

**EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE DIFERENTES HONGOS
ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA DE
LA YUCA *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae)
BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO**



IRINA ALEAN CARREÑO

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
MICROBIOLOGIA AGRICOLA Y VETERINARIA
Bogotá, D. C. Colombia
2003**

**EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE DIFERENTES HONGOS
ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA DE
LA YUCA *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae)
BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO**

IRINA ALEAN CARREÑO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial
para optar al título de Microbióloga Agrícola y Veterinaria

DIRECTOR
ANTHONY BELLOTTI
Ph.D. Entomología

CO-DIRECTOR
ANUAR MORALES
Biólogo.

ASESOR:
CLAUDIA HOLGUIN
Ingeniero Agrónomo

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
MICROBIOLOGIA AGRICOLA Y VETERINARIA
Bogotá, D. C. Colombia
2003

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	8
2.1. IMPORTANCIA DE LA YUCA	8
2.1.1. Usos de la yuca	11
2.1.1.1 Alimentación humana	11
2.1.1.2. Alimentación animal	12
2.1.1.3 Almidones.....	13
2.1.1.4 Alcohol	14
2.2. INSECTOS Y ÁCAROS PLAGAS DE LA YUCA	15
2.3. GENERALIDADES DE LAS MOSCAS BLANCAS.....	18
2.3.1. Clasificación taxonómica de <i>Aleurotrachelus socialis</i>	20
2.3.2. Distribución geográfica de <i>Aleurotrachelus socialis</i>.....	21
2.3.3. Ciclo de vida de <i>Aleurotrachelus socialis</i>	21
2.3.4. Hábitos y daños	26
2.3.5. Control de <i>Aleurotrachelus socialis</i>	29
2.3.5.1. Resistencia Varietal	29
2.3.5.2. Control Cultural	30
2.3.5.3. Control Químico	31
2.3.5.4. Control Biológico.....	32
2.3.5.5. Control Microbiológico	32
2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS.....	33
2.4.1. Clasificación taxonómica de los hongos entomopatógenos	34
2.4.2. Características de los hongos de la Subdivisión Deuteromycotina...	35
2.4.3. Características morfológicas de la Clase Hyphomycetes.....	36
2.4.4. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos	36

2.4.4.1. Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero	36
2.4.4.2. Germinación de la espora.....	37
2.4.4.3. Penetración del integumento.....	38
2.4.4.4. Penetración a través de cuerpos abiertos	40
2.4.4.5. Replicación en el hemocele	41
2.4.4.6. Dispersión de las esporas	42
2.4.5. Características de la especie <i>Beauveria bassiana</i> (Bálsamo) Vuillemin.....	43
2.4.8. Producción de hongos entomopatógenos.....	49
2.4.8.1. Medios de Cultivo	49
2.4.8.2. Formulaciones de Hongos Entomopatógenos.....	51
2.4.9. Reactivación de los Hongos Entomopatógenos	52
3. MATERIALES Y METODOS	53
3.1. LOCALIZACIÓN	53
3.2. PLANTAS HOSPEDERAS.....	53
3.3. INSECTOS.....	54
3.4. COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LOS AISLAMIENTOS NATIVOS	54
3.5 REACTIVACION DE LOS AISLAMIENTOS NATIVOS	57
3.5.1. Reactivación sobre pupas de <i>A. socialis</i>	57
3.5.2. Aspersión de los hongos entomopatógenos sobre ninfas de	58
<i>A. socialis</i> en hojas de yuca.	58
3.5.3. Adultos en cajas de petri con papel filtro húmedo estéril.....	60
3.5.4. Agar suplementado con insecto.....	60
3.6. PRODUCCIÓN MASIVA DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	61
3.6.1. Obtención de los inóculos	62
3.7. BIOENSAYOS REALIZADOS CON LOS AISLAMIENTOS NATIVOS Y LOS PRODUCTOS COMERCIALES.....	65
3.7.1. Determinación del estado de desarrollo más susceptible y selección del aislamiento más promisorio.....	65

