Incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre los instares ninfales de *Bemisia* spp. en plantas de tomate (*Licopersicum esculentum* Mill.), en tres localidades de la provincia de Granma

María de los A. Fonseca Flores (1), Carmen Guerrero Guerra (1), Edilberto Pozo (2), José A. Pérez (1), Ariel Verdecia Verdecia (1), Diana Bruqueta Yero (1), Rosa Nogueras (1), Carlos Tornés Vega (1), Yanela Moreno Prieto (3)

(1) Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov", Bayamo, provincia de Granma.
(2) Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
(3) Universidad de Granma.

RESUMEN. Se evaluó la incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia* spp. teniendo en cuenta diferentes estadios de la plaga y los tres niveles de las plantas de tomate (*Licopersicum esculentum* Mill.) (inferior, medio y superior) en tres localidades de la provincia de Granma: Los Cayos, Sabanilla y Juacaibama. Se utilizó el método de Landa *et al.* (1994) para evaluar la mortalidad ocasionada por hongos. A partir de los insectos con esporulación fungosa, se obtuvieron aislados en medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar, con pH 6,5 y temperatura entre 28-30 °C. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones. Para el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el análisis de varianza del programa "Statistic". En las tres localidades estudiadas el segundo, tercero y primer instares de *Bemisia* spp. en plantas de tomate, fueron los más infectados, de forma natural, por hongos entomopatógenos. Se obtuvieron tres aislados con características macroscópicas de las colonias, en Sabouraud dextrosa agar y sobre el insecto, que sugieren una coincidencia con el género *Cladosporium.*

Palabras clave: hongos entomopatogenos, instares ninfales, *Bemisia* spp., tomate.

ABSTRACT. The natural incidence of entomopathogenic fungi on *Bemisia* spp. on the nimphals instars of the pest and three height levels of tomato plants (*Licopersicum esculentum* Mil) was evaluated, at three localities of Granma province: Los Cayos, Sabanilla y Jucaibama. The fungal mortality was determined using the method of Landa (1994). From insects with fungal sporulation, in Sabouraud dextrose agar, with ph 6,5 and temperature betwen 28-30 °C, isolated were obtained. A completely randomly design, with three replication was used. For the statistic analysis, the variation analyse of the Statistic Software was used. At the three localities studied, the second, third and first nimphal instars of *Bemisia* spp. were the most infected by naturally occurring of entomopathogenic fungi. Three isolated , with macroscopic characteristic according with *Cladosporium* were obtained at the three localities studied.

Key words: entomopathogenic fungi, nimphals instars, *Bemisia* spp., tomato.

INTRODUCCIÓN

El potencial de resistencia desarrollado por las poblaciones de *Bemisia* spp. como consecuencia del uso intensivo de insecticidas químicos, ha estimulado el estudio de estrategias de manejo integrado en las cuales el control biológico debe jugar un rol significativo (Faria y Wraight, 2001).

Las "moscas blancas" se alimentan succionando directamente la savia de las plantas. Esto hace que no sean susceptibles a la mayoría de los patógenos comunes de insectos, incluyendo bacterias y virus, los cuales se transmiten a través de la alimentación del insecto sobre follaje contaminado. La mayoría de los hongos, al infectar a su hospedante a través de la cutícula, se encuentran entre los enemigos naturales más frecuentes de las "moscas blancas" (Lacey, 1997).

La mayoría de los reportes de infecciones fungosas naturales sobre *Bemisia* spp. son especies de Hyphomycetes, especialmente *Paecilomyces*, *Verticillium* y *Aschersonia* spp. (Fransen, 1990; Cock, 1993; Lacey *et al.*,1996).

Un rango amplio de otros hongos son reportados sobre *Bemisia* sp. como *Cladosporium* spp. (Lacey *et al.*, 1996).

Antes de la crisis de la agricultura, causada por las altas poblaciones de *Bemisia* a principios de los 90, el papel de los hongos, como agentes reguladores de las poblaciones de *Bemisia*, fue ignorado o subvalorado. A partir de la experiencia ganada en el control integrado de la mosca de los invernaderos y la de los cítricos, se demostró la efectividad de los patógenos fungosos como componentes fundamentales en el control integrado de esta plaga (Fransen, 1990; Van der Shaaf *et al.*, 1991; Ravensberg *et al.*, 1992).

