él posee 2 pares de alas bien desarrolladas, patas y su cuerpo esta cubierto de un polvo blanco ceroso sobre las alas. Este polvo generalmente es colocado por las hembras sobre los huevos durante la puesta. Se ve un pequeño círculo blanco bien visible en la parte inferior de las hojas (Perring et al., 1993).

Otras diferencias significativas entre las dos especies estudiadas de mosca blanca son: *T. vaporariorum* posee sobre el disco dorsal expansiones cerosas y varios pares de tubos cerosos mientras que *Bemisia* tiene una forma más irregular, con expansiones cerosas menos numerosas y más cortas. La población se presenta de manera equilibrada, representando así el 50% a las hembras y el otro 50% a los machos. En general los machos son pequeños y muy activos mientras que las hembras suelen ser más grandes y menos activas (Perring et al., 1993).

La temperatura y la planta hospedera son factores muy importantes en la biología de estos aleurodes. Por ejemplo, en función de la temperatura en el cultivo del tomate, la duración de desarrollo de estos insectos (desde huevo hasta adulto) presenta las siguientes variaciones (**Cuadro 1**):

Cuadro 1: Variación del desarrollo de la mosca blanca en función de la temperatura.

Especie	15 ° C	20 ° C	27 ° C
<i>Bemisia tabaci</i>	135 días	35 días	23 días
<i>Trialeurodes v.</i>	42 días	28 días	21 días

Los adultos de *Trialeurodes* se sitúan generalmente en la parte superior de las plantas y en el envés de las hojas más jóvenes. Las observamos fácilmente cuando sacudimos las hojas, ellas enseguida se colocaran sobre otras. Por otro lado, las ninfas de *Trialeurodes* se sitúan también en las hojas más jóvenes mientras que las pupas suelen estar en las hojas más antiguas. En lo que concierne a *Bemisia*, encontramos los diferentes estadios diseminados a través de todos los niveles de la planta.

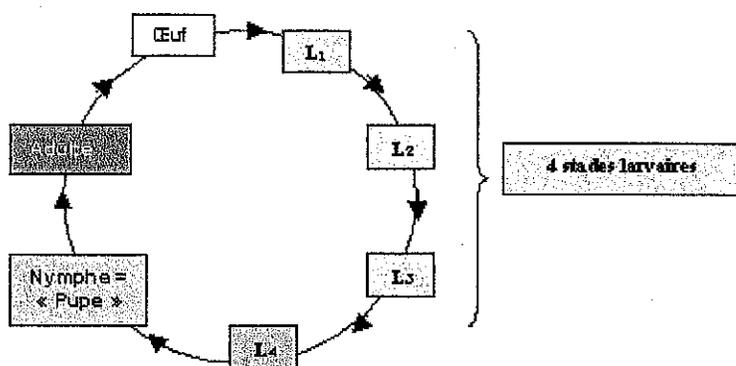


Figura 1: Ciclo de desarrollo de la mosca blanca.

2.3.3. Daños causados por *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*.

Podemos distinguir dos tipos de daños: el directo y el indirecto (Lopez-Avila, 1986). El daño directo provoca lesiones en el tejido vegetal debido a la alimentación y oviposición. Altas poblaciones de mosca conllevan a alteraciones fisiológicas así como debilitamientos de las plantas, y como consecuencia una disminución de los rendimientos provocando pérdidas económicas bastante importantes.

Los daños indirectos provocados por *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* están asociados a la presencia de hongos. Esto es, las larvas segregan sustancias azucaradas que favorecen la aparición del hongo saprofitico *Capnodium sp.*,



conocido como "fumagina", el cual tiene un efecto adverso en la fotosíntesis ya que impide la entrada de la luz en la superficie foliar (Bellotti y Vargas, 1986).

Otro tipo de daño indirecto provocado solamente por *Bemisia* y el cual es considerado como el más importante consiste en la transmisión de geminivirus especialmente en los cultivos de tomate y frijol (Hilje y Arboleda, 1993).

El virus es adquirido cuando el vector se nutre de los hospedantes infectados durante al menos 4 h. Después de 20 h de latencia la mosca puede transmitir el virus a las plantas sanas durante un periodo de 10 a 20 días (Herrera, 1995).

Los virus asociados a *Bemisia* son muy severos sobre el cultivo de tomate, tanto en campo como en invernadero; como consecuencia de esto, muchos agricultores han tenido que abandonar sus cultivos como se ha dado el caso en Marruecos (Hanafi, 2000) o en América central (Dardon, 1993).

Algunos de los virus transmitidos por *Bemisia* y que afectan el cultivo del melón y del tomate son: Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), Tomato Yellow Mosaic Virus (TYMV), Tomato Leaf Curl Virus (TLCV), Tomato Yellow Dwarf Virus (TYDV), Yellow Mosaic French Bean Virus (YMFBV).

Con relación a la mosca blanca *T. vaporariorum*, conocemos hasta el momento dos virus transmitidos por ella. El Potato Yellow Vein Virus (PYVV) y el Tomato Infectious Chlorosis Crinivirus (TICC), El primero fue descrito por primera vez en 1939 en Ecuador y Colombia. Esta enfermedad es considerada como una amenaza en la producción de papas en América del Sur. El segundo virus fue encontrado en los Estados Unidos en 1993. Este afecta a las plantas de tomate cultivadas en campo y en invernadero, pero todavía no ha producido pérdidas económicas muy importantes.

2.3.4. Manejo Integrado de Plagas (MIP)

El MIP es un sistema de lucha integrada que toma en cuenta las particularidades del medio, y utiliza todas las técnicas y métodos apropiados para mantener las

poblaciones de los organismos perjudiciales a niveles donde no causen daños económicos.)

2.3.4.1. Opciones permanentes para luchar contra los enemigos del tomate

Algunos métodos permiten una producción más durable y son ampliamente disponibles, pero el inconveniente que presentan es que es de difícil aplicación en los países en vías de desarrollo. Un proyecto realizado en África por CAB Internacional (2000) para luchar contra las moscas blancas y los virus asociados a demostrado que reduciendo el número de pulverizaciones con productos químicos, usando la lucha biológica y mejorando las prácticas culturales, obtenemos un rendimiento más elevado y unos costos de producción más bajos.

El MIP ofrece una alternativa viable, haciendo participar a los agricultores al desarrollo de métodos razonados para luchar contra las plagas y las enfermedades y las malas hierbas en sus sistemas de cultivo. Minimizando el uso de por ejemplo los pesticidas, podemos prevenir los problemas de salud ligados a estos productos. El MIP es la combinación de diferentes métodos: lucha química, resistencia varietal, lucha cultural y lucha biológica.

Control químico

Tradicionalmente se ha controlado a estas plagas mediante el uso de insecticidas sintéticos de manera irracional y con unos costos muy elevados (Morales, 1993). Los insecticidas no permiten la exclusión de las moscas blancas ni evitan la diseminación de los virus, pero pueden reducir la población de estas plagas (Hilje, 1996). Si los utilizamos de una manera razonada, ellos son herramientas útiles para combatir las moscas blancas (Salguero y Morales, 1994). El conocimiento de la biología de las moscas, la mezcla y la rotación de los insecticidas con diferentes modos de acción, los métodos de aplicación y las formulaciones apropiadas, aumentan la eficacia de control químico y disminuyen el desarrollo de la resistencia así como el impacto medioambiental (Matthews, 1986; Salguero y Morales, 1994). Los insecticidas sintéticos más utilizados para luchar contra la mosca blanca son: pyriproxyfen, bifenthrin, amitraz, imidacloprid y endosulfan.

Control cultural

La lucha cultural es un término genérico basado en métodos de lucha contra las plagas basados sobre procesos culturales. Los agricultores utilizan prácticas agrícolas las cuales no están orientadas hacia un Manejo Integrado de Plagas. Sin embargo, realizando ligeras modificaciones es suficiente para disminuir las plagas (Hilje y Cubillo, 1996).

La eliminación o destrucción de los residuos de los cultivos, de las plantas infectadas, de residuos pertenecientes a una recoleta anterior, y de las adventicias son prácticas importantes para luchar contra la mayoría de las plagas. Hilje y Cubillo (1996) aconsejan para luchar contra la mosca blanca la utilización de trampas, de coberturas vivas o muertas sobre los suelos, hacer rotaciones de cultivos, utilizar densidades elevadas en la siembra así como la producción de plántulas en de viveros cubiertos.

Control genético

Actualmente, existe una variedad resistente a los virus de la hoja amarilla del tomate (TYLCV). Esta variedad ha sido creada por un grupo de investigadores cubanos en el año 2000 en el Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova (Cuba). Llamada "Vyta", esta variedad ha sido cultivada por todo el territorio cubano de una manera muy satisfactoria. Las ventajas obtenidas son, mejor adaptación al clima, buena resistencia genética y disminución de las aplicaciones de insecticidas, como consecuencia a esto se ha producido un ahorro de 12 mil dólares anuales (Gómez, 2000).

Estudios recientes de un grupo de investigadores españoles (CSIC) en colaboración con la Universidad de California, han demostrado que es posible obtener tomates transgénicos resistentes al ataque de las moscas blancas. Estos estudios están todavía en vías de desarrollo.

Control biológico

La lucha biológica es la utilización por parte del hombre de organismos vivos para reducir o eliminar los daños causados a sus propiedades por otros organismos vivos (Lavabre, 1970). Para luchar biológicamente contra las moscas blancas tenemos un número muy elevado de enemigos naturales, el cual comprende los insectos depredadores, los parasitoides y los hongos entomopatógenos (Hanafi, 2000).

