

Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zímm.) Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)¹

.....

Evaluation of native strains of *Verticillium lecanii* (Zímm.) Viegas in the control of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)

.....

Javier García González²
A. López-Ávila³

Resumen

La mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* es un insecto plaga que posee un rango amplio de hospederos y causa pérdidas significativas en cultivos de frijol, arveja, habichuela y tomate, entre otros. El trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones "Tibaitatá" de CORPOICA, con el propósito de evaluar la eficiencia de varias cepas nativas de *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca de los invernaderos y seleccionar las mejores cepas para un programa de manejo integrado de la plaga. Determinar la concentración letal media (CL₅₀) y evaluar en campo preformulaciones de las cepas seleccionadas. Se escogieron seis cepas nativas procedentes de aislamientos de adultos colectados en campo en la provincia del Sumapaz. Mediante ensayos en invernadero se evaluaron estas cepas sobre ninfas en II instar de la mosca blanca y se seleccionaron dos codificadas como Cepa C17 y Cepa C26. A éstas se les determinó la CL₅₀; la cepa C26 alcanzó su CL₅₀ a una menor concentración de propágulos/ml que la cepa C17, por lo cual la primera pasó a un proceso de formulación en el que se obtuvieron dos productos, uno, polvo mojable y otro liofilizado. Estos pro-

ductos se evaluaron en un ensayo de campo donde se compararon con otros tres tratamientos. En los tratamientos polvo mojable y liofilizado se observaron niveles de infección de ninfas de mosca blanca, iguales ó superiores a los presentados por los otros tratamientos, sin embargo, no mostraron diferencias significativas.

Palabras claves: Hongos entomopatógenos, *Verticillium lecanii*, *Trialeurodes vaporariorum*, Concentración letal media (CL₅₀), Polvo mojable, Liofilizado.

Summary

The greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) is an insect pest with wide range of host plants, and causes sever damages and significant losses in field and greenhouse crops such as bean, greenbean, pea and tomato. This study was conducted in order to evaluate the virulence of several native strains of *Verticillium lecanii* to the greenhouse whitefly and select the most efficient for an Integrated Pest Management programme. The median lethal concentration (LC₅₀) of native strains was determinate under greenhouse conditions and the entomopathogenic activity of the selected strains presented as two preformulations were evaluated under field conditions. The greenhouse trials were carried out over nymphs of II instar, testing six native isolates. Among these strains C17 and C26 were selected in a preliminary assay and their LC₅₀ were determinate. C26 presented a smaller value of LC₅₀ than C17 strain, this value was expressed as propagules/ml. A mass production and formulation process were performed with the strain, C26, obtaining two products: "Wet Powder" and "Freeze-Dried" formulations. These products were tested against the pest in

field trials. The "Wet Powder" and "Freeze-Dried" treatments, infected equal or highest levels of whitefly nymphs, compared with the others treatments, nevertheless there was not significant difference among them.

Key words: Fungi Entomopathogenus, *Verticillium lecanii*, *Trialeurodes vaporariorum*, Median lethal concentration (LC₅₀), Wet powder, Freeze-Dried.

Introducción

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

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

¹ Trabajo de tesis. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Santafé de Bogotá

² Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá. Transv. 68 No. 73-09

³ Coordinador Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas MIP. CORPOICA. A.A. 240142 las Palmas, Santafé de Bogotá.

para ser usado en el control de la mosca blanca de los invernaderos.

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

Materiales y Métodos

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

Las cepas del hongo evaluadas en este trabajo se obtuvieron de aislamientos de adultos de mosca blanca infectados, colectados en campo, en diferentes regiones de la provincia del Sumapaz. Los aislamientos fueron codificados y almacenados en el banco de cepas del laboratorio de control biológico de CORPOICA en el C.I. "Tibaitatá". En la Tabla 1 se presentan los datos de colección de las cepas evaluadas en el ensayo de selección.

Las cepas fueron reactivadas en el laboratorio sobre adultos de mosca blanca. Los individuos infectados con el hongo fueron colocados en medio de cultivo PDA para la multiplicación del hongo. Una vez obtenidos los crecimientos suficientes del hongo, éste se separó del medio de cultivo y se llevó a las concentraciones establecidas para su evaluación, mediante técnicas rutinarias en el laboratorio; la aplicación en invernadero se hizo mediante atomizadores plásticos previamente calibrados. Para el ensayo en campo, el hongo fue multiplicado en medio líquido en bandejas de aluminio con sustrato de arroz previamente cocido, licuado y esterilizado. A la biomasa obtenida en estos crecimientos se le añadió un protector de luz U.V. y luego se sometió a un proceso de secado mediante dos técnicas descritas más adelante.

