

PATOGENICIDAD DE *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILLEMIN SOBRE ESTADOS INMADUROS DE MOSQUITA BLANCA (*BEMISIA TABACI* GENN.)

Esauí Ruiz Sánchez,¹ Agatha T. Rosado Calderón,¹ Wilberth Chan Cupul,¹ Jairo Cristóbal Alejo¹ y Ricardo Munguía Rosales²

¹ Instituto Tecnológico de Conkal. Km 16,3 Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal, Yucatán, México, CP 97345, fax (999) 9124135, esauruizmx@yahoo.com.mx

² Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Yucatán. Calle 19 no. 443, Colonia, Ciudad Industrial, CP 97288, Mérida, Yucatán, México

RESUMEN

Se evaluó la patogenicidad de tres aislamientos nativos (*Bb-Cam*, *Bb-C* y *Bb-M*) y uno comercial (*Bea-sin*) de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin en inmaduros de *Bemisia tabaci* Genn. La evaluación se llevó a cabo en laboratorio a temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$ y humedad relativa del $75 \pm 8\%$ con una solución conidial de 1×10^7 esporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ sobre huevos y ninfas de primer instar. El efecto de los hongos fue mayor en ninfas que en huevos. No se observó diferencia significativa ($p > 0,05$) en la mortalidad de huevos por efecto de los aislamientos de *B. bassiana*. En la aplicación a ninfas, los aislamientos mostraron diferente grado de patogenicidad y sobresalió el aislamiento *Bea-sin* como el más patogénico ($p < 0,05$), que causó el 67,9% de mortalidad. El resto de los aislamientos causó del 42 al 50% de mortalidad. Con los datos de mortalidad en ninfas se calculó el tiempo medio letal de cada aislamiento (TL_{50}) y el área bajo la curva de la mortalidad acumulada (ABCMA). El aislamiento que presentó menor TL_{50} y mayor ABCMA fue *Bea-sin* con 3,6 días y 381,22 unidades, respectivamente. Estos resultados indican que *Bea-sin* fue más virulento que los aislamientos nativos.

Palabras claves: patogenicidad, *Bemisia tabaci*, *Beauveria bassiana*, hongos entomopatógenos

ABSTRACT

The pathogenicity of three indigenous (*Bb-Cam*, *Bb-C* y *Bb-M*) and one commercial (*Bea-sin*) isolates of *Beauveria bassiana* were evaluated on immature states of *Bemisia tabaci*. The evaluation was carried out under laboratory conditions with temperature of $27 \pm 3^\circ\text{C}$ and relative humidity of $75 \pm 8\%$, by the application of a conidial suspension containing 1×10^7 spores $\cdot \text{mL}^{-1}$ to eggs and first instar nymphs. The effect of *B. bassiana* was higher on nymphs than on eggs. No significant difference ($p > 0.05$) was observed on egg mortality caused by *B. bassiana* isolates. These isolates showed different degree of pathogenicity on nymph bioassay. The isolate *Bea-sin* showed the highest ($p < 0.05$) effect (67.9% mortality). The rest of the isolates caused mortality from 42 to 50%. The medium lethal time (TL_{50}) and the area under the curve of cumulative mortality (AUCCM) were calculated for the nymph bioassay. *Bea-sin* showed the lowest TL_{50} and the highest AUCCM, with values of 3.6 days and 381.22 units, respectively. These results indicate that *Bea-sin* showed more virulence than the indigenous isolates.

Key words: pathogenicity, *Bemisia tabaci*, *Beauveria bassiana*, entomopathogen fungi

INTRODUCCIÓN

La mosquita blanca (*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)) es una de las plagas que limitan el desarrollo de una amplia gama de cultivos hortícolas [Gutiérrez *et al.*, 2007; Sotero *et al.*, 2007]. Los daños que produce pueden ser directos, como la succión de savia, e indirectos, como la transmisión de virus fitopatógenos [Cárdenas, 1999]. Los últimos grupos de insecticidas organosintéticos que se registraron en el mercado, como los neonicotinoides y reguladores de crecimiento, hasta hace poco habían sido un medio eficiente de manejo de *B. tabaci*. No obstante, en la actualidad existen numerosos reportes de resistencia de poblaciones de *B. tabaci* a esos grupos insecticidas

[Horowitz *et al.*, 1999; Palumbo *et al.*, 2001; Nauen *et al.*, 2002].