3.7.2. Concentración letal media y noventa (CL ₅₀ y CL ₉₀).	68
3.7.3. Evaluación de productos comerciales.....	68
3.7.3.1 Control de calidad de las formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos.....	70
3.7.3.1.1. Concentración de esporas.....	70
3.7.3.1.2. Viabilidad de esporas.....	70
3.7.3.1.3. Prueba de pureza	71
3.7.3.1.5. Humectabilidad	72
3.7.4. Experimento preliminar. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de <i>A. socialis</i>	72
3.7.4.1. Jaulas pinza.....	73
3.7.4.2. Cajas de Petri.....	73
3.7.4.3. Cilindro de acetato con tela negra.....	73
3.7.5. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de <i>A. socialis</i> en cuarto de cría.....	75
3.7.6. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de <i>A. socialis</i> en casa de malla	76
3.7.7. Concentración letal media y noventa (CL ₅₀ y CL ₉₀) del aislamiento nativo CIAT 215 sobre adultos de <i>A. socialis</i>	78
4. RESULTADOS	80
4.1. Estado de desarrollo más susceptible y aislamiento más promisorio. 80	
4.2 Concentración letal media y noventa (CL ₅₀ y CL ₉₀).....	85
4.3 Control de calidad de productos comerciales.....	88
4.4. Evaluación de los productos comerciales sobre el estado de desarrollo de <i>A. socialis</i> más susceptible a los hongos entomopatógenos ..	91
4.5. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de.....	93
<i>A. socialis</i> en cuarto de cría.....	93
4.5.2. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de.....	95
<i>A. socialis</i> en casa de malla.....	95

4.5.3 Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) del aislamiento nativo CIAT 215 sobre adultos de <i>A. socialis</i>	97
CONCLUSIONES.....	99
RECOMENDACIONES.....	100
BIBLIOGRAFIA	101

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución global de plagas de artrópodos de importancia para el cultivo de yuca.....	17
Tabla 2. Aislamientos de hongos entomopatógenos colectados de moscas blancas en zonas yuqueras del país	56
Tabla 3. Composición de los medios de cultivo utilizados para el crecimiento de los aislamientos nativos.....	64
Tabla 4. Formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos evaluadas sobre <i>A. socialis</i>	69
Tabla 5. Determinación de la Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) del aislamiento CIAT 215 (<i>Verticillium lecanii</i>).....	87
Tabla 6. Control de calidad de los hongos entomopatógenos formulados evaluados en el control de la mosca blanca de la yuca <i>Aleurotrachelus socialis</i>	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Distribución mundial de <i>A. socialis</i>	21
Figura 2.	Ciclo de vida y duración de los estados de desarrollo de <i>Aleurotrachelus socialis</i> sobre yuca variedad CMC 40. Fotografía: G. Guzmán.....	25
Figura 3.	Daño causado por los diferentes estados de <i>A. socialis</i> . (A) adultos (B) Ninfas (C) adultos y ninfas. Fotografía: C. Holguín.....	27
Figura 4.	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Beauveria bassiana</i> . A. Esquema de conidióforos y conidias de <i>B. bassiana</i> , Dibujo tomado de Barnett and Hunter (1998). B. Microfotografía de conidióforos y conidias de <i>B. bassiana</i> , Fotografía Tomada de Kouassi (2001) C. Morfología de las colonias de <i>B. bassiana</i> . Fotografía: A. Morales.	44
Figura 5.	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Paecilomyces</i> spp. A. Esquema de conidióforos y conidias de <i>Paecilomyces</i> spp Dibujo tomado de Malloch (1997) B. Micofotografía de conidióforos y conidias de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Fotografía tomada de Herrera (2001) C. Morfología de las colonias de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> . Fotografía: A. Morales.....	46
Figura 6.	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Verticillium</i> spp. A. Esquema de conidióforos y conidias de <i>Verticillium</i> spp. Dibujo tomado de Malloch (1997). B. Micofotografía de conidióforos y conidias de <i>Verticillium lecanii</i> . Fotografía tomada de Herrera (2001) C. Morfología de las colonias de <i>Verticillium lecanii</i> . Fotografía: A. Morales.	48
Figura 7.	Metodologías utilizadas para la reactivación de los aislamientos nativos sobre ninfas de <i>A. socialis</i> (A) Lámina porta-objetos (B) Caja plástica. Fotografía: E. Melo.....	59
Figura 8.	Metodología de reactivación de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos. Conservación en papel filtro seco (B) Siembra en PDA (C) Inoculación sobre adultos de <i>A. socialis</i> (D) Adultos de <i>A. socialis</i> recolectados para «agar insecto»(E) Huevos y ninfas de <i>A. socialis</i> recolectados (F) Aislamientos reactivados. Fotografía: J. Quintana.	63