El experimento de selección de cepas tuvo como modelo estadístico un diseño completamente al azar con 15 tratamientos, seis cepas en las concentraciones 1×10^4 y 1×10^8 propágulos/ml más los testigos (Tabla 2); como unidad experimental se usó un matero con cinco plantas de frijol y como unidad de muestreo un foliolo, contando población total y población infectada por el hongo, sobre una de las mitades. Las cepas seleccionadas se incluyeron en un nuevo experimento para determinar su CL_{50} mediante un modelo PROBIT. Como modelo experimental para este ensayo se contó con un diseño completamente aleatorio con doce tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, en el cual se evaluaron las concentraciones 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 propágulos/ml, además de los testigos; como unidad experimental se

Tabla 1. Datos de colección de las cepas de *Verticillium lecanii* evaluadas en los experimentos de selección en invernadero

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

Tabla 2. Tratamientos evaluados en el ensayo de selección de cepas

TRATAMIENTO	CEPA/CONCENTRACIÓN (Propágulos/ml)
T1	Testigo tween y agua
T2	Testigo con tween
T3	Testigo absoluto
T4	C09/ 1×10^4
T5	C09/ 1×10^8
T6	C10/ 1×10^4
T7	C10/ 1×10^8
T8	C17/ 1×10^4
T9	C17/ 1×10^8
T10	C19/ 1×10^4
T11	C19/ 1×10^8
T12	C23/ 1×10^4
T13	C23/ 1×10^8
T14	C26/ 1×10^4
T15	C26/ 1×10^8

usaron cinco plantas sembradas en un matero y como unidad de muestreo 50 ninfas ubicadas en un foliolo. La mejor de las cepas seleccionadas pasó a un proceso de formulación por métodos que están siendo estandarizados en el laboratorio de control biológico en el C.I. "Tibaitatá". De este proceso se obtuvieron dos preformulaciones: una secando la biomasa obtenida de los crecimientos en arroz, a 25 °C en estufa con corriente de aire, para obtener un polvo que se denominó "polvo mojable", y la segunda mediante un proceso de liofilización. Dichos productos fueron evaluados en un ensayo en campo en plantas de habichuela sembradas a una distancia de 0,30 m entre plantas y 0,90 m entre surcos, en el cual se compararon con otros tres tratamientos. El experimento de campo tuvo como modelo estadístico un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos y tres replicaciones. Como unidad experimental se tuvo una parcela de 45 m² con tres surcos y como unidad de muestreo cinco folíolos por parcela, tomados de los tercios inferior y medio de las plantas ubicadas en los surcos centrales de las parcelas. Los tratamientos consistieron en: el manejo tradicional del agricultor basado en la aplicación de insecticidas químicos; un manejo integrado de la plaga basado en la aplicación del insecticida granular carbofurán a

la siembra, colocación de trampas amarillas y la eventual aplicación del insecticida foliar Buprofenzín, a nivel de ataque 3 "presencia de ninfas en el tercio inferior de la planta", según la tabla de nivel de ataque presentada por Ashby *et al.* (1991); un tratamiento con la aplicación del producto comercial biológico Vertisol[®], y los productos preformulados "polvo mojable" y "liofilizado".

Resultados y Discusión

Selección de cepas

En el ensayo de selección de cepas, la concentración de 1×10^8 propágulos/ml presentó los niveles mayores de infección como se puede observar en la figura 1, mostrando diferencias significativas con la concentración 1×10^4 prop/ml para la mayoría de las cepas. Estos resultados demuestran la diferencia existente al aplicar una concentración alta comparada con una baja, ya que la primera posee una mayor cantidad de propágulos que pueden infectar al huésped. Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa D.M.S (Tabla 3), se observó que las cepas codificadas como cepa C17 y C26 mostraron los niveles mayores de infección presentando diferencias significativas con las demás cepas evaluadas. Según Hajek y Leger (1994), las enzimas de

muchos patógenos son determinantes de la virulencia, por que ellas le permiten al patógeno coexistir con los procesos cambiantes asociados con la enfermedad del hospedero. Los resultados en este experimento sugieren que algo en ese sentido puede estar ocurriendo, en este caso si se tiene en cuenta la variación patogénica que se presentó entre las cepas.