El uso de hongos entomopatógenos para el control biológico de *B. tabaci* ha cobrado importancia en los últimos años. En este contexto, los géneros *Paecilomyces*, *Lecanicillium*, *Aschersonia*, *Beauveria* y *Metarhizium* se han empleado con bastante éxito de manera experimental o en aplicaciones de campo [Monzón, 2001; Dos Santos y Pozo, 2003; Pucheta *et al.*, 2006]. En general, los hongos representan una excelente alternativa porque pueden infectar diferentes estados de desarrollo de su hospedero y son de baja o nula patogenicidad para organismos benéficos y para el humano [Ferron, 1977].

Beauveria bassiana (Deuteromycetes: Moniliales) comúnmente parasita insectos de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera y Hemiptera [Falcon, 1985; Tanada y Kaya, 1993; Humber, 1996]. Inclusive, a nivel de campo este hongo se ha desarrollado exitosamente como agente de control biológico de diversos insectos plaga como el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) [Goettel, 1992; Godonou *et al.*, 2000], la broca del café *Hypothenemus hampei* [Gaitán *et al.*, 2002] y la langosta (*Schistocerca gregaria*) [Pariona *et al.*, 2007]. *B. bassiana* también se ha evaluado contra huevos y ninfas de *B. tabaci*, donde este hongo ha mostrado diferentes grados de patogenicidad. Por ejemplo, Al-Deghairi (2008) reporta que ocasiona bajos porcentajes de mortalidad en huevos. Por el contrario, en algunos estudios en ninfas se han encontrado porcentajes de mortalidad de hasta el 96,5% [Espinel *et al.*, 2008]. La patogenicidad se ha comprobado que depende de las características propias de los aislamientos, como lo demuestran Vicentini *et al.* (2001), quienes encontraron que la mortalidad de ninfas de *B. tabaci* varió del 6,1 a 92,3% al evaluar 50 aislamientos de *B. bassiana*.

En el presente trabajo se evaluó la patogenicidad y virulencia de tres aislamientos nativos y uno comercial de *B. bassiana* en estados inmaduros de *B. tabaci*, con la finalidad de encontrar agentes de control biológico efectivos y adaptados a condiciones ambientales regionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los adultos de *B. tabaci* se colectaron en cultivos de chile habanero (*Capsicum chinense*) del Instituto Tecnológico de Conkal (ITC), en Conkal, Yucatán, México. Los adultos se transfirieron al invernadero de adaptación del ITC y se colocaron en jaulas entomológicas de 1 x 0,6 x 0,6 m, hechas de malla antiáfidos y marco metálico, las que contenían plántulas de *C. chinense* en macetas de plástico. Los aislamientos nativos experimentales de *Beauveria bassiana* (Bb-Cam, Bb-C y Bb-M) fueron aislados de mosquitas blancas por personal del Laboratorio de Reproducción de Hongos Entomopatógenos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Yucatán, México. Los aislamientos se reactivaron en el Laboratorio de Fitopatología del ITC en medio artificial sabouraud-dextrosa-agar a temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$ y fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad. La cepa comercial Bea-sin se utilizó en su presentación comercial.

Para los bioensayos se emplearon plántulas de *C. chinense* con 30 días de edad como hospederas de *B. tabaci*. Los estados inmaduros del insecto se obtuvieron según la metodología de Muñiz y Nombela (2001). Se tomaron cinco adultos de *B. tabaci* con un aspirador bucal y se depositaron en una jaula pinza, sujeta a una hoja completamente extendida de la parte superior de la plántula. A las 24 h los adultos y las microjaulas fueron retirados, de tal manera que los huevos ovipositados pudieran usarse inmediatamente para los bioensayos respectivos o se esperase de cinco a siete días para los bioensayos con ninfas de primer instar. Únicamente se dejaron de 25 a 30 huevos o ninfas por hoja como unidad experimental.

Las suspensiones de conidios para los bioensayos se obtuvieron de los aislamientos cultivados en medio SDA, a los que se agregó 10 mL de agua destilada más tween 80 al 0,05% (v/v) en las placas de Petri para remover el micelio y esporas mediante raspado con un bisturí. El producto del raspado se filtró por medio de gasas estériles para obtener suspensiones de conidios puras; las que se ajustaron a 1×10^7 esporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ con ayuda de una cámara de Neubauer y un microscopio compuesto [Alean, 2003]. Los tratamientos se aplicaron por inmersión de las hojas de *C. chinense* que contenían los huevos o ninfas durante 15 s en las suspensiones de conidios ya mencionadas [Gindin *et al.*, 2000]. El testigo se trató con agua destilada estéril más tween 80. Las plantas que contenían las hojas tratadas se mantuvieron en el Laboratorio de Fitopatología del ITC a temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$, humedad relativa del $75 \pm 8\%$ y fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad.