Figura 9.	Metodología de aplicación de los hongos entomopatógenos (A) Aspirador bucal (B) Jaula pinza (C) Estado huevo (D) Soluciones de Hongos entomopatógenos (E) Paint-brush (F) Cuarto de cría (G) Microscopio estereoscópico.....	67
Figura 10.	Metodologías empleadas para la evaluación de los hongos entomopatógenos sobre adultos de <i>A. socialis</i> (A) Jaulas pinza (B) Cajas de petri. Fotografía: J. Quintana.....	74
Figura 11.	Metodologías empleadas para la evaluación de los hongos entomopatógenos sobre adultos de <i>A. socialis</i> . (A) Cilindro de acetato cubierto con tela negra en la parte inferior. (B) Cilindro de acetato cubierto con espuma en la parte inferior. Fotografía: I. Aleán	77
Figura 12.	Porcentaje de mortalidad de aislamientos de hongos entomopatógenos sobre los diferentes estados de desarrollo de <i>A. socialis</i> . Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).	82
Figura 13.	Porcentaje de mortalidad del aislamiento CIAT 215 <i>Verticillium lecanii</i> sobre huevos y ninfas de <i>Aleurotrachelus socialis</i> . Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).	83
Figura 14.	Presencia de micelio de <i>Verticillium lecanii</i> sobre los estados de desarrollo de <i>A. socialis</i> . (A) Huevos (B) Ninfas de I Ínstar (C) Ninfas de II Ínstar (D) Ninfas de III y IV Ínstar. Fotografía: J. Guerrero.....	84
Figura 15.	Mortalidad de huevos próximos a eclosionar de <i>A. socialis</i> a varias concentraciones del aislamiento CIAT 215 (<i>Verticillium lecanii</i>)	86
Figura 16.	Mortalidad de huevos próximos a eclosionar de <i>A. socialis</i> con productos de hongos entomopatógenos formulados. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).	92
Figura 17.	Porcentaje absoluto de mortalidad de adultos de <i>A. socialis</i> con diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos	94
Figura 18.	Sobrevivencia de adultos de <i>A. socialis</i> a aplicaciones de diferentes hongos entomopatógenos.....	96
Figura 19.	Mortalidad de <i>A. socialis</i> a la aplicación del aislamiento CIAT 215 <i>Verticillium lecanii</i> en varias concentraciones.....	98

**Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos
entomopatógenos para el control de *Aleurotrachelus socialis* Bondar
(Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero**

Irina Aleán Carreño

1. INTRODUCCIÓN

Las moscas blancas son la mayor plaga del cultivo de yuca en casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo, pues además de alimentarse vorazmente de la savia de la planta, algunas especies son eficientes vectores de virus en plantas (Bellotti *et al.* 2002).

Existe un gran complejo en el Neotrópico donde quince especies de moscas blancas han sido identificadas alimentándose en yuca: *Aleurodicus dispersus* Russell, *Aleuronudus* sp., *Aleurothrixus aepim* (Goeldi), *Aleurotrachelus socialis* Bondar, *Bemisia argentinfolii* (*Bemisia tabaci* biotipo B), *Bemisia tabaci* (*Gennadius*), *Bemisia tuberculata* Bondar, *Paraleyrodes* sp., *Tetraleurodes* sp., *Trialeurodes variabilis* (Quaintance), *Trialeurodes abutiloneus* (Haldeman), (Bellotti 2002), *Aleuroglandulus malangae* Russell, *Tetraleurodes ursorum* (Cockerell)

(Castillo 1996), *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (CIAT 2000) y *Bemisia afer* Priesner & Hosny (CIAT 2001).

Ocho de estas especies están presentes en Colombia. *Aleurotrachelus socialis* es la especie predominante en el Norte de Sur América donde puede llegar a causar pérdidas considerables en los cultivos debido a que se alimenta de plantas jóvenes de yuca (Bellotti 2002). También se encuentra en Brasil aunque en menor proporción donde no causa daño económico (Farias 1994).