Concentración letal media

El análisis de los resultados del ensayo de CL_{50} (PROBIT) mostró valores que correspondieron a $4,92 \times 10^8$ y $1,75 \times 10^8$ propágulos/ml para las cepas C17 y C26 respectivamente, resultados ilustrados en la figura 2. Se nota una mayor actividad patogénica para la cepa 26 la cual alcanza su concentración letal a una menor concentración de prop/ml; estos resultados muestran que la CL_{50} se ubicó en la mayor de las concentraciones evaluadas en 1×10^8 prop/ml lo que plantea la necesidad de obtener cantidades altas del hongo para ocasionar esta mortalidad; las cantidades altas requeridas pueden ser atribuidas a la forma de fructificación del hongo el cual produce conidias y conidióforos terminales poco abundantes mostrando una apariencia lisa y algodonosa, tal como lo menciona Rodríguez (1984).

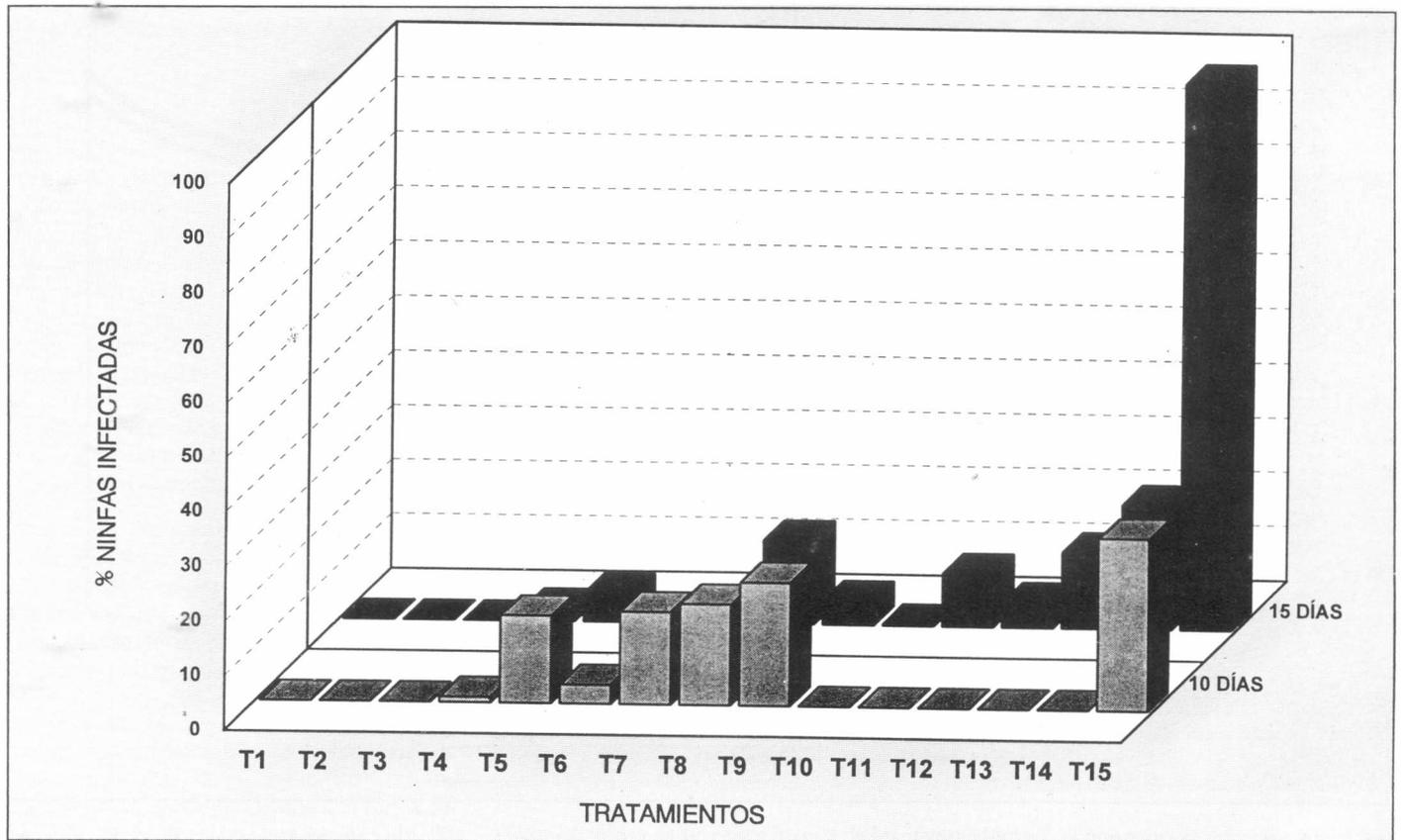


Figura 1. Niveles de infección por tratamiento en cada una de las observaciones realizadas durante el ensayo de selección de cepas.