Los dos parasitoides de las moscas blancas más utilizados y que ofrecen un mayor control son, *Encarsia formosa* y *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae), estos son minúsculas avispas de 1 mm de longitud y pertenecen a la misma familia. Estos insectos hacen la puesta de sus huevos en las larvas de las moscas. Después la eclosión, las larvas parasitadas se desarrollan sobre el hospedante y se ninfosan en el interior. Con relación a los depredadores estos son consumidores activos de las larvas de las moscas blancas. Las especies de Coleópteros (*Delphastus pusillus*), de los Dípteros (*Achetoxenus formosus*) y de los Neurópteros (*Chrysoperla externa*) son los más importantes en el control biológico de las moscas blancas (Malaus, 1989).

Por otra parte, se cuenta con los hongos entomopatógenos los cuales están considerados como los patógenos los más importantes contra los insectos succionadores como es el caso de las moscas blancas. Ellos infectan a los insectos a través de la penetración de su cutícula. Las especies más comunes tanto en campo como en invernadero pertenecen a la familia de los Deuteromycotina (*P. Fumoso roseus*, *B. bassiana*, *M. Anisopliae*, *V. lecanii* y *Aschersonia abnormis*.) (Shannon, 1996).

2.4. LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los primeros microorganismos encontrados produciendo enfermedades a los insectos fueron los hongos entomopatógenos. Ellos se desarrollan macroscópicamente en la superficie de sus hospedantes. La mayoría son patógenos obligados o facultativos. Su crecimiento y desarrollo está limitado por las condiciones ambientales externas en particular, la elevada humedad y una temperatura adecuada para la esporulación y la germinación de las esporas (Tanada y Kaya, 1993).

2.4.1. Generalidades y modo de acción

(Casi el 80% de las enfermedades de los insectos son provocadas por unas 700 especies de hongos los cuales pertenecen a 90 géneros de entre todos los grupos taxonómicos de los hongos (Ferron, 1978). Los hongos entomopatógenos de la orden de los Deuteromycotina (Hongo imperfecto) no tienen una reproducción sexual o presentan un estado asexual de reproducción dentro del cual el estado sexual es conocido. Ellos se reproducen asexualmente produciendo conidias (Tanada y Kaya, 1993).)

(El desarrollo de la micosis se puede dividir en tres etapas: adhesión y germinación de la espora dentro de la cutícula del insecto, penetración dentro de la hemolinfa y desarrollo del hongo. El primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedante es por medio de la cutícula. Las características físicas y químicas de la superficie de la cutícula del insecto y la espora son las responsables de esta unión (Tanada y Kaya, 1993).)

(La germinación es el proceso mediante el cual una espora emite uno o varios tubos germinales, los cuales por crecimiento y alargamiento dan lugar a las hifas (Volcy y Pardo, 1994). El resultado de la germinación no depende solamente del porcentaje total de germinación, sino del tiempo de duración de la germinación, del modo de germinación, de la agresividad del hongo, del tipo de la espora así como de la susceptibilidad del hospedante (Samson et al., 1988).)

Las conidias germinadas penetran en la cutícula del insecto como resultado de la combinación de los procesos químicos (degradación enzimática de la cutícula) y físicos (presión mecánica ejercida por el tubo germinal) (Shannon, 1993). El modo de penetración depende principalmente de las propiedades de la cutícula, del grosor y de la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales. Los hongos pueden penetrar en el interior de los insectos a través de la región bucal, del ano y de las regiones intersegmentales (Alves, 1986). A veces, los líquidos digestivos de los insectos pueden destruir la espora o la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede ocasionar la muerte por toxicidad más que por micosis (Ferron, 1978). Los hongos invaden los tejidos de los insectos entre tres y cinco días después de la penetración y producen sustancias tóxicas las cuales provocan su muerte. Entre éstas

toxinas se han encontrado (dextrusinas, demetildextrusinas y protodextrusinas) que tienen una baja toxicidad para los humanos pero al mismo tiempo son muy tóxicas para los ácaros, los insectos y los nemátodos (Monzon, 2001). La muerte también es provocada por daños mecánicos producidos por el desarrollo del micelio (Alves, 1986; Ferron, 1978; Tanada y Kaya, 1993). Los hongos secretan sustancias bactericidas que momifican al cadáver (a veces lo cambian de color) y empiezan a esporular sobre éste si las condiciones de temperatura y humedad son favorables.

2.4.2. Formulaciones de los hongos entomopatógenos

La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos (Monzon, 2001). Todos estos materiales ayudan a que la aplicación logre una buena homogeneidad y una correcta distribución de las partículas del hongo. La formulación líquida utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido empleado tiene la función de mantener suspendidas las conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además este líquido debe evitar la absorción de agua por las conidias y mantener su viabilidad (Monzón, 2001). Después de haber aplicado el bio-insecticida, la capacidad de sobrevivir de las esporas del hongo determina la persistencia del inóculo en el campo así su efectividad.

Los hongos *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces spp* y *Beauveria spp.* han sido encontrados en la naturaleza atacando a las moscas blancas (Osborne y Landa, 1992), y hay muchos estudios orientados hacia la búsqueda y selección de cepas promisorias de estos hongos. Sin embargo, la información sobre *Metarhizium anisopliae* es escasa y solo algunos estudios como el de Herrera *et al.*, (1995) presentan resultados promisorios con este hongo quienes demostraron que *Metarhizium anisopliae* podía tener una alta capacidad patogénica así como una virulencia contra *Bemisia tabaci* sobre plantas de frijol. En ese experimento se obtuvieron unos índices de mortalidad superiores al 73% llegando incluso al 95% utilizando cepas de *Metarhizium anisopliae* tales como 5/89 y NB.

Los resultados obtenidos por Hidalgo *et al.*(2004) registraron un nivel de mortalidad del 60% utilizando la cepa 5/89 del hongo *M. anisopliae* sobre ninfas IV en

plantas de fríjol. Ante estos resultados, se hace promisorio la utilización de cepas del hongo *M. anisopliae* para el control de la mosca blanca en cultivos tales como el tomate o el melón.

En relación al *Paecilomyces sp.*, un grupo de investigadores españoles realizaron unas investigaciones a fin de controlar a *Bemisia tabaci* mediante el uso de este hongo entomopatógeno en el cultivo del tomate. Los resultados obtenidos por Padilla *et al.* (2003) mostraron que este agente microbiano alcanzaba un índice de mortalidad del 100% en ninfas de cuarto estadio al igual que era capaz de producir infecciones a gran escala en los adultos de mosca blanca. No obstante, los resultados fueron altamente significativos con respecto al insecticida químico cuyo número de adultos/foliolo después de aplicar éste fue de 24, mientras que con el bioinsecticida fue de 54 y, sin realizar ningún tipo de aplicación fue de 110.

La búsqueda de un nuevo producto biológico eficaz contra los insectos es, a escala mundial, un tema de prioridad y necesidad. La tendencia de estas investigaciones ha sido también emprendida por los investigadores del INIA en Perú (Velásquez y Navarro, 2002) Los autores consiguieron identificar y caracterizar hongos entomopatógenos atacando a la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*, plaga muy importante del fríjol cultivado en la costa peruana. El hongo aislado y utilizado en este ensayo fue *Paecilomyces sp.* a una concentración de $1,89 \times 10^7$. El porcentaje de infección sobre adultos de este insecto fue del 60%, sin embargo no encontraron ningún efecto en los otros estados de desarrollo de la plaga.

Ruiz Vega y Aquino Bolaños (1999), realizaron un estudio en México sobre la combinación de barreras vivas y el hongo *Paecilomyces fumosoroseus* para el control de *B. tabaci*. Estos autores señalaron que las barreras vivas (maíz, sorgo, girasol o cempasúchil) pueden servir como barreras físicas o como limpiadores del estilete de insectos vectores de virus de tipo no persistente, lo cual puede incrementar los rendimientos al disminuir la incidencia de virosis. Estos investigadores obtuvieron un control del 51% usando dicho hongo en combinación con una barrera de maíz.

Más recientemente, la casa comercial Biobest Biological Systems ubicada en Bélgica, ha sacado al mercado un nuevo pesticida biológico que contiene esporas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*, con el nombre de PreFeRal ®



WG. Este nuevo producto consigue un excelente control de las moscas blancas *T. vaporiorum* y *B. tabaci* en hortalizas como tomate y pepino. De hecho, se trata de un bioinsecticida de contacto, cuyas esporas se adhieren a la cutícula de los insectos y germinan poco después de la aplicación. Dicho producto, debe mantenerse refrigerado a una temperatura comprendida entre los 4 y 6°C, y tiene un límite de caducidad de seis meses.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. LOCALIZACION

El primer experimento fue realizado en la comuna de La Orieta (Turrialba, Costa Rica), zona húmeda y poco estacional, cuya altitud tiene un umbral de 1200 msnm. La temperatura media es de 17°C y la humedad relativa es 91%.

Para el segundo experimento utilizamos los laboratorios de Fitoprotección de CATIE (Turrialba, Costa Rica) situados a 9° 53' latitud norte, 83° 38' longitud oeste y 602msnm. La temperatura media anual es de 21.9°C. El promedio mensual de la humedad relativa (%) es 89.8 y la precipitación mensual expresada en mm. es 237.5.

3.2. PLANTAS HOSPEDERAS

El material vegetal utilizado para evaluar los aislamientos de hongos entomopatógenos sobre ninfas y adultos de mosca blanca correspondió a plantas de tomate de la variedad Hay Lip obtenidas a partir de semillero así como plantas de melón de la variedad Cantalupo sembradas directamente en potes plásticos prescindiendo del semillero.