Este trabajo describe el estudio realizado para evaluar la mortalidad natural ocasionada por hongos entomopatógenos sobre la "mosca blanca" (*Bemisia* spp.) en el cultivo del tomate, en tres localidades de la provincia de Granma, teniendo en cuenta la influencia de los niveles de la planta y los instares ninfales de la plaga, así como el aislamiento y descripción macroscópica de los aislados más frecuentes, asociados con la plaga durante el estudio en las tres localidades.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Control Biológico del Grupo de Suelos y Sanidad Vegetal del Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov".

Se llevaron al laboratorio hojas de tomate (*Licopersicum esculentum* Mill.) provenientes de cultivos de tres localidades en la provincia de Granma: Los Cayos, Jucaibama y Sabanilla, infestadas con *Bemisia* spp. Las ninfas del primero al cuarto instar y pupas, de hojas provenientes de los tres niveles de la planta, se colocaron sobre portaobjetos en cámara húmeda con papel de filtro humedecido en placas de Petri (Landa *et al.*, 1994). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 15 tratamientos (tres niveles y cinco estadios de la plaga) y tres repeticiones. Las evaluaciones se iniciaron a los dos días, y diariamente se registraron los insectos enfermos por hongos, para determinar el porcentaje de mortalidad. Se utilizó un análisis de varianza de clasificación doble para el análisis estadístico de los resultados.

En los insectos donde se observó esporulación del patógeno, con una aguja fina impregnada en la punta de una pequeña porción de medio de cultivo, se tocaron los conidios externos y se inocularon en medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) con pH 6,5, vertido en placas de Petri (60 x15 mm) e incubado en oscuridad continua de 28-30 °C. Del crecimiento micelial obtenido se tomaron porciones de micelio de la zona más joven del cultivo y se inocularon en medio de cultivo SDA que fue vertido en tubos de ensayo; se incubaron en una incubadora Gallenkamp en oscuridad continua y temperatura de 28-30 °C. Los aislamientos puros obtenidos se conservaron a 4 °C (cepario de conservación). Se realizó la descripción macroscópica de los aislados en medio de cultivo SDA y sobre el insecto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción de los niveles de la planta de tomate y los estadios de *Bemisia* evaluados, en cuanto a la incidencia natural de hongos entomopatógenos, no fue significativa en ninguna de las localidades estudiadas. Tampoco los niveles provocaron un efecto significativo sobre la incidencia de hongos entomopatógenos entre las ninfas y las pupas de *Bemisia* spp.

En todas las localidades estudiadas se observó incidencia natural de hongos sobre *Bemisia* spp. con valores que oscilaron entre el 4 y el 60 % en los diferentes estadios de la plaga. Los valores más altos de mortalidad natural en las tres localidades ocurrieron sobre los instares ninfales segundo, tercero y primero, sin diferencias significativas entre sí (Figuras 1, 2 y 3) y los valores más bajos de mortalidad se obtuvieron en el cuarto instar ninfal en todas las localidades.

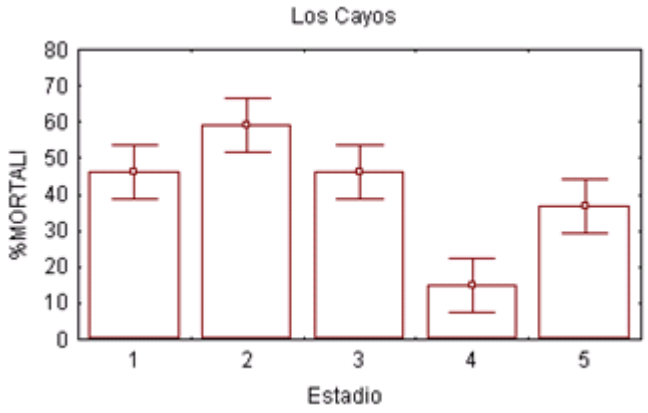

Figura 1. Incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre estadios de *Bemisia* spp. en la localidad de *"*Los Cayos*"*. (p = 0,01). Los errores estándares de la media están representados por las líneas verticales en el extremo de las barras. Los números del 1-4 representan los instares ninfales, el 5 representa el estadio pupal.