Tabla 3. Prueba DMS para los promedios ajustados de ninfas infectadas por cepa en las dos observaciones hechas durante el ensayo de selección de cepas

CEPA No	Observación diez días después de aplicados los tratamientos *	Observación 15 días después de aplicados los tratamientos *
C 09	5,0042 b	4,1104 c
C 10	4,8393 b	2,2920 b
C 17	6,8478 a	5,5217 b
C 19	1,8161 c	4,0206 c
C 23	1,6965 c	5,8058 b
C 26	5,5970 b	13,5774 a
(P < 0.05)	0,9207	0,8774

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

Pruebas de Campo

En el ensayo de campo la prueba de comparación de medias D.M.S. no mostró diferencias entre los tratamientos "polvo mojable" y "liofilizado" con los demás tratamientos, sin embargo estos dos tratamientos mostraron niveles de infección iguales o superiores a los otros, lo que demuestra la eficacia y posibilidades de estos preformulados en el

control de ninfas de mosca blanca; estos niveles de infección se presentan en la figura 3. Durante la realización del ensayo se presentaron condiciones de alta humedad ocasionada por las frecuentes lluvias, que favorecieron el desarrollo de enfermedades en el cultivo de tipo fungoso tales como Antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum lindemuthianum* y roya producida por *Uromyces appendiculatus*. Por esta razón fue

necesario aplicar los fungicidas carbendazim, propineb, captam y azufrados; iniciándose las aplicaciones a partir de los 40 días de sembradas las plantas. Como se observa en la figura 3, durante el desarrollo del experimento se presentaron niveles de infección de ninfas de mosca blanca en todas las evaluaciones, lo que plantea la posibilidad de que existe cierto grado de compatibilidad entre el entomopatógeno *V. lecanii* con los fungicidas aplicados; según revisiones hechas por Fransen (1990), algunos fungicidas pueden ser aplicados en forma simultánea con las conidias de *V. lecanii*, mientras que otros deben aplicarse de forma separada para no afectar la acción del entomopatógeno. Según este mismo autor (Fransen 1990), aplicaciones previas del fungicida Benomyl, cuando se aplicó *V. lecanii* para el control de áfidos, no mostraron efectos adversos sobre el entomopatógeno. Como lo muestra la figura 3, los mayores niveles de infección de ninfas de mosca blanca se presentaron a partir de la observación hecha a los 60 días después de la siembra para la mayoría de los tratamientos; este resultado puede ser atribuido al incremento en la población de ninfas de mosca blanca presentado a partir de esta fecha de observación. Al obtenerse mayor cantidad de ninfas de mosca blanca, además de su hábito gregario, se favorece la posibili-