Las evaluaciones de mortalidad se realizaron diariamente durante siete días en los bioensayos con huevos y durante 10 días en los bioensayos con ninfas. Las evaluaciones se llevaron a cabo con un microscopio estereoscópico, se registró como muertos los huevos micosados, necrosados, deformes y no eclosionados [Gindin *et al.*, 2000; Skrobek, 2001]; y en ninfas los criterios para considerar ninfas muertas fueron los cambios de coloración, brillo, forma y aspecto del cuerpo, así como el crecimiento de micelio sobre este [Dos Santos *et al.*, 2003]. En todos los experimentos se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Los resultados de las pruebas de patogenicidad en huevos y ninfas se analizaron en el programa estadístico SAS ver. 8 e para Windows (SAS Institute Inc., USA), con el cual también se calculó el TL_{50} mediante análisis probit. El área bajo la curva de

la mortalidad acumulada (ABCMA) se calculó por medio de la siguiente ecuación [Campbell y Madden, 1990]:

$$ABCMA = \sum_3^{n-3} *y_i + y_{i+3} + 14 \times *t_{i+3} - t_i +$$

donde:

N: Número de evaluaciones

Y: Porcentaje acumulado de mortalidad

t: Número de días entre cada evaluación

La primera evaluación se llevó a cabo con $t = 1$ y $y = 0$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de mortalidad de huevos de *B. tabaci* por efecto de *B. bassiana* varió del 21,5 a 27,5% a los siete días después de la aplicación (dda). No se observó diferencia significativa ($p > 0,05$) entre la mortalidad producida por los aislamientos y la registrada en el testigo (Tabla 1), en el que se observó el 16,5% de mortalidad de huevos. Otros estudios han reportado muy bajos efectos ovicidas de *B. bassiana* en *B. tabaci*. Al-Deghairi (2008), por ejemplo, reportó mortalidades menores al 5% al usar suspensiones de conidios similares a las eva-

luadas en el presente trabajo. Para efectos de comparación es preciso mencionar el trabajo de Gindin *et al.* (2000), quienes utilizaron *Lecanicillium lecanii* en concentraciones de 1×10^7 esporas \cdot mL⁻¹, donde se observó del 14 al 26% de mortalidad de huevos. Ese resultado fue considerado como excelente efecto ovicida.

Los porcentajes de mortalidad de ninfas de *B. tabaci* fueron mayores que los observados en huevos. La mortalidad de ninfas por efecto de *B. bassiana* varió del 42 al 67,8% (Tabla 1). El aislamiento Bea-sin, que ocasionó el 67,8% de mortalidad, presentó significativamente mayor virulencia que los aislamientos Bb-M y Bb-Cam, que ocasionaron el 42,5 y el 42% de mortalidad, respectivamente. Se considera entonces que los aislamientos nativos evaluados en este estudio presentan menor capacidad patogénica que el aislamiento comercial Bea-sin. Aun así el efecto de los aislamientos nativos son parecidos a los encontrados en otros estudios de patogenicidad de aislamientos nativos de *B. bassiana* en inmaduros de *B. tabaci*, como el que reporta Catie (2006), donde se encontró que los aislamientos más patogénicos causaron el 58% de mortalidad en ninfas de primer instar.

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad acumulada en estados inmaduros de *B. tabaci* por efecto de *B. bassiana* (1×10^7 esporas \cdot mL⁻¹) aplicado por inmersión de hojas que contenían huevos o ninfas de *B. tabaci*

Cepa	Mortalidad en huevos (7 dda)	Mortalidad en ninfas (10 dda)
Bea-sin	21,5 ± 1,0 a	67,8 ± 4,7 a
Bb-C	23,3 ± 7,0 a	50,1 ± 4,6 ab
Bb-M	27,5 ± 5,5 a	42,5 ± 3,2 bc
Bb-Cam	23,1 ± 8,9 a	42,0 ± 5,1 bc
Testigo	16,4 ± 5,4 a	23,9 ± 3,7 c

dda: Días después de la aplicación.