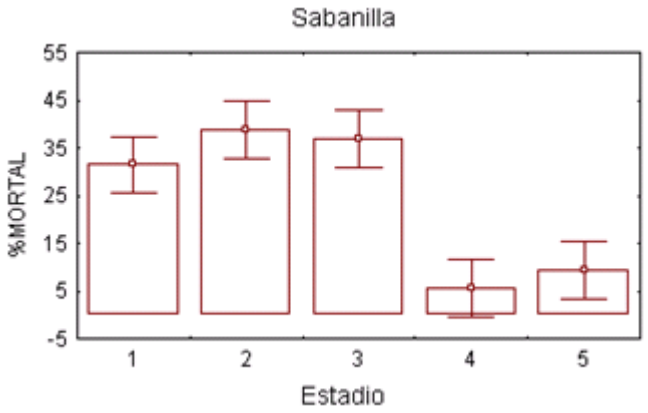

Figura 2. Incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre estadios de *Bemisia* spp. en la localidad de "Sabanilla". (p= 0,002). Los errores estándares de la media están representados por las líneas verticales en el extremo de las barras. Los números del 1-4 representan los instares ninfales, el 5 representa el estadio pupal.

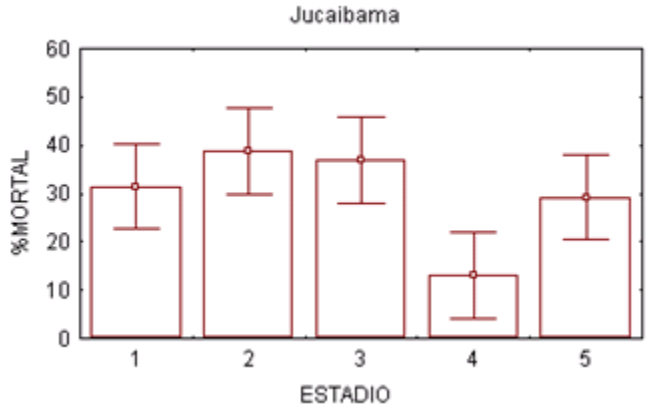

Figura 3. Incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre estadios de *Bemisia* spp. en la localidad de "Jucaibama". (p = 0,08). Los errores estandars de la media están representados por las líneas verticales en el extremo de las barras. Los números del 1-4 representan los instares ninfales, el 5 representa el estadio pupal.

En general, se observó una tendencia a ocurrir una mayor incidencia natural de hongos entomopatógenos sobre ninfas de *Bemisia* spp. en los instares segundo, tercero y primero de la plaga.

La información referente a la susceptibilidad de los diferentes instares ninfales de *Bemisia* spp. a la infección natural por hongos es escasa, sin embargo, sí está documentado el efecto de los diferentes estadios e instares ninfales de moscas blancas en general y de *Bemisia* spp. en particular, sobre la susceptibilidad de estos a las aplicaciones de diferentes especies de hongos entomopatógenos. (Lacey *et al.*, 1996).

La edad y los estadios de la mosca blanca pueden tener un gran efecto sobre su susceptibilidad a diferentes hongos. Las evaluaciones de patógenos fungosos como agentes potenciales de control de moscas blancas se han dirigido a todos los estadios de la plaga. Tratamientos con *Beauveria bassiana* (Lacey *et al.*, 1999); *Paecilomyces fumosoroseus* (Negasi *et al.*, 1998) y *P. amoenoroseus* (Cándido, 1999), han provocado un control muy bajo sobre huevos. Resultados similares se obtuvieron con adultos de *Bemisia tabaci* tratados con *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* (Wraight *et al.*, 2001).