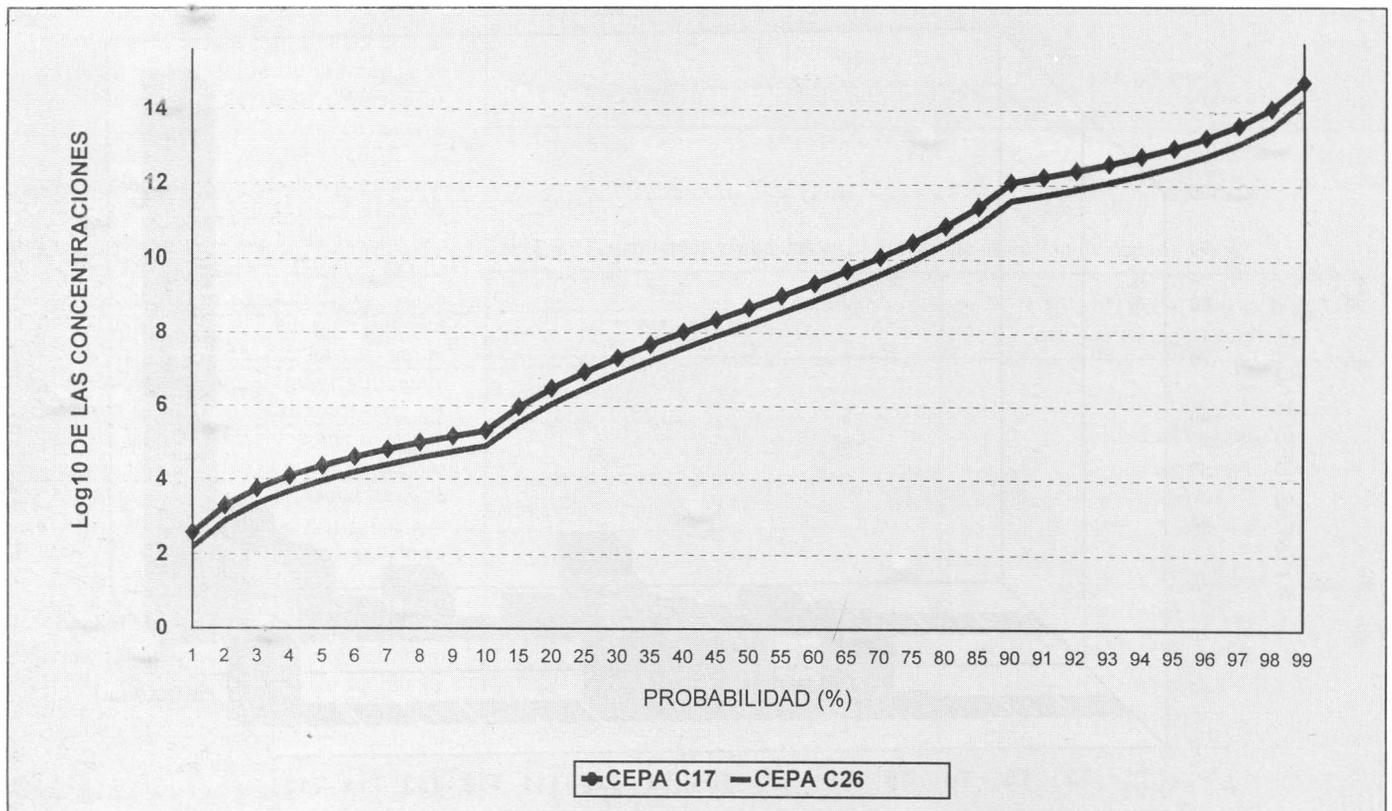


Figura 2. Concentraciones letales de dos cepas de *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*.