La importancia económica de los daños causados por las moscas blancas radica en que afectan el rendimiento de raíces de yuca y la disponibilidad de estacas para la siembra. Las pérdidas en rendimiento muestran que existe una correlación negativa entre la duración del ataque y la producción de raíces. Ensayos en campo realizados por CIAT y CORPOICA Regional 6 en Nataima - Tolima, registraron en Colombia pérdidas en rendimiento hasta del 79% (Bellotti y Vargas 1986). Estas pérdidas son producidas directamente por la disminución 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 al hongo saprófito *Capnodium* sp., conocido como fumagina (Byrne *et al.* 1990; Byrne y Bellows 1991).

Este hongo puede tener un efecto adverso en la fotosíntesis al impedir la llegada de la luz a la superficie foliar (Bellotti y Vargas 1986).

Actualmente se controlan las moscas blancas en las zonas yuqueras del país empleando insecticidas químicos con diferentes ingredientes activos como Imidacropid y Tiametoxan. Sin embargo estas moscas blancas representan un grupo de insectos con la habilidad de desarrollar poblaciones altamente resistentes a estos insecticidas. Por otra parte, el control químico aumenta los costos de producción y genera un serio problema para la fauna y el hombre.

Para el control biológico de estos insectos se han evaluado predadores, parasitoides y/o microorganismos entomopatógenos, que han tenido buen éxito en el control de varias especies (Landa and Osborne 1992). De los microorganismos que causan enfermedades a los insectos incluyendo bacterias, hongos, virus y nemátodos sólo los hongos entomopatógenos han sido reportados como capaces de infectar los insectos pertenecientes a la familia Aleyrodidae mediante la penetración de su cutícula (Fransen 1990).

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos de las especies *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin, *Verticillium lecanii* (Zimmerman.) Viegas y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith, sobre huevos, ninfas y adultos de *Aleurotrachelus socialis* bajo condiciones de invernadero.
- Establecer el estado de desarrollo de *A. socialis* más susceptible a los hongos entomopatógenos.

- Establecer la concentración letal cincuenta y noventa (LC_{50} y LC_{90}) del aislamiento más virulento sobre adultos y el estado de desarrollo de *Aleurotrachelus socialis* más susceptible a los hongos entomopatógenos.
- Realizar el control de calidad de diferentes formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos existentes en el mercado nacional.
- Evaluar la patogenicidad de éstas formulaciones comerciales utilizadas para controlar otras especies de moscas blancas sobre *A. socialis*.

JUSTIFICACIÓN

La mosca blanca *Aleurotrachelus socialis* Bondar es actualmente una de las plagas más limitante en el cultivo de yuca. Los daños directos e indirectos ocasionados por esta especie, generan pérdidas a los agricultores por la disminución en la producción de raíces.

El manejo integrado parece ser la forma más racional de luchar contra los insectos plaga. Consiste en la combinación e integración de todas las técnicas disponibles para aplicarlas en forma armoniosa y mantener estos insectos en niveles que no produzcan daño de importancia económica a los cultivos (Bellotti *et al.* 2002).

Entre las técnicas disponibles en el manejo integrado se encuentran el control cultural, la resistencia varietal, el control biológico, control botánico y químico.

El control químico de las moscas blancas es generalmente muy difícil por su morfología y características autoecológicas (sustancias cerosas como un componente de la cutícula, la colonización del envés de la

hoja, el rápido desarrollo de altas poblaciones, etc). Además, las moscas blancas representan un grupo de insectos con la habilidad de desarrollar poblaciones que son altamente resistentes a insecticidas químicos (Landa and Osborne 1992).

Teniendo en cuenta que los agricultores reaccionan frente al ataque de mosca blanca con el uso indiscriminado de químicos y si bien los insecticidas químicos han permitido un control eficaz de la plaga, se ha establecido que estos compuestos son altamente perjudiciales para la salud humana y los ecosistemas; Debido a la gran preocupación que esto ha generado, se pretende limitar la aplicación de éstos y promover el manejo integrado del cultivo. Dentro del manejo integrado se presenta el control microbiológico como una alternativa para el control de este insecto, donde se implemente el uso de microorganismos entomopatógenos como los hongos *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* y *Paecilomyces fumosoroseus*, disminuyendo así costos de producción y evitando la contaminación ambiental.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. IMPORTANCIA DE LA YUCA

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y todas sus formas silvestres tienen su origen genético en América Latina. El cultivo fue vital para el desarrollo de cultivos tropicales en las tierras bajas de todo el nuevo mundo. Los indios Caribes y los Arawak en el Caribe y Norte de Sur América fueron algunos de los primeros cultivadores de yuca y muchas de sus costumbres de siembra y procesamiento se conservan hasta hoy (Henry and Hershey 2002).