Valores dentro de la misma columna que no comparten literales indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0,05$).

"

Se obtuvieron otros parámetros indicativos de la capacidad patogénica de los aislamientos evaluados como el área bajo la curva de la mortalidad acumulada (ABCMA) y el tiempo medio letal (TL₅₀) de cada aislamiento. Al respecto se observó que Bea-sin con 381,2 presentó significativamente mayor valor de ABCMA comparado con el resto de los aislamientos que presentaron de 160 a 235,9 unidades. Por otro lado, el tiempo medio letal varió de tres a nueve días (Tabla 2). Con base en el traslape del intervalo de confianza (IC), el

aislamiento Bea-sin presentó significativamente menor TL₅₀ con 3,6 días. Valores bajos de TL₅₀ son indicativos directos de alta capacidad patogénica de los hongos. En este contexto cabe mencionar que los efectos observados en Bea-sin están por encima de los que reportan otros autores como Vicentini *et al.* (2001), quienes encontraron que el tiempo medio letal era de más de siete días en un estudio de 50 aislamientos de *B. bassiana* bajo condiciones similares de temperatura y humedad a las prevalecientes en el presente estudio. Algunos estu-

dios que muestran efectos mayores de *B. bassiana* deben tomar en cuenta las condiciones de temperatura y humedad relativa durante tales experimentos. Espinel *et*

al. (2008), por ejemplo, encontraron hasta el 96,5% de mortalidad en ninfas, pero a temperaturas más bajas y humedad relativa más alta que las del presente estudio.

Tabla 2. Área bajo la curva de la mortalidad acumulada (ABCMA) y tiempo medio letal (TL50) de *B. bassiana* (1 x 10⁷ esporas • mL⁻¹) en ninfas de *B. tabaci*

Cepa	N	ABCMA ± EEM	TL ₅₀ ± (IC; días)	Pendiente	Pr > F
Bea-sin	4	381,2 ± 42,2 a	3,6 ± (3,3-4,0) a	2,2	< 0,0001
Bb-C	4	235,9 ± 23,9 b	6,3 ± (5,7-7,0) b	2,6	< 0,0001
Bb-M	4	215,8 ± 19,7 b	8,8 ± (7,2-11,7) c	1,5	< 0,0001
Bb-Cam	4	160,0 ± 24,9 b	9,1 ± (7,9-11,2) c	2,3	< 0,0001

N: Número de repeticiones

TL₅₀ ± (IC): Tiempo medio letal ± intervalo de confianza

Pr > F: Indica el ajuste del modelo de análisis probit para el cálculo de TL₅₀

Valores dentro de la misma columna que no comparten literales indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, *p* < 0,05).

CONCLUSIONES

- Los aislamientos de *B. bassiana* (Bb-Cam, Bb-C y Bb-M) evaluados tienen mayor capacidad patogénica en ninfas que en huevos de *B. tabaci*.
- Ninguno de los aislamientos nativos mostró mayor patogenicidad que el aislamiento comercial Bea-sin, el cual causó mayor área bajo la curva de la mortalidad acumulada y menor tiempo medio letal.
- Este aislamiento podría considerarse un agente potencial de control biológico de *B. tabaci*, alternativa que tendría aplicación tanto en sistemas de manejo integrado de plagas como en sistemas de manejo ecológico y orgánico.

REFERENCIAS

Al-Deghairi, M. A.: «Bioassay Evaluation of the Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* Vuellenim Against Eggs and Nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae)», *Pakistan Journal of Biological Science* 11(12):1551-1560, Pakistán, 2008.

Alean, C. I.: «Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca (*Aleurotrachelus socialis* Bondar) (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero», tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2003.

Campbell, C. L.; L. V. Madden: *Introduction to Plant Disease Epidemiology*, Ed. John Wiley & Son., Nueva York, 1990.

Cárdenas S. E.: «Virus transmitidos por mosquita blanca», *Hortalizas: plagas y enfermedades*, Ed. Trillas. México, 1999, pp. 176-178.

Catie: «Desarrollo de micoinsecticidas para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en cultivos frutales y hortícolas, en zonas neotropicales», Informe técnico final de proyecto Fontagro, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Colombia, 2006.

Dos Santos, R. A.; N. M. Pozo: «Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay», *Bol. San. Veg. Plagas* 29:211-218, España, 2003.