3.3. CRIA DE MOSCA BLANCA

La cría de *Bemisia tabaci* tuvo lugar en las instalaciones de CATIE. Este criadero consiste en un invernadero cerrado de 4 m² con plantas de berenjena donde las densidades de *Bemisia tabaci* son muy altas. Dichas plantas fueron introducidas periódicamente en los invernaderos donde se encontraba el tomate y el melón para los experimentos a fin de provocar el desarrollo de la plaga.

3.4. REPRODUCCIÓN DEL HONGO

3.4.1. Medio de Cultivo

El medio de cultivo utilizado para la reproducción de los hongos en placas petri estaba constituido de: 39g/l de PDA, 10g/l de quitina y 5g/l de extracto de levadura. La solución preparada fue autoclavada a 121°C y una presión de 15 bares durante 30 minutos.

3.4.2. Recolecta de los Hongos

Respecto a los hongos utilizados, *Metarhizium anisopliae* (5/89) proviene de la colección del CATIE pero su origen es Nicaragua, mientras que *Paecilomyces sp* (0485) fue aislado a partir de adultos de mosca blanca recolectados en la región noroeste del país (Guanacaste). Enseguida, las muestras fueron transportadas al laboratorio para su aislamiento. Ambos se encuentran conservados en refrigeración a 4°C.

3.4.3. Producción masiva del Hongo

Después de haber inoculado las placas PDA con los respectivos hongos, éstas fueron selladas con Parafilm ® y colocadas a una incubadora durante 5 días a una temperatura de 25 °C, un fotoperíodo de 12:12 y una humedad relativa de 50±10 %.

Al cabo de 5 días, se preparó el inóculo para iniciar el proceso de producción masiva de los hongos. Para esto, se recuperó con una espátula esterilizada el máximo de conidias de cada hongo y se suspendieron en 500 ml de agua destilada previamente autoclavada.

Por otro lado, bolsas de polipropileno conteniendo 200 gramos de arroz previamente sumergido en agua por una hora fueron autoclavados durante 30 minutos. A continuación, 20 ml de la solución que contenían las conidias junto a una gota de tween 80 ® al 0.5 % fueron inoculados en el arroz y guardados en una sala poco ventilada y bien desinfectada durante 3 días a temperatura ambiente (26°C

promedio). Después de este periodo, el arroz fue colocado en bandejas de plástico previamente desinfectadas con cloro y cerradas en una bolsa de plástico a fin de promover la esporulación. Una malla de alambre también desinfectada en el horno durante 15 minutos se utilizó con el fin de evitar el posible contacto entre el hongo y la bolsa de plástico.

Quince días después, las conidias fueron extraídas del arroz con un tamiz de 60 mesh. Gracias a la ayuda de un agitador, durante 20 minutos, una gran parte de las conidias fueron recuperadas en un papel encerado previamente colocado entre el tamiz y el agitador. Todas las conidias recogidas fueron enseguida guardadas en el refrigerador a una temperatura de 4 °C hasta el momento de la utilización.

3.4.4. Determinación de la concentración de conidias

Se preparó una suspensión de 0.03g de polvo de conidias en 10 ml de agua destilada con Tween 80 ® al 0.5%. Después de haberlas agitado en un vórtex durante un minuto, se utilizó un hematocimetro a fin de proceder con el conteo en un microscopio de luz. En cada conteo se determinó la cantidad de conidias en 40 de los 400 cuadros (de 1/400 mm²) del hematocímetro repitiendo este conteo 4 veces para cada suspensión de conidias.

Con el microscopio en 40 X se observaron muestras de las diluciones para calcular la concentración de la solución madre y por dilución se obtuvo la concentración del inóculo requerido para cada aplicación. Para las diluciones se utilizó 100 µl de suspensión del inóculo en 900 µl de agua

Se determinó la concentración de conidias por mililitro utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Conidias/ml} = N \times 1 \times 10^6$$

En donde N es el promedio de conidias en los cuatro conteos y 1×10^6 es un factor calculado que toma en cuenta el área y profundidad de la cuadrícula de conteo y el factor de dilución. Mediante la multiplicación del valor de conidias/ml por el

volumen de la suspensión se estimó la cantidad de conidias en los 0.03g de polvo de conidias y por regla de 3 se estimó la cantidad de conidias por gramo.

Para la preparación de la suspensión de conidias de 10^7 se utilizó la siguiente fórmula:

$$(Y \text{ ml} \times 10^7) / \text{N}^\circ \text{ de conidias/g de polvo}$$

Y = Volumen deseado o aplicado por parcela.

10^7 = Concentración deseada o que se quiere aplicar

Nº de conidias/g de polvo = Concentración de la solución madre

3.4.5. Porcentaje de germinación del hongo

Para realizar dicha prueba, se tomó con una espátula previamente esterilizada 0.03 gramos de esporas del hongo a analizar y se mezcló con 10 ml de agua destilada esterilizada. Después de haberlo agitado en un vórtex, se esparció la solución en tres placas petri con PDA. Estas placas se incubaron a 25°C durante 24 h. Una zona de la placa escogida al azar conteniendo esporas fue analizada en el microscopio a 40X. Se contaron tanto las esporas germinadas como las no germinadas y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% = [\text{esporas germinadas} / \text{esporas totales (germinadas + no germinadas)}] * 100$$

3.4.6. Formulaciones de Hongos Entomopatógenos

La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como arcilla, aceites, nutrientes emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo este más protegido al momento de la aplicación. Todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de las partículas del hongo, para poder ser manipuladas y aplicadas adecuadamente (Monzón, 2001). Para nuestros ensayos se utilizaron tres formulaciones:

- A. Suspensión directa de las conidias en agua.
- B. Conidias preparadas como concentrado emulsificable utilizando aceite de soja.
- C. Solución acuosa más aceite de soja.

3.5. ENSAYOS REALIZADOS EN INVERNADERO

3.5.1. ENSAYO I: Evaluación de la formulación de dos hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca en tomate bajo condiciones de invernadero en La Orieta.

3.5.1.1. Establecimiento del ensayo.

El invernadero utilizado para nuestro primer ensayo de tomate tenía una superficie total de 300 m². La distancia de siembra entra hileras era de 1,20 m y la distancia entre plantas de 0,30 m. Las plantas eran irrigadas de forma generalizada mediante riego por goteo durante una hora al día. El aporte de nutrientes estuvo formado por N-P-K-Mg (12-12-17-2).

Las plantas, de variedad Hay Lip y de crecimiento indeterminado, eran sostenidas con postes de bambú amarradas con hilo a un tendido de hierro a fin de mejorar la aireación general de la planta, favorecer el aprovechamiento de la radiación y la realización de las labores culturales.

En este ensayo no se llevo a cabo ningún tipo de liberación artificial de mosca blanca ya que desde el origen se contó con un estado poblacional bastante elevado. El insecto encontrado en este invernadero pertenecía al genero de *Trialeurodes vaporariorum*.

3.5.1.2. Tratamientos y diseño experimental.

Se utilizaron 7 tratamientos: *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* en aceite y agua (con una concentración de 10⁷ conidias/ml), un insecticida químico (Endosulfán) cuyo volumen utilizado correspondía a 1,2 ml por cada litro de agua (10 litros utilizado en nuestro ensayo para las tres parcelas) y un testigo en aceite (al 1%

v/v) y agua. Cada formulación excepto el testigo absoluto fue mezclada con 2.5 ml/l de adherente (Cytowet). La aplicación se realizó de forma aleatoria mediante bombas hidráulicas marca Carpi ® de una capacidad de 17 litros, con boquilla de cono hueco D2 y disco #45.

Para calcular la capacidad de reproducción sobre las ninfas y adultos tres aplicaciones con intervalos de una semana entre cada aplicación fueron necesarias. El terreno experimental fue separado en 21 parcelas (10 m de largo x 6 de ancho) con un arreglo de bloques al azar.

De cada formulación utilizada, tres repeticiones fueron necesarias a fin de proceder posteriormente a un análisis estadístico de nuestros resultados. Los datos fueron analizados por análisis de varianza y las medias fueron comparadas con la prueba de Duncan ($p \alpha 0,05$).

Cuadro 2: Distribución aleatoria de las parcelas bajo condiciones de invernadero en La Orieta. *P.* = *Paecilomyces sp* / *M.* = *Metarhizium anisopliae*

1 Agua	8 <i>M.</i> + Agua	15 Químico
2 <i>M.</i> + Agua	9 Químico	16 <i>M.</i> + Ac.
3 <i>P.</i> + Agua	10 <i>P.</i> + Ac.	17 Agua
4 <i>M.</i> + Ac.	11 Aceite	18 Químico
5 <i>P.</i> + Agua	12 <i>M.</i> + Ac.	19 Aceite
6 Agua	13 Aceite	20 <i>P.</i> + Ac.
7 <i>P.</i> + Agua	14 <i>M.</i> + Agua	21 <i>P.</i> + Ac.

3.5.1.3. Variables evaluadas.

1- Estado poblacional de adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) presente en el tomate antes y una semana después de efectuar las aplicaciones.