En el sur del continente la yuca se conoce como mandioca, nombre que recibe también en Brasil. El nombre en inglés (cassava) puede haberse derivado de la palabra casabi, que entre los indios Arawak significa raíz (FAO y FIDA 2000), o bien de la palabra cazabe, que es una torta o galleta seca producida por los indígenas de la cuenca amazónica (Cock 1989).

La yuca, junto con el maíz, la caña de azúcar y el arroz, constituyen las fuentes de energía más importantes en las regiones tropicales del mundo (FAO y FIDA 2000).

Fue domesticada hace unos 5000 años y cultivada extensivamente desde entonces en zonas tropicales y subtropicales del continente. Los primeros viajeros europeos reconocieron rápidamente las virtudes de este cultivo y lo distribuyeron por las colonias que los países europeos tenían en Africa y Asia (Ceballos 2002).

Actualmente se cultiva en la mayor parte de los países tropicales del cinturón ecuatorial, franja situada entre la latitud 30° norte y sur, lo cual pone en manifiesto su adaptabilidad a una gran variedad de ecosistemas (FAO y FIDA 2000).

Entre las principales características de este cultivo se debe destacar su contenido de hidratos de carbono, su tolerancia a la sequía, a los suelos degradados (aunque crece mejor en los suelos fértiles arcillo-arenosos) y su gran flexibilidad en lo que respecta al momento de la siembra y la cosecha. Por todo esto, la yuca tiene una enorme importancia para la seguridad alimentaria, especialmente en las regiones propensas a la sequía y de suelos pobres (FAO y FIDA 2000).

Aunque la yuca es un cultivo autóctono de América Latina, esta región aporta actualmente menos del 20% de la producción mundial. Las tendencias de la producción en la región dependen fuertemente de la evolución en el Brasil, país en el que se obtienen más de las tres

cuartas partes de la producción regional. Paraguay, Colombia, Ecuador, Panamá y Perú se sitúan detrás como los productores más importantes de la zona (Henry and Hershey 2002).

Colombia es quizá el país de América Latina con la más grande diversidad agroecológica, posee un amplio rango de sistemas para el cultivo y la producción de yuca. La más grande producción (45%) viene de zonas estacionalmente secas, región semiárida de la costa Atlántica. Otro 25% es producido en el valle Inter Andino del río Cauca en la cordillera Oriental y 17% en la parte central del país. En el oriente los suelos ácidos de la sabana y la zona altamente lluviosa de la costa del pacífico son productores minoritarios en 9 y 4 % respectivamente (Balcazar 1997 citado por Henry and Hershey 2002).

En América Latina y el Caribe, la yuca se ha adaptado a unos sistemas ecológicos muy diferentes y ha desarrollado una gran diversidad genética, de la que solamente una parte se ha introducido en Africa y Asia, aunque las plagas y enfermedades limitan la producción, sus efectos han sido menos agudos que en Africa, gracias al desarrollo de variedades resistentes o tolerantes y a los métodos de lucha bioecológicos. Las prácticas tradicionales de cultivo basadas en la

intercalación y rotación de cultivos, también han contribuido a reducir la incidencia de las plagas y enfermedades (FAO y FIDA 2000).

2.1.1. Usos de la yuca

La yuca se caracteriza por su gran diversidad de usos. Tanto sus raíces como sus hojas pueden ser consumidas por humanos y animales de maneras muy variadas. Los productos de la yuca también pueden ser utilizados por la industria, principalmente a partir de su almidón (Ceballos 2002).

2.1.1.1 Alimentación humana

Tanto las raíces como las hojas de la yuca son adecuadas para el consumo humano. Las primeras son una fuente importante de hidratos de carbono y las segundas de proteínas, minerales y vitaminas, particularmente carotenos y vitamina C (Ceballos 2002).