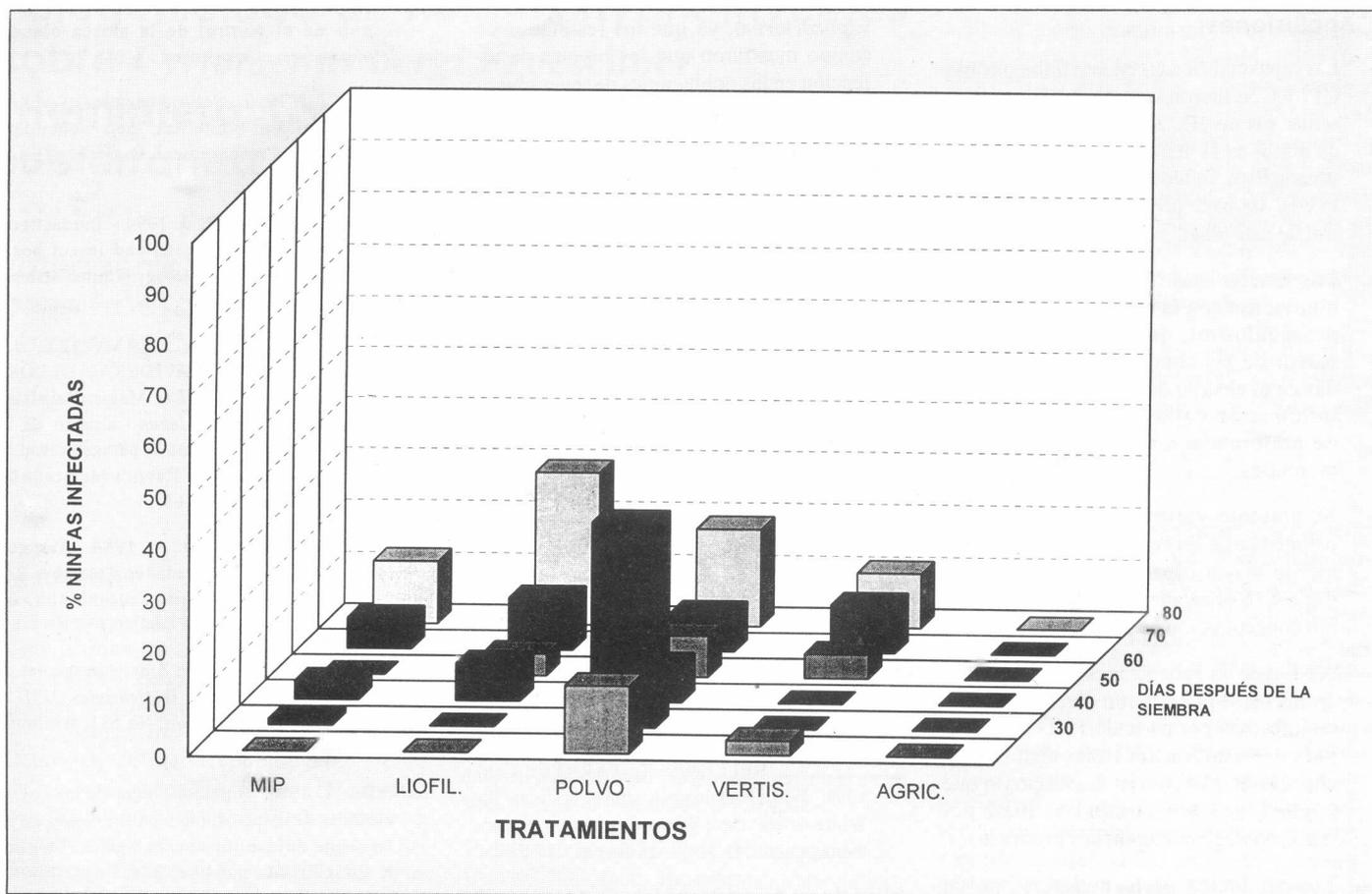


Figura 3. Evaluación en campo de cinco tratamientos para el control de ninfas de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*.

dad de acción por parte de *V. lecanii*, tal y como lo menciona Tanada (1987), quien afirma que mientras más cercanos estén los individuos de una población de insectos mayor será la oportunidad de diseminación de la enfermedad. En la figura 4 se observa una ninfa de mosca blanca infectada por *V. lecanii*, en la cual el micelio del hongo cubre el cuerpo de la ninfa y a su costado derecho la exuvia pupal de un adulto emergido, situación observada con frecuencia en el experimento de campo.

De acuerdo con las observaciones al momento de las aplicaciones en campo, las características físicas de los productos preformulados "polvo mojable" y "liofilizado" tales como solubilidad, tamaño del grano y dilución del producto en la mezcla, fueron superiores para el producto "liofilizado", el cual formó una solución homogénea y se pudo aplicar fácilmente mediante la bomba de espalda que comúnmente utiliza el agricultor. Esta característica puede ser debida a la forma de secado de la biomasa por el método de liofilización en el cual se obtiene un secado rápido y eficiente del producto.