El muestreo se realizó escogiendo tres hojas al azar de la hilera central correspondiente a cada parcela, previamente señalizadas con cintas marcadoras. El

conteo de adultos se realizó de manera visual considerando una población baja si el número de adultos estaba comprendido entre 0-20, una población media si se encontraba entre 20-50, y por último una población elevada si el número de adultos por hoja correspondía a un número mayor de 50. Dicho conteo se efectuó en el envés de las hojas, ya que es ahí donde se desarrollan los insectos. Transcurrida una semana después de realizar la última aplicación efectuamos un conteo idéntico al primero con el objetivo de determinar si la población de adultos al cabo de tres semanas de aplicaciones había disminuido.

2- Porcentaje de infección. Esta evaluación se realizó una semana después de haber efectuado las aplicaciones. Se recogieron tres hojas de cada parcela y se colocaron en bolsas de papel cerrados a fin de evitar la escapada de adultos vivos presentes en las hojas. Una vez en el laboratorio se cortaron tres círculos de 3,14 cm² de las hojas de cada parcela y se dispusieron en placas petri sin medio (PDA). Las 21 placas correspondientes a cada repetición fueron colocadas en bandejas de plástico con papel absorbente humedecido y cerradas en bolsas de plástico transparentes y guardadas en una habitación oscura durante una semana a fin de provocar una mayor y más rápida esporulación de los hongos entomopatógenos y así facilitar la determinación del porcentaje de infección.

Transcurrida la semana, las muestras fueron evaluadas con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Las variables analizadas fueron: ninfas de cuarto estadio vivas, muertas y parasitadas por los hongos al igual que adultos vivos, muertos y parasitados.

Para determinar dicho porcentaje, empleamos la siguiente fórmula:

$$\% = \text{ninfas o adultos infectadas} / \text{ninfas o adultos totales (vivas + muertas + parasitadas)}$$

3- Determinación de la producción de conidias del hongo sobre adultos de mosca blanca encontradas en las plantas de tomate. Transcurridos 45 días después de la última aplicación, se recogieron las muestras con elevada presencia de adultos y se llevó al laboratorio para ser analizado.

Se escogieron tres hojas de cada parcela y se colocaron en sacos de papel cerrados. Una vez en el laboratorio se realizaron tres círculos de 3,14 cm² para uniformar un área específica. A continuación se efectuó un conteo de adultos vivos, muertos y parasitados.

Después, colocamos 10 adultos parasitados de cada tratamiento y se colocaron en 10 ml de agua esterilizada. Se procedió al conteo (4 repeticiones) de conidias por adulto con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Para calcular dicha variable, utilizamos la siguiente fórmula:

$$\text{Producción conidia / adulto} = (N \times 10^7) / 10 (\text{N}^\circ \text{ adultos})$$

N = Promedio de conidias en los cuatro conteos

10⁷ = Factor calculado teniendo en cuenta el área y profundidad de la cuadrícula de conteo y el factor de dilución.

3.5.2. Ensayo II: Evaluación de la persistencia de dos hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci* usando diferentes formulaciones.

3.5.2.1. Establecimiento del experimento.

Para estos ensayos se utilizaron las instalaciones de CATIE, tanto los invernaderos como las parcelas al aire libre. El invernadero utilizado tenía una dimensión de 30m². En él había una capacidad para 7 mesas de una superficie de 4 x 1m. Para el ensayo de tomate colocamos en cada mesa 30 plantas sembradas en maceteros de plástico de 10 cm de diámetro y para el ensayo de melón solamente 15 plantas con maceteros de idéntico diámetro.

La distancia entre plantas fue de 10 cm. El sistema de riego implicado en las experimentaciones fue manual, realizándolo una vez cada dos días. El fertilizante N-P-K (10-30-10) fue introducido en el momento de la siembra. Para evitar posibles vuelcos de las plantas de tomate se las sostuvo con estacas de bambú.

La variedad de tomate utilizada en el ensayo fue Hay Lip, obtenidas a partir de semillero, mientras que las plantas de melón fueron de la variedad Cantalupo, obtenidas por siembra directa de la semilla en los maceteros

Para proceder con las liberaciones de mosca blanca, se colocaron plantas de berenjena altamente infestadas. Se sacudieron las plantas de berenjena para obligar a la mosca a pasar a las plantas de tomate y melón. Este tiempo sirvió para que los insectos se extendieran hacia las otras plantas. Más tarde, las berenjenas fueron retiradas. En total se hicieron dos liberaciones, con intervalo de una semana.

Las parcelas ubicadas al aire libre tenían una dimensión de 100 m² aproximadamente y estaban situadas cerca del área de invernaderos. Las plantas fueron separadas unas de otras en 10 cm. El riego fue también manual con un intervalo de dos días.

3.5.2.2. Tratamientos y diseño experimental

A. Persistencia de los hongos en plantas con presencia de mosca blanca (*Bemisia tabaci*)

A.1). Determinación de persistencia del hongo en invernadero

Para ambos ensayos se emplearon 5 tratamientos diferentes:

- A. *Metarhizium* en suspensión acuosa
- B. *Metarhizium* + aceite de soja
- C. *Paecilomyces* en suspensión acuosa
- D. *Paecilomyces* + aceite de soja
- E. Testigo absoluto

Cada hongo fue aplicado a una concentración de 10⁷ conidias/ml El volumen de aceite añadido a los dos bio-insecticidas fue del 1% v/v. Cada formulación fue mezclada con 2.5 ml/l de adherente (Cytowet). Solamente se efectuó una aplicación de los tratamientos al inicio de los ensayos.

Se utilizó un diseño en bloques completamente al azar. Cada unidad experimental constó de seis plantas con tres repeticiones para un total de 90 plantas en tomate. En el caso de melón, las unidades experimentales consistieron de 3 plantas para un total de 45 plantas.

A.2). Determinación de la persistencia de los hongos al aire libre

La liberación de mosca blanca en las plantas de melón para ser evaluadas al aire libre se realizó dentro del invernadero. Allí, se colocaron junto a todas las demás durante 15 días a fin de obtener una mayor infestación. Después de este periodo, las plantas se sacaron al exterior para poder ser aplicadas con los bio-insecticidas.

Para este ensayo se utilizaron 5 tratamientos: *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* en aceite y agua y un testigo absoluto. La concentración de conidias y el volumen utilizado fue igual que para los ensayos descritos en la sección A1).

B. Persistencia de los hongos en plantas sin liberación de mosca blanca (*B. tabaci*)

Este ensayo se realizó con plantas de tomate, en una parcela fuera del invernadero en la cual se aplicaron los mismos tratamientos y tamaño de unidades experimentales descritos para el ensayo homónimo con liberación de mosca blanca (sección A).

3.5.2.3. Variables evaluadas.

En estos ensayos se evaluó la persistencia de los dos hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces sp* tanto en haz como en envés de los cultivos de tomate y melón.

Se realizaron tres muestreos a los 7, 14 y 21 días después de la aplicación de los hongos. Para cada repetición se tomaron 6 submuestras circulares de 3,14 cm² por planta tanto del haz como del envés y se colocaron en placas petri con PDA. Estas fueron incubadas a 26°C durante 7 días para provocar el crecimiento de los hongos

sobre los insectos. Finalizado este periodo, las submuestras fueron analizadas en microscopio para poder determinar la supervivencia o no de los dos hongos. Con base en estas evaluaciones se determinó el porcentaje de supervivencia calculado de la siguiente manera.

De las 6 submuestras de cada tratamiento y repetición (haz y envés) se anotó el número de ellas que estaban infectadas por los hongos y se dividió por el número total de círculos. El valor fue multiplicado por cien afin de obtener el porcentaje de supervivencia.

$$X = (\text{N}^\circ \text{ de círculos con presencia del hongo} / 6) * 100$$

X = Porcentaje de persistencia.

4. RESULTADOS

Todos los datos han estado sometidos a un análisis de varianza (ANAVA), con dos factores a un nivel de significancia del 95%, analizados con el logicial de análisis InfoStat (Versión 1.5., 2003). En los casos donde el test era significativo, las medias fueron comparadas y clasificadas según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Se realizó un análisis de varianza, utilizando un modelo de parcelas divididas con repeticiones completamente aleatorizadas. La parcela principal identificó los tratamientos y en la subparcela se modelaron los tiempos de muestreo (semanas).

4.1. ENSAYO I: Evaluación de la formulación de dos hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca en tomate bajo condiciones de invernadero en La Orieta.

4.1.1. Población de adultos de mosca blanca

Después de haber efectuado las aplicaciones, el número de adultos se vio reducido en las parcelas en las que se aplicó el agroquímico Endosulfan y el hongo *Paecilomyces*, no así en las que se aplicó el hongo *Metarhizium* (Figura 2).

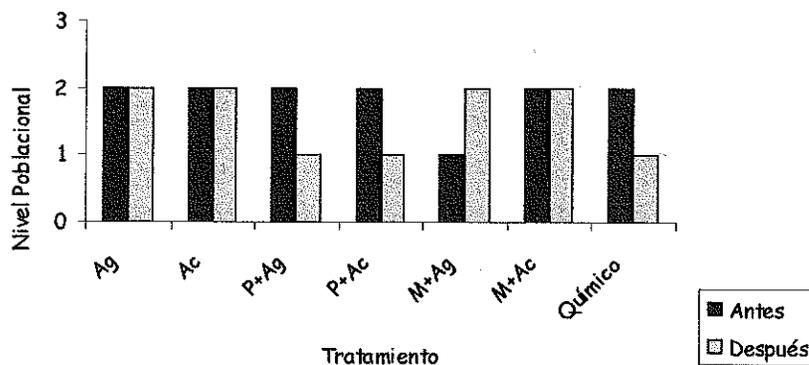


Figura 2: Estado poblacional de adultos de mosca blanca antes y una semana después de la tercera aplicación semanal. El nivel 3 muestra una población Alta (<50 adultos), el nivel 2 muestra una población Media (20-50 adultos por hoja) y el Nivel 1 una población Baja (>20 adultos). Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac),

Paecilomyces + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag), *Metarhizium* + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.