Espinel, C.; L. Torres; E. Grijalba; L. Villamizar; A. M. Cotes: «Preformulados para control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en condiciones de laboratorio», *Revista Colombiana de Entomología* 34(1):22-27, Colombia, 2008.

Falcon, L.: *Development and Use of Microbial Insecticides in Biological Control in Agricultural IPM Systems*, Academic Press, Londres, 1985, pp. 229-242.

Ferron, P.: «Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Fungi», *Annual Review of Entomology* 23:409-442, EE.UU., 1977.

Gaitán, A.; A. M. Valderrama; G. Saldarriaga; P. Vélez; A. Bustillo: «Genetic Variability of *Beauveria bassiana* Associated to the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* and Other Insects», *Mycological Research* 106(11):1307-1314, Inglaterra, 2002.

Gindin, G.; N. U. Geschtovt; B. Raccach; I. Barash: «Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to Different Developmental Stages of the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*», *Phytoparasitica* 28(3):1-11, Holanda, 2000.

Godonou, I.; K. R. Green; K. A. Oduro; C. J. Lomer; K. Afreh-Nuamah: «Field Evaluation of Selected Formulation of *Beauveria bassiana* for the Management of the Banana Weevil (*Cosmopolites sordidus*) on Plantain (*Musa* spp.)», *Biocontrol Science and Technology* 10(6):779-788, Inglaterra, 2000.

Goettel, M.: «Fungal Agents for Biocontrol», *Biological Control of Locust and Grasshoppers*, CAB International, Ascot, Inglaterra, 1992, pp. 122-132.

Gutiérrez, O. M.; J. C. Rodríguez M.; C. Llanderal C.; A. P. Terán V.; A. Lagunes T.; O. Díaz G.: «Estabilidad de la resistencia a Neonicotinoides en *Bemisia tabaci* (Gennadius), Biotipo B de San Luis Potosí, México», *Agrociencia* 41:913-920, México, 2007.

Horowitz, R.; Z. Mendelson; M. Cahill, I. Deholm, I. Ishaaya: «Managing Resistance to the Insect Growth Regulator, Piriproxyfen, in *Bemisia tabaci*», *Pesticide Science* 55(3):272-276, Inglaterra, 1999.

Humber, R.: «Fungi: Identification», *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, Nueva York, 1996, pp. 153-185.

Monzón, A.: «Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua» *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 63:95-103, Costa Rica, 2001.

Muñiz, M.; G. Nombela: «Differential Variation of Development of the B- and Q-Biotypes of *Bemisia tabaci* on Sweet Pepper *Capsicum annum* L. at Constant Temperatures», *Environmental Entomology* 30:720-727, EE.UU., 2001.

Patogenicidad de Beauveria bassiana...

- Nauen, R.; N. Stumpf; A. Elbert: «Toxicological and Mechanistic Studies on Neonicotinoid Cross Resistance in Q-Type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)», *Pest Management Science* 58(9):868-875, Inglaterra, 2002.
- Palumbo, J. C.; A. R. Horowitz; N. Prabhaker: «Insecticidal Control and Resistance Management for *Bemisia tabaci*», *Crop Protection* 20:739-765, EE.UU., 2001.
- Pariona, N.; P. Castellanos; E. León: «Capacidad entomocida de cepas nativas de *Beauveria* spp. sobre *Schistocerca piceifrons peruviana*», *Revista Peruana de Biología* 14(2):253-257, Lima, 2007.
- Pucheta, D. M.; A. Flores; N. Rodríguez; M. de la Torre: «Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos», *Interciencia* 31(12): 856-860, Venezuela, 2006.
- Skrobek, A.: «Investigations on the Effect of Entomopathogenic Fungi on Whiteflies» Institut für Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Doktorwürde der Agrarwissenschaften, http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/landw_fack/2001/skrobek_anke/text.pdf. 2001 (consultado en enero del 2009).
- Sotero, A. M.; J. C. Rodríguez M.; C. Santillán O.; A. Lagunes T.; O. Díaz G.; J. L. Martínez C.: «Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B colectadas en Baja California y Sinaloa, México», *Interciencia* 32(4):226-269, Venezuela, 2007.
- Tanada, Y.; H. Kaya: *Insect Pathology*, Academic Press, Nueva York, EE.UU., 1993.
- Vicentini, S.; M. Faria; R. M. Oliveira: «Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Isolates Against *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B. (Hemiptera: Aleyrodidae) with a Description of a New Bioassay Method», *Neotropical Entomology* 30(1):97-103, Brasil, 2001.