En ensayos de laboratorio Herrera *et al.* (1999), citados por Araujo de A. (2003), comprobaron que la mayoría de los aislados de *B. bassiana* no mostraron ningún efecto importante sobre ninfas del cuarto estadio de *B. tabaci.*

Los adultos y los huevos son los estadios de *Bemisia* spp. menos susceptibles a la infección fungosa. En contraste, los instares ninfales son altamente susceptibles a las infecciones fungosas (Candido, 1999; Ramos *et al.*, 2000; Vicentini *et al.*, 2001) y de estos son los instares más jóvenes los que tienden a ser más susceptibles a hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* (Faria y Wraight, 2001).

Se obtuvieron tres aislamientos de las tres localidades estudiadas, cuyas características macroscópicas de las colonias (tabla 1), y sobre el insecto, sugieren una coincidencia con el género *Cladosporium (*Barnett y Hunter, 1998*)*. Según Fransen (1990), Carvalho *et al.*, (1972) hicieron una referencia vaga a la infección de todos los estadios de *Aleurodicus cocois* por *Cladosporium hebarum*. Por su parte, Rojas *et al.* (1998), iniciaron en Venezuela el estudio taxonómico de hongos asociados a “moscas blancas”, con el fin de generar información de apoyo a programas de control biológico, a partir del cual describen e ilustran un hongo cuyas relaciones taxonómicas suponen su asignación a *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link y presentan una lista mundial de las especies de *Cladosporium* descritas sobre insectos.

Abdel-Baky y Abdel-Salam (2002) encontraron una alta incidencia de *Cladosporium* spp. sobre moscas blancas y áfidos y un rango de infección natural que osciló entre 16,19 y 45,27 % en los dos años evaluados. Estos autores determinaron además que la infección natural de *Cladosporium* sobre los estados de vida de la “mosca blanca” fue superior en las ninfas (87,8 %) más que en los adultos (8,08 %) y huevos (4,15 %).

Tabla 1. Descripción morfológica de los aislamientos obtenidos en medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar

Localidad	Fecha	Coloración de la colonia.	Esporulación
Sabanilla	19-04-04	Gris verdoso	No
Los Cayos	29-3-04	negro	abundante
Jucaibama	19-04-04	Verde oscuro	no

Sobre *Bemisia* spp. todos los aislados, entre los tres y siete días en cámara húmeda, desarrollaron esporulación abundante sobre el insecto, caracterizada por la presencia de conidióforos erectos, verde-amarillo-oliváceo, portando cadenas de conidios de igual

coloración. Los diferentes instares de la plaga, después de la infección con el hongo, cambiaron su coloración verde claro y mostraron un aspecto apergaminado de color marrón (Figura 4).

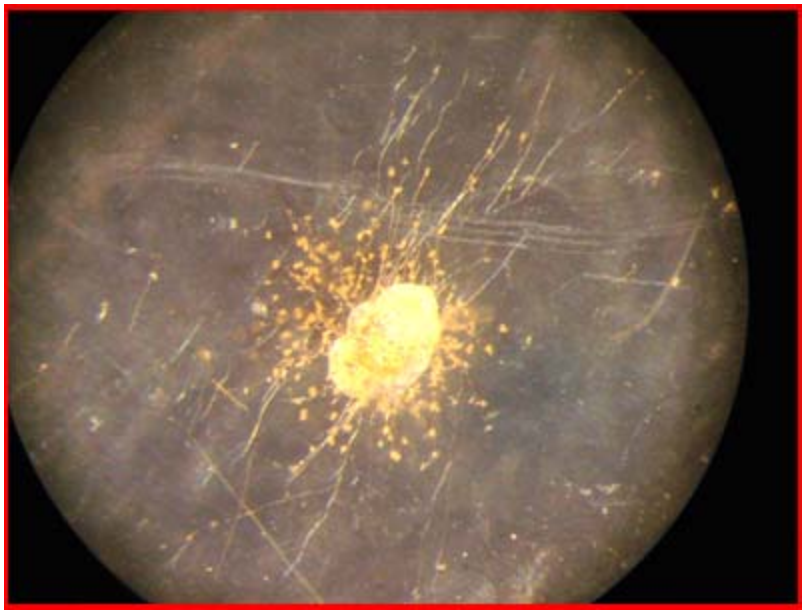

Figura 4. Incidencia natural de *Cladosporium* sobre el tercer instar nifal de *Bemisia* spp. en tomate.