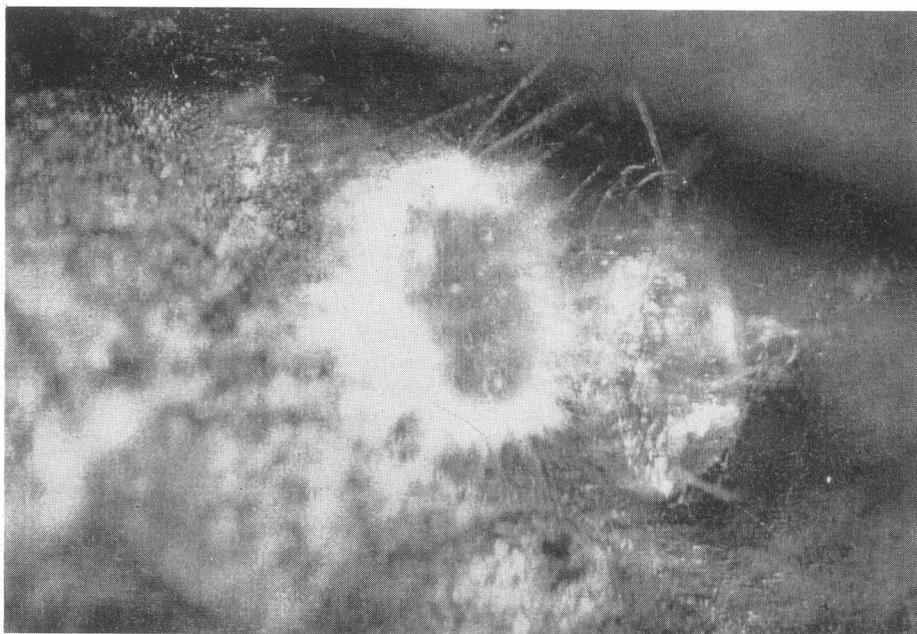


Figura 4. Ninfa de la mosca blanca de los invernaderos *T. vaporariorum* infectada con el hongo entomopatógeno *V. lecanii*. Izquierda: el micelio del hongo que sobresale del cuerpo de la ninfa; derecha: exuvia pupal de una ninfa que no fue infectada (Fotografía: A. López-Ávila).

Conclusiones

- Las cepas codificadas en este trabajo como C17 y C26 fueron seleccionadas por presentar los niveles mayores de infección de ninfas en II instar de mosca blanca en invernadero, frente a las demás evaluadas, lo cual las hace promisorias para el control de esta plaga.
- Los niveles más altos de infección se obtuvieron con la concentración 1×10^8 propágulos/ml, que corresponde a la mayor de las concentraciones evaluadas en el ensayo de selección de cepas, información valiosa para el desarrollo de preformulaciones y productos comerciales.
- Se presentó variación en la actividad patogénica de las cepas seleccionadas, teniendo mayor capacidad de infección la Cepa C26 al alcanzar su CL_{50} a una menor concentración de propágulos/ml.
- A pesar de las aplicaciones con fungicidas químicos, se presentaron diversos niveles de infección por parte de *V. lecanii*, después de su aplicación en las distintas fechas durante el ensayo de campo, lo que sugiere posible compatibilidad del entomopatógeno con dichos productos.
- Los productos preformulados "polvo mojable" y "lío-filizado" son promisorios para el control de la mosca blanca *T.*

vaporariorum, ya que los resultados de campo mostraron que los niveles de infección en las poblaciones de mosca blanca fueron iguales o superiores a los demás tratamientos evaluados.

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

Bibliografía

- ASHBY, J.; CARDONA, C.; PRADA, P.; QUIRÓS, C.; RODRÍGUEZ, A. 1991. Bases para establecer un programa de manejo integrado de plagas en habichuela en la provincia del Sumapaz (Colombia). Abril. Documento de trabajo No 86, p.78.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T. 1991. Whitefly biology. Annual Review of Entomology p. 431-457.
- _____; BELLOWS, T.; PARRELLA, M. 1990. Whiteflies in agricultural systems. En: White tiffles: their bionomics, pest status and management. D. Gerling (Ed.) p. 227-262.
- BUSTILLO, A.; GONZÁLEZ, J.; TAMAYO, P. 1986. Evaluación del hongo *Verticillium lecanii* en el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*. p.15
- FRANSEN, J. J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. En: Whiteflies: their bionomics, pest status and management. D. Gerling (Ed.). p. 187-205.
- HAJEK, A.E.; LÉGER, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology (United States). v. 39, p. 293-322.
- MIER, T.; RIVERA, F.; BERMÚDEZ, J.; DOMÍNGUEZ, Y.; BENAVIDES, C.; ULLÓA, M. 1991. Primer reporte en México del aislamiento de *Verticillium lecanii* a partir de la mosquita blanca y pruebas de patogenicidad in vitro sobre este insecto. Revista Mexicana de Micología v. 7, p. 149-165.
- RODRÍGUEZ SIERRA, D. A. 1984. Hongos entomopatógenos registrados en Colombia. Revista de la Sociedad Colombiana de Entomología. v. 10, p. 57-64.
- RÚSELL, L. 1948. The North American species of whiteflies of the genus *Trialeurodes*. USDA, miscellaneous publication. No 635. Washington D.C. p. 11.
- TANADA, Y. 1987. Epizootiología de las enfermedades de insectos. En: Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. De Bach P. Ed. CECSA. p. 647-678.