4.1.2. Porcentaje de Infección

4.1.2.1. Durante las 3 primeras semanas

Los tratamientos evaluados durante las tres primeras semanas no mostraron ninguna diferencia estadística significativa en cuanto al número de adultos infectados ($p > 0,05$), aunque el tratamiento que presentó el mayor porcentaje de parasitismo (59%) correspondió al formulado con *Paecilomyces* + Aceite. Sin embargo, si se encontró una diferencia altamente significativa entre las semanas ($p = 0.0073$), produciéndose las mayores infecciones al final de la tercera semana alcanzando niveles de infección de adultos del (59%) con el tratamiento *Paecilomyces* en Aceite (**Figura 3**).

Por otra parte, las ninfas de cuarto estadio (**Figura 4**) si presentaron diferencias altamente significativas entre los distintos formulados ($p = 0.014$), siendo los formulados basados en *Metarhizium* + Agua y *Paecilomyces* tanto en agua como en aceite, los que presentaron un mayor índice de infección (17%, 11% y 10% respectivamente). Los valores obtenidos en las diferentes semanas no presentaron diferencias significativas entre ellos ($p = 0,076$), aunque durante la segunda y tercera semana se produjo el mayor nivel de parasitismo.

4.1.2.2. Observaciones posteriores al ensayo

Al cabo de la 8ª semana el porcentaje de parasitismo en los adultos de todos los tratamientos fue del 100%. Se encontró que los adultos en los folíolos de tomate fueron infectados con el hongo *Paecilomyces* pero no se encontró infección por el hongo *Metarhizium*, debido principalmente a una baja competitividad por parte de *Metarhizium* (**Figura 3**).

Los resultados encontrados en las evaluaciones de ninfas de cuarto estadio no mostraron tampoco una significancia entre los tratamientos (**Figura 4**).

Nota: debido a un error de comunicación con los agricultores, el número de parcelas experimentales se vio reducido debido a una poda bastante severa.

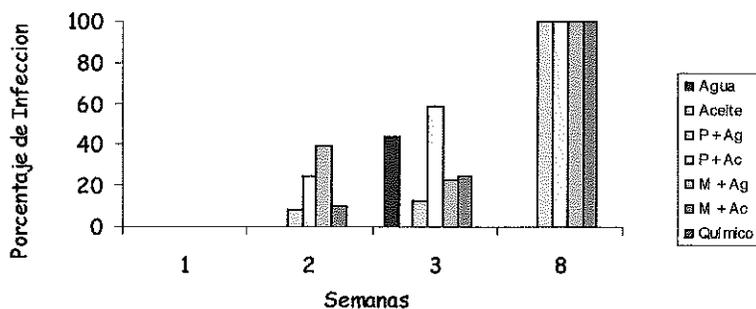


Figura 3: Porcentaje de Infección producido sobre adultos de mosca blanca durante las 3 primeras semanas y a la 8ª semana. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag), *Metarhizium* + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.

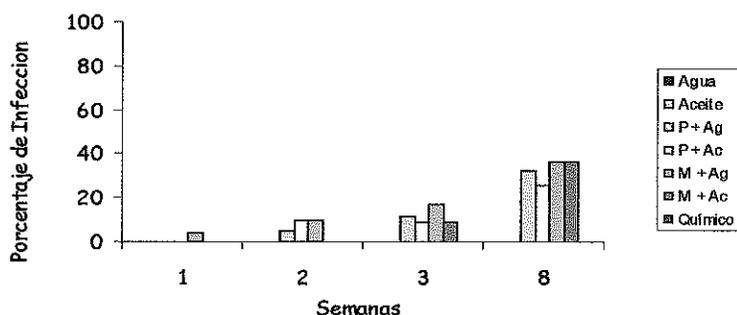


Figura 4: Porcentaje de Infección producido sobre ninfas IV de mosca blanca durante las 3 primeras semanas y a la 8ª semana. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), Aceite (Ac), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag), *Metarhizium* + Aceite (M+Ac) y el agroquímico Endosulfan.

4.1.3. Producción de Conidias por adulto de mosca blanca

El análisis realizado en los folíolos de tomate con infección de hongos sobre mosca blanca muestra que el hongo *Paecilomyces* mezclado con agua produce el mayor número de conidias por cada adulto infectado ($1,025 \times 10^6$). Podemos constatar igualmente que el valor promedio obtenido por *Paecilomyces* + Aceite ($0,75 \times 10^6$) es ligeramente superior (Figura 5) a los formulados con el hongo *Metarhizium*. Debemos

señalar que el hongo encontrado en los adultos tratados con *Metarhizium* pertenecía a *Paecilomyces*, ya que éste es capaz de imponerse a *Metarhizium* debido a su alto poder de competitividad. Sin embargo, debido a esta competencia, el porcentaje de producción de conidias es siempre superior en las plantas que han sido tratadas directamente con *Paecilomyces*.

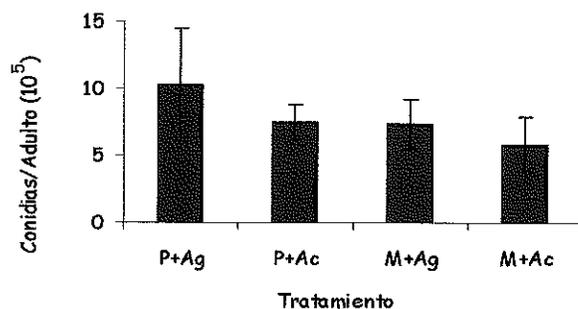


Figura 5: N° de conidias producidos por el hongo sobre el estado adulto de mosca blanca.

4.2. ENSAYO II: Evaluación de la persistencia de dos hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci* usando diferentes formulaciones.

4.2.1. Prueba en tomate con liberación de *Bemisia tabaci* bajo condiciones de invernadero

La germinación de los hongos en la parte inferior de los folíolos (envés) mostró una diferencia significativa, reflejado en el análisis de varianza. El porcentaje de la germinación difirió mucho entre los tratamientos ($p < 0,05$) indicando que *Paecilomyces* fue más persistente que *Metarhizium* con un 44% y un 6% respectivamente después de tres semanas.

Los resultados indican que al cabo de las tres semanas se produjo una esporulación significativa en relación a la primera semana ($p < 0,05$). No se observó una diferencia significativa entre las formulaciones con agua y aceite ($p = 0.648$), pudiéndose recomendar ambas a los agricultores (**Figura 6**).

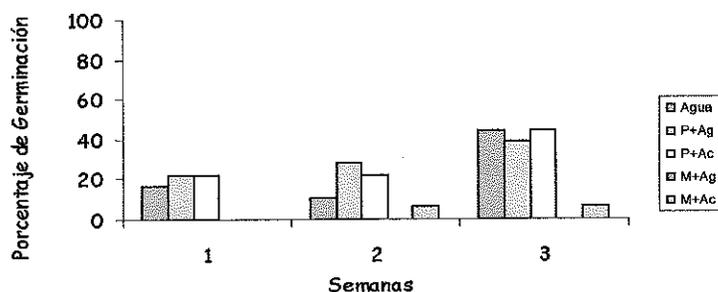


Figura 6: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

En cuanto a los resultados obtenidos en la parte superior de los foliolos (haz), se presentó, al igual que anteriormente, una diferencia altamente significativa entre los tratamientos ($p < 0,05$) y entre las semanas ($p < 0,05$), presentando una mayor cantidad y velocidad de crecimiento del hongo en las aplicaciones realizadas con *Paecilomyces* en agua (39%) y *Paecilomyces* en aceite (44%). Se demuestra que al cabo de los 21 días, el microorganismo está presente de forma constante. Sin embargo, la aparición del hongo no difirió en los tratamientos con agua y con aceite ($p = 0.479$) (Figura 7).

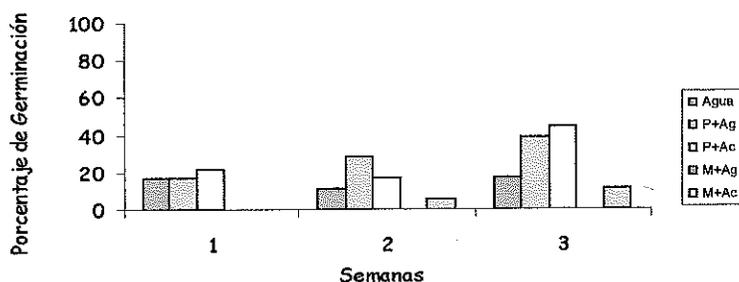


Figura 7: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la de aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

4.2.2. Prueba en tomate sin liberación de *Bemisia tabaci* al aire libre

En dicho experimento, los análisis realizados en el envés de los folíolos (**Figura 8**) muestran diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p = 0.0002$), teniendo un mayor valor de germinación aquellos que fueron tratados con el hongo *Paecilomyces*. No hubo diferencia entre las semanas ($p = 0.743$), observándose así, que los valores de germinación de los hongos se mantuvieron constantes durante las tres semanas de evaluación. Los dos mejores tratamientos fueron *Paecilomyces* + Agua y Aceite (33%), aunque no se produjo una diferencia significativa entre ambas formulaciones ($p = 0.57$).