CONCLUSIONES

1. Los estadios de *Bemisia* spp. en plantas de tomate, tuvieron un efecto significativo sobre la susceptibilidad de esta plaga a la incidencia natural de hongos entomopatógenos, en las localidades estudiadas, siendo los instares ninfales 1, 2 y 3 los que presentaron mayor mortalidad por patógenos fungosos naturales.

2. Las poblaciones de *Bemisia* spp. en las localidades estudiadas, estuvieron asociadas frecuentemente con aislados fungosos, que coinciden con el género *Cladosporium*.

BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Baky, N.F. and H. A. Abdel-Salam (2002): "Natural incidence of *Cladosporium* spp as biocontrol agent against whiteflies and aphids". *Egypt. Journal of Applied Entomology* 127(4): 44-64.

Araujo de A., E. (2003): Utilización de hongos entomopatógenos para el control de "moscas blancas" en cultivos hortícolas. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba, 245 pp.

Barnett, H. L. y B. B. Hunter (1998): *Illustrated genera of Imperfect Fungi*. Fourth Edition, APS Press, Minnesota, 218 pp.

Cándido, G.F. (1999): Virulence of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces amoeneroseus* (Hennings) Samson toward the white-fly .y *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring. Ph.D. Thesis, University of California, USA, 100 pp.

Cock, M. J. W. (1993): *Bemisia tabaci* an update 1986-1992 on the cotton whitefly with annotated bibliography. CAB International Institute of Biological Control, Wallingford, UK, 78 pp.

Faria.M.and S. P. Wraight (2001): "Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi". *Crop Protection* 20: 767-778.

Fransen, J. J. (1990): Natural enemies of whiteflies: fungi. in: Gerling, D. (Ed.), Whiteflies, their Bionomics, Pest Status and Management. Intercept, Andover, UK, pp. 187-210.

Herrera, F.; M. Carballo; P. Shannon (1999): "Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci* en condiciones de laboratorio". *Manejo Integrado de Plagas* 54: 37-43.

Lacey, L. A.; J. J. Fransen; R. Carruthers (1996): Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. in: Gerling, D., Mayer, R.T. (Eds.), *Bemisia* 1995: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Intercept, Andover, UK, pp. 401-433.

Lacey, L. A. (1997): *Manual of Techniques of Insect pathology*. Lacey L. ed. Academic Press, San Diego, 409 pp.

Lacey, L. A.; A. A. Kirk, L. Millar, G. Mercadier; C. Vidal (1999): "Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects". *Biocontrol Sci. Technol.* 9: 9-18.

Landa, Z.; L. Osborne; F. Lopez; J. Eyal (1994): "A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on white flies". *Biol. Control* 4: 341-350.

Negasi, A.; B. L. Parker; M. Brownbridge (1998): "Screening and bioassay of entomopathogenic fungi for the control of silver leaf whitefly *Bemisia argentifolii*". *Insect Sci. Appl.* 18: 37-44.

Ramos, E. Q.; S. B. Alves; M. R. Tanzini; R. B. López (2000): "Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio". *Manejo Integrado de Plagas* 56: 65–69.

Rojas, T.; P. Ninoska; E. Arnal (1998): "*Cladosporium herbarum* sobre moscas blancas en Venezuela". *Bol. Entomol. Venez.* 13(1): 57-65.

Ravensberg, W. J. ; M. Malais ; D. A. Van der Shaaf (1992): *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against glasshouse whitefly". Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference 1, pp. 265-268.

Van der Shaaf, D.A.; W. J. Ravensbergs; M. Malais (1991): "*Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against whiteflies". *IOBC/WPRS Bulletin* 14: 120-123.

Vicentini, S.; M. Faria; M. R. V. de Oliveira (2001): "Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates against nymphs of *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) with description of a new bioassay method". *Neotropica Entomol.* 30: 97-103.

Wraight, S. P.; R. R. Carruthers; S. T. Jaronski; C. A. Bradley; C. J. Garza; S. Galaini-Wraight (2000): "Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*". *Biol. Control* 17: 203-217.