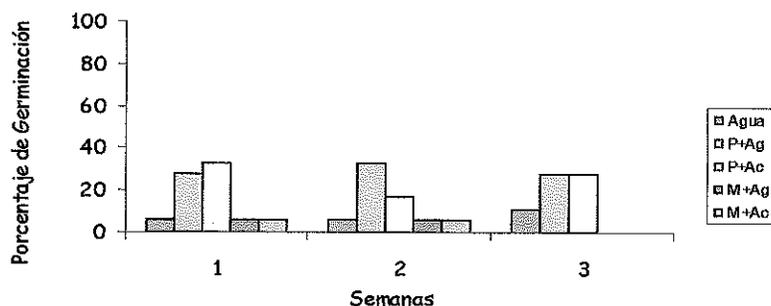


Figura 8: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos sin liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la de aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

Respecto a los resultados obtenidos en el análisis de varianza en el haz de las folíolos (**Figura 9**), se muestra un efecto altamente significativo en los tratamientos ($p = 0.0002$) pero no significativo en las semanas ($p = 0.62$) y tampoco se encuentra una diferencia significativa entre las formulaciones de *Paecilomyces* con agua y con aceite ($p = 0.67$).

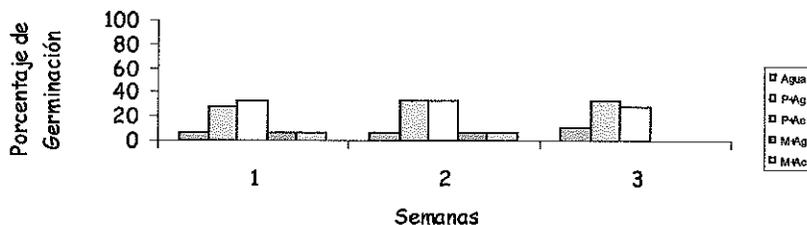


Figura 9: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos sin liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

4.2.3. Prueba en melón con liberación de *Bemisia tabaci* bajo condiciones de invernadero

Las evaluaciones realizadas en la parte inferior de las foliolos (**Figura 10**), presentaron una diferencia altamente significativa entre los diferentes tratamientos ($p = 0.009$), observándose la mayor persistencia en aquellos formulados con *Paecilomyces* (agua y aceite). Sin embargo, no se mostró una diferencia significativa entre las tres semanas ($p = 0.122$), no obstante, los tratamientos de la última semana presentan un número de muestras con germinación del hongo alcanzando valores de germinación de 67% y 44% para *Paecilomyces* en agua y aceite respectivamente. No se observó tampoco diferencia significativa entre los tratamientos formulados con agua y con aceite ($p = 0.999$).

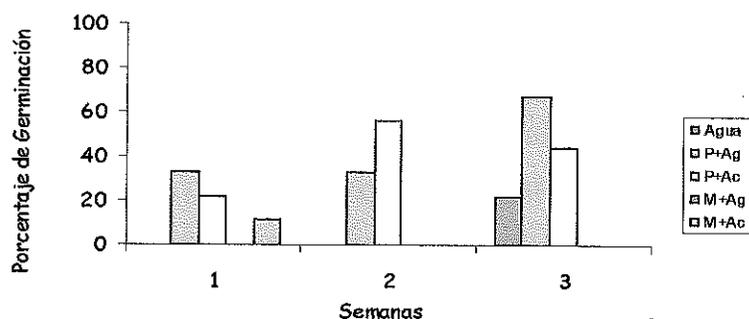


Figura 10: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

Las plantas analizadas por el haz (**Figura 11**) mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p = 0.0028$), al igual que las semanas ($p = 0.031$), observándose de esta manera que los mejores tratamientos son *Paecilomyces* + Agua, y *Paecilomyces* + Aceite, al cabo de la tercera semana con valores de persistencia del

56% en ambos formulados. No se presentaron diferencias significativas entre las formulaciones hechas con agua y con aceite, como fue reflejado en el análisis de varianza ($p = 0.39$).

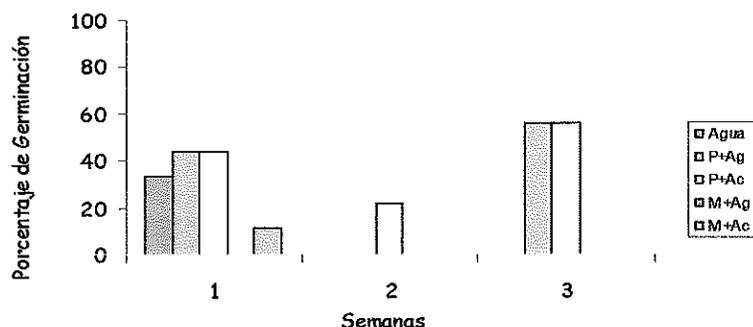


Figura 11: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de folíolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

4.2.4. Prueba en melón con liberación de *Bemisia tabaci* al aire libre

Los resultados de germinación evaluados para el envés de los folíolos (**Figura 12**), resultaron con diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p = 0.0001$). En este bioensayo, las aplicaciones efectuadas con el hongo *Paecilomyces* tanto en agua como en aceite siguieron las mismas tendencias que las observadas anteriormente con unos valores de persistencia del 44% y 56% respectivamente. También hubo diferencias entre las semanas ($p = 0.0041$), siendo en la última donde la planta presentó un mayor número de muestras germinadas con el hongo. Sin embargo, los resultados para los tratamientos mezclados con agua o con aceite, no mostraron ningún tipo de significancia ($p = 0.075$).

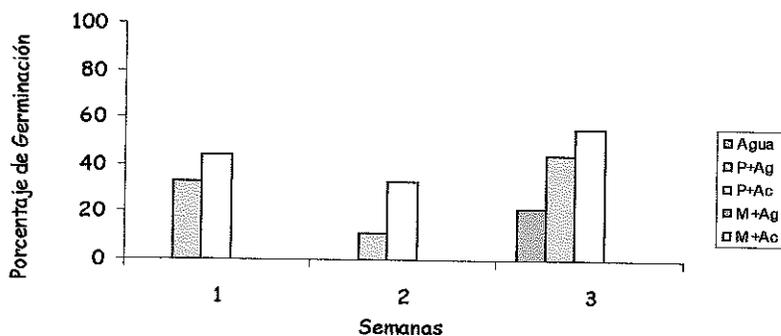


Figura 12: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el envés de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

Los resultados referentes a la parte superior del foliolo (**Figura 13**), presentaron diferencia entre los diferentes tratamientos ($p = 0.014$), con los mayores valores de germinación (33%) observados para ambas formulaciones de *Paecilomyces*. También se observaron diferencias entre semanas de muestreo ($p = 0.0003$) observándose ausencia total de germinación en la segunda semana de muestreo y reaparición de la germinación en la tercera semana aunque con valores peores a los observados en la primera semana. Los tratamientos mezclados con agua y con aceite no fueron estadísticamente diferentes ($p = 0,999$).

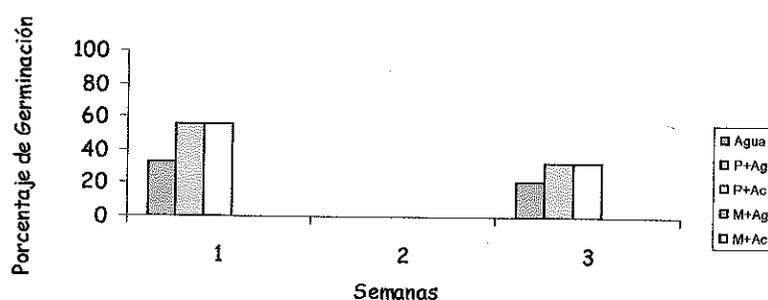


Figura 13: Porcentaje de Germinación del hongo a partir de foliolos con liberación de *B. tabaci* durante 3 semanas después la aplicación en el haz de la hoja. Los tratamientos fueron: Agua (Ag), *Paecilomyces* + Agua (P+Ag), *Paecilomyces* + Aceite (P+Ac), *Metarhizium* + Agua (M+Ag) y *Metarhizium* + Aceite (M+Ac).

5. DISCUSION

Los hongos entomopatógenos han sido citados en la literatura por ser buenos agentes biocontroladores gracias a su alta capacidad patogénica y virulenta contra mosca blanca (Herrera y *et al.*, 1999; Ruiz Vega y Medina, 2001).

El Manejo Integrado de Plagas, y concretamente la lucha biológica nos ha permitido reducir considerablemente estos insectos mediante el uso de hongos entomopatógenos. El ensayo realizado en la Orieta nos permitió darnos cuenta de la eficacia presentada por los agroquímicos al reducir o erradicar el número de adultos después de su aplicación, no obstante, los resultados obtenidos por el hongo *Paecilomyces* indican que éste tiene un alto potencial, ya que consiguió reducir también considerablemente la población de la plaga. La cepa 5/89 de *Metarhizium*, por su parte, no mostró ser eficaz en el control de mosca blanca bajo las condiciones del ensayo, contrario al 95% de control reportado en la literatura por Herrera *et al.*, 1999 y a los valores observados por Hidalgo *et al* (2004) cuyos valores máximos observados en este trabajo fueron de 60%. La virulencia por parte de este agente microbiano había sido evaluada por los distintos investigadores, en cultivos de frijol, café, berenjena y algodón, pero no en tomate y melón.

Nuestros resultados no coinciden ni con los obtenidos por Herrera *et al.* (1999), ni con los de Hidalgo *et al.* (2004) ya que las investigaciones realizadas en CATIE y ORIETA nunca contaron con la presencia de éste hongo, aunque las plantas hayan sido aplicadas con *Metarhizium*. Esto ha podido ser debido al bajo nivel de competitividad frente al otro hongo entomopatógeno utilizado (*Paecilomyces* sp.). La concentración de hongos utilizados en nuestros ensayos correspondía al $1 \cdot 10^7$ conidias/ml mientras que otros autores tal como Wraith *et al.* (1995), sugieren una concentración de $1 \cdot 10^8$ conidias/ml, ya que a esa concentración aumenta el estrés que hace a los insectos más susceptibles y aumenta la probabilidad de contacto con conidias más viables.

Los resultados obtenidos respecto al hongo *Paecilomyces* concuerdan con los de Padilla *et al.*, (2003). Ellos demuestran que dicho hongo es capaz de producir infecciones a lo largo del ciclo biológico de la mosca blanca, aunque con mayor énfasis

en los adultos. Además, según estos autores, la fabricación del bio-insecticida consigue un excelente control del insecto en hortalizas de invernadero.

El primer parámetro evaluado en el estudio, la persistencia, demostró que es al cabo de tres semanas cuando mayor germinación de esporas y desarrollo del micelio se produce. Sin embargo, en los ensayos de tomate realizados fuera de invernadero y sin liberación artificial del insecto, no hubo diferencia significativa entre las semanas.

Esta explicación podría deberse a la aparición de hongos saprofitos encontrados en las parcelas al aire libre impidiendo el desarrollo normal de *Paecilomyces*. Otra posibilidad sería la exposición directa de la luz solar, ya que bajo condiciones de radiación solar, la viabilidad de las conidias se reduce a pocos días e incluso a horas (Shannon, 1996). Además, si en las parcelas exteriores, se produce mucha circulación de aire, la humedad relativa de las hojas disminuye y en consecuencia, podría producirse una alteración negativa respecto a la eficacia del hongo. En cuanto a la efectividad de los formulados con agua y con aceite, no se encontraron diferencias significativas entre ambos, por lo que se podría recomendar a los agricultores los dos tratamientos.

Respecto al segundo parámetro, la capacidad de reproducción (porcentaje de parasitismo), los resultados obtenidos en las evaluaciones llevadas a cabo en la Orieta demostraron que transcurridos 45 días, se produce un porcentaje de infección del 100% en los adultos encontrados. Estos datos nos orientan hacia una expectativa en la que los hongos necesitan más de tres semanas para conseguir una total y eficaz esporulación, repercutiendo de esta manera en la muerte exhaustiva del insecto. Respecto a las ninfas de cuarto estadio, no se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos, aunque los basados en esporas de *Paecilomyces* fueron los que presentaron un mayor índice de parasitismo.

La producción de conidias en cadáveres de insectos infectados por *Paecilomyces* ($1,025 \times 10^6$) fue superior a los de *Metarhizium* ($0,85 \times 10^6$) indicando de esta manera que *Paecilomyces* tiene una mayor capacidad para establecerse en las plantaciones que *Metarhizium*.

6. CONCLUSIONES

- El hongo más virulento sobre mosca blanca ha sido *Paecilomyces*, por presentar los mayores niveles de infección sobre ninfas de cuarto estadio y sobre adultos, por lo que lo hace promisorio para el control de esta plaga.
- La alta capacidad de *Paecilomyces* para colonizar y producir conidias sobre estadios vivos y exoesqueletos de mosca blanca, le permite una mayor capacidad de establecimiento en el cultivo y una mayor capacidad para control de la plaga.
- La alta capacidad de dispersión y colonización de *Paecilomyces* pudo haber enmascarado o incluso obstaculizado el efecto de *Metarhizium* en los ensayos realizados en esta investigación.
- *Paecilomyces* mostró un incremento en el porcentaje de infección a partir de la tercera semana de aplicación.
- La eficacia de los hongos formulados tanto en aceite como en agua no difieren entre sí, siendo entonces ambos recomendados a los agricultores.

7. PERSPECTIVAS

- Comparar eficacia de *Metarhizium* sobre mosca blanca, en tomate y frijol para detectar si la baja efectividad observada en este estudio esta relacionada con el cultivo sobre el cual se aplicó.
- Aumentar las concentraciones de los hongos a $1 \cdot 10^8$ conidias/ml (probar diferentes concentraciones de conidias a nivel de campo para determinar si hay aumento en efectividad al aumentar concentración)
- Estudiar las interacciones entre *Paecilomyces* y barreras vivas (maíz, berenjena) a fin de comprobar si este método ayuda a reducir los daños de mosca blanca.
- Continuar con la búsqueda de cepas promisorias de hongos entomopatógenos para el control de mosca blanca.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALVES S. B. (1986). Controle microbiano de insetos. Editora Manole, Brazil 407p.
- ANDERLINI R. (1970). El cultivo del tomate. 2 Edición revisada y ampliada. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 207 p.
- BELLOTTI A., VARGAS O. (1986). Mosca Blanca del cultivo de yuca: biología y control; Unidad Auditorial. CIAT. Cali Colombia 40 p.
- BYRNE D., BELLOWS T.S. (1991). Whitefly Biology. Annual Review of Entomopatology. 36, p. 431-457.
- CATIE (1990). Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Informe Técnico. Turrialba, Costa Rica. 138 p.
- CHAMARRO J. (1995). Anatomía y fisiología del tomate **in**: Nuez F. (1995). El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 793 p.
- CIRAD (2002). Mémento de l'Agronome. CD-Rom.
- DARDON D. (1993). Las moscas blancas en Guatemala. **In** Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en America 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 N° 205.p.38-41.
- DAVIS M., DINHAM B. (2002). Des méthodes de production durable pour la tomate. La lutte Raisonnée Note. N° 13.
- FERNANDEZ J., GONZALEZ A., BAÑON S., GALLEGU J. (1992). Cultivo del tomate en la región de Murcia. Hortofruticultura, Junio, p. 29-34.
- FERRON P. (1978). Biological control of insect pest by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology. 23:409-442.

GOMEZ O. (2000). Introducción del gen TY-1 de *Lycopersicon* chilense en el tomate cultivado (*L. Esculentum*) y su utilización. Instituto de Investigaciones hortícolas Liliana Dimitrova (Cuba). In : http://www.cuba.cu/ciencia/acc/agrarias2003_resumen.htm

HANAFI A. (2000). Management de la mouche blanche et le TYLCV. Transfert de technologie en agriculture, Maroc. MADREF/DERD. N°73.

HERRERA F. (1995). Evaluación de hongos entomopatógenos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homóptera: Aleyrodidae). Tesis de Maestría. CATIE, 70 p.

HERRERA F., CARBALLO M., SHANON P. (1999). Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. MIP N° 54, p. 37-43.

HIDALGO E., CARBALLO M., HILJE L. (2004). Desarrollo de micoinsecticidas para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en cultivos frutales y hortícolas, en zonas neotropicales. II informe técnico de avances del proyecto Fontagro. 67 p.

HILJE L. (1996). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE y PRIAG. Serie Materiales de Enseñanza N° 37.

HILJE L. (2001). Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca-blanca-geminivirus en tomate, en costa rica. MIP N° 61, p. 69-80.

HILJE L., ARBOLEDA O. (1993). Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe (1992, Turrialba, Costa Rica). In Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico N° 205, p.66.

HILJE L., CUBILLO D. (1996). Practicas Agrícolas. In Hilje L. (1996). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE y PRIAG. Serie Materiales de Enseñanza N° 37.

LAROUSSE AGRICOLE. (2002). Obra dirigida por Marcel Mazoyer. 767 p.

- LAVABRE E.M. (1970). Insectes nuisibles des cultures tropicales. G.P. Maisonneuve & Larose, Paris. 276p.
- 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.
- MALAUZA, J.C. (1989). Sur l'utilisation de miridies prédateurs (Hétéroptères) dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures maraîchères sous serre. Bull. OILB-srop, IPM Protected vegetable crops, Cabrils (Barcelona), 1987: 63-66.
- MARCO-MOLL H. (1972). El melón. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 135p.
- 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.
- MONZON A. (2001). Producción, uso y control de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Revista Manejo Integrado de plagas, Turrialba, Costa Rica. N° 63, p. 95-103.
- MORAL H. (1969). El melón. Editorial Acribia, Zaragoza. 135 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.
- NUEZ F. (1995). El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 793 p.
- OSBORNE L., LANDA Z. (1992). Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomologist (USA) 75(4), p. 457-471.
- PADILLA A., MARTÍN M., HERNÁNDEZ-SUÁREZ E., ASENSIO L., FERNÁNDEZ C., AMADOR S., CARNERO A., LÓPEZ-LLORCA L. (2002). Estado actual y perspectivas del control biológico de mosca blanca mediante el uso de hongos entomopatógenos en Canarias. Phytoma España. 144, p. 53-62

PERRING T.M., COOPER A.D., RODRIGUEZ R.J., FARRAR C.A., BELLOWS T.S. (1993). Identification of a Whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259, p. 74-77.

RUIZ VEGA. J. Y MEDINA J. (2001). Avances en el manejo integrado de *Bemisia tabaci* en tomate y chile en Oaxaca, México. MIP N° 59, p. 34-40.

RUIZ VEGA J., AQUINO BOLAÑOS T. (1999). Manejo de *Bemisia tabaci* mediante barreras vivas y *Paecilomyces* en Oaxaca, México. MIP N° 52, p. 80-88.

SALGUERO V., MORALES F.J. (1994). Eficiencia de insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* en tomate. Manejo Integrado de Plagas CATIE. 31, p. 25-28.

SAMSON R., EVANS H., LATGE J. (1988). Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag, Berlin. 300p.

SHANNON P.J. (1993). Control microbiano de *Phyllophaga spp.* Seminario taller centroamericano sobre biología y control de la *Phyllophaga spp.* Turrialba, Costa Rica. 19p.

SHANNON P.J. (1996). Hongos entomopatógenos. In Hilje L. (1996). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE y PRIAG. Serie Materiales de Enseñanza N° 37.

TANADA Y., KAYA H. (1993). Insect Pathology. Academic Press. San Diego, California (USA). 666p.

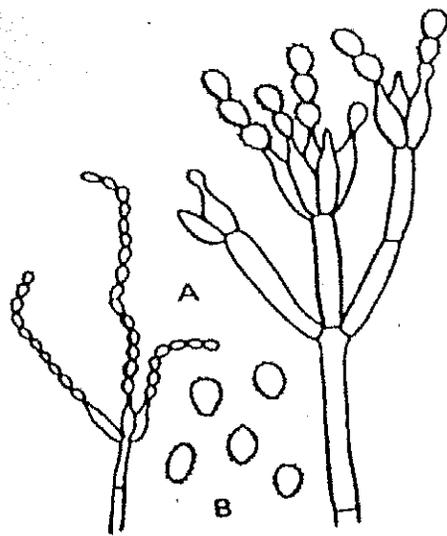
VAZQUEZ MORENO. L.L. (2002). Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. MIP N° 66, p. 82-95.

VELASQUES R., NAVARRO V. (2002). Colección y caracterización de *Paecilomyces sp.*, hongo entomopatógeno de la mosca minadora *Liriomyza Huidobrensis* en frijol. XLIV Convención Nacional de Entomología.

VOLCY C., PARDO V. (1994). Principios de Micología. Centro de publicaciones, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 141p.

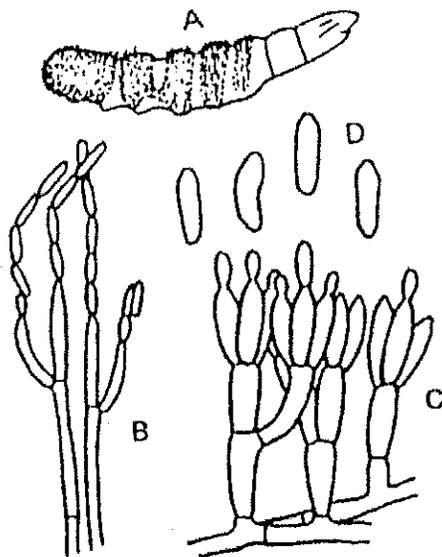
WRAIGHT S., CARRUTHERS R. I., JARONSKI S. T., BRADLEY C. A. (1995).
Development and field testing of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*
for biological control of whiteflies. **In** Society for Invertebrate Pathology 28th. Annual
Meeting (1995, Ithaca, New York). Program and abstracts, p.75.

9. ANEXOS



PAECILOMYCES

FOTO 1: Conidiophores y conidias de *Paecilomyces*.



METARRHIZIUM

FOTO 2: Conidiophores y conidias de *Metarrhizium anisopliae*.

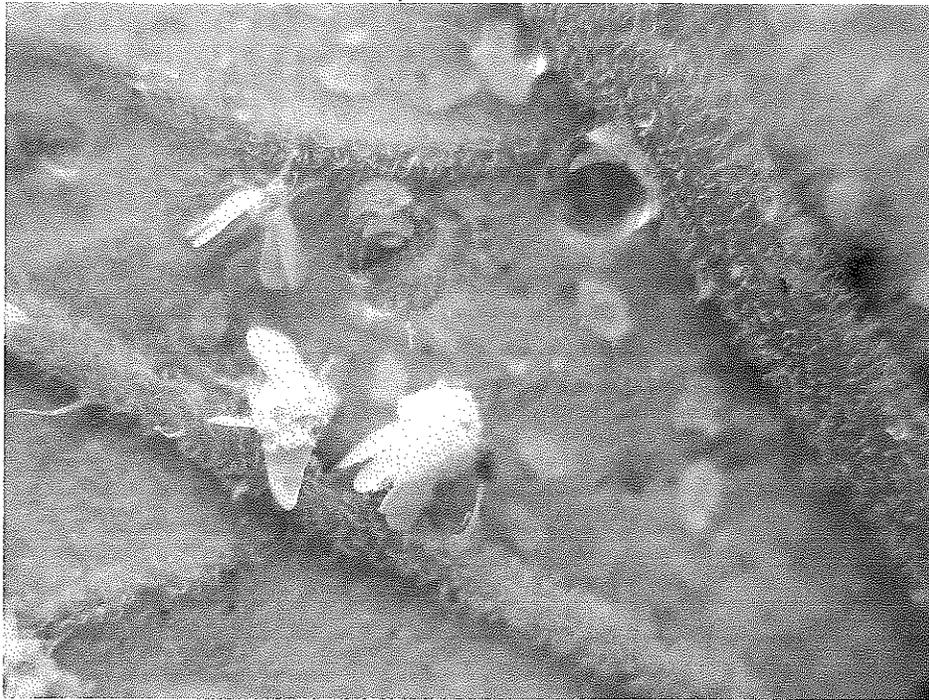


FOTO 3: Adulto de *B. tabaci* parasitado por *Paecilomyces sp.* en planta de tomate.

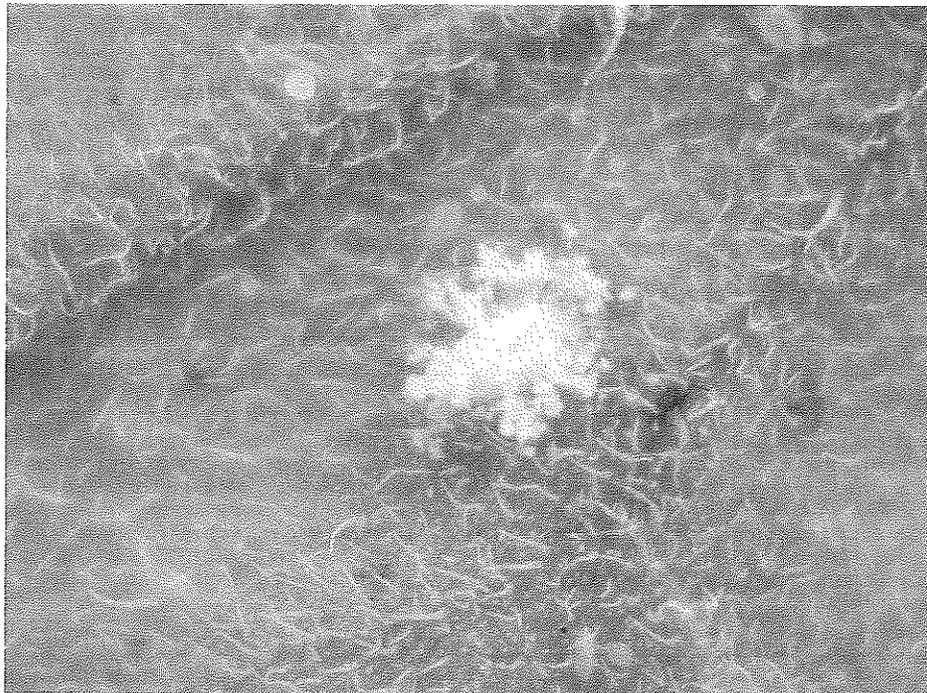


FOTO 4: Ninfa IV de *B. tabaci* parasitada por *Paecilomyces sp.* en planta de tomate.

TABLONES CON LOS ANALISIS DE VARIANZA OBTENIDOS EN LOS EXPERIMENTOS EFECTUADOS EN CATIE.

➤ **Tomate Dentro Posición Envés. Variable: Germinación.**

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0001
Semana	0,0007

Test: Duncan Alfa:=0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	B
P + Aceite	B
P + Agua	B

➤ **Tomate Dentro Posición Haz. Variable: Germinación.**

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0001
Semana	0,0112

Test: Duncan Alfa:=0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A, B
Agua	B
P + Agua	C
P + Aceite	C

➤ **Melón Dentro Posición Envés. Variable: Germinación.**

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,009
Semana	0,12

Test: Duncan Alfa: =0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A
P + Aceite	B
P + Agua	B

➤ **Melón Dentro Posición Haz. Variable: Germinación.**

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,003
Semana	0,03

Test: Duncan Alfa: =0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A
P + Agua	B
P + Aceite	B

➤ **Melón Fuera Posición Envés. Variable: Germinación.**

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0001
Semana	0,0041

Test: Duncan Alfa: =0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A
P + Agua	B
P + Aceite	C

➤ Melón Fuera Posición Haz. Variable: Germinación.

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0143
Semana	0,0003

Test: Duncan Alfa:=0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A, B
P + Agua	B
P + Aceite	B

➤ Tomate Fuera Posición Envés. Variable: Germinación.

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0002
Semana	0,743

Test: Duncan Alfa:=0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A, B
P + Agua	B
P + Aceite	B

➤ Tomate Fuera Posición Haz. Variable: Germinación.

Cuadro de Análisis de la Varianza	p-valor
Tratamiento	0,0002
Semana	0,628

Test: Duncan Alfa:=0,05

Tratamiento	Letras distintas indican diferencia $p < 0,05$
M + Agua	A
M + Aceite	A
Agua	A
P + Agua	B
P + Aceite	B