Existen numerosas formas de consumo humano de la yuca. En Colombia se consume frita o se utiliza en la preparación de sancochos, sopas y atoles. En años recientes se ha venido desarrollando una interesante industria de croquetas precocidas y congeladas. La yuca también puede consumirse como harina, para

preparar una especie de pan o galleta llamada cazabe. Otra alternativa para el consumo humano de yuca son los *chips* de yuca frita, similares a las papas fritas (Ceballos 2002).

En otras regiones del mundo la yuca es consumida de maneras muy diversas. Existen variantes de harinas muy tradicionales como el *gaplek* de Indonesia o el *Kokonte* de Ghana (Ceballos 2002).

2.1.1.2. Alimentación animal

Por su alto valor energético, la yuca ofrece muy buenas oportunidades para la alimentación animal. Una vía es la del secado para producir trozos secos o *chips*. Alternativamente los trozos de yuca pueden procesarse para producir *pellets* (gránulos) (Ceballos 2002).

Ya sea como trozos secos o como pellets, la yuca puede ser incorporada en la formulación de alimentos para aves, porcinos, en la piscicultura y para otros animales domésticos. Los trozos de yuca fresca cortados y oreados al aire libre por unas horas pueden ser ofrecidos a bovinos y porcinos (Ceballos 2002).

La yuca también puede ser utilizada en nutrición animal sin ser previamente secada. En muchos lugares del mundo se ensilan tanto las raíces como las hojas; este proceso permite almacenar el producto por un largo período de tiempo (Ceballos 2002).

2.1.1.3 Almidones

Sin duda una de las utilizaciones más importante de la yuca es la producción de almidón. Existen numerosas fuentes de almidón que satisfacen las crecientes demandas del hombre: entre otras, además de la yuca, están el maíz, la papa y el arroz (Ceballos 2002).

El almidón de yuca puede encontrarse sin fermentar o nativo, o bien fermentado o agrio. El almidón agrio es un producto fermentado para el uso de la industria de alimentos, el cual se destina a la elaboración de productos de panadería como pandebono, pan de yuca y otros (Alarcón y Dufour 2002).

El almidón nativo conocido como almidón dulce de yuca se emplea en el sector industrial, principalmente en la fabricación de papel, en la preparación de pegantes, en la industria textil (engomados de tela de algodón), en la industria de alimentos preparados, en la perforación

de pozos petroleros y en la fabricación de dinamita (Alarcón y Dufour 2002).

2.1.1.4 Alcohol

En la década de los 70 luego de la crisis petrolera en Brasil, se hicieron planes para sustituir parte del combustible derivado del petróleo con alcohol producido a partir de caña de azúcar o yuca. A pesar del escepticismo inicial, los resultados posteriores demostraron que el enfoque brasileño para resolver la crisis energética tenía considerable sustento. Por ejemplo, Brasil produjo en 1980 suficiente alcohol para sustituir 20% de la gasolina necesaria para sus automóviles (Cock 1989).

2.2. INSECTOS Y ÁCAROS PLAGAS DE LA YUCA

Existe una gran variedad de artrópodos registrados atacando el cultivo en las Américas, un buen número de estas especies se consideran plagas menores y ocasionan pocas pérdidas en rendimiento o ninguna. Otras se clasifican como plagas mayores porque al parecer han coevolucionado con el cultivo y lo hacen su principal o único hospedero; estas plagas pueden causar daños severos al cultivo, que se manifiestan en pérdidas en rendimiento. Las plagas mayores de la yuca son los ácaros, las moscas blancas, los trips, el gusano cachón, el piojo harinoso, las chinches de encaje, la chinche subterránea o de la viruela de la yuca y los barrenadores de tallo. Otras plagas, como las escamas, el saltahojas, la chisa blanca, el gusano trozador, la hormiga cortadora de hojas, la mosca de la fruta, la mosca del cogollo y los comejenes pueden ocasionar daños esporádicos o localizados al cultivo (Tabla 1). Estas se consideran plagas menores o generalistas y pueden atacar el cultivo en forma oportunista, especialmente en períodos de sequía cuando la única fuente de alimento disponible es la yuca (Bellotti *et al.* 2002).

Los insectos causan daño a la yuca reduciendo el área fotosintéticamente activa de la planta (las hojas), lo que disminuye a su vez el rendimiento; atacando los tallos, lo que debilita el soporte de

la planta e inhibe el transporte de nutrientes; y atacando el material de plantación (siembra), lo que disminuye la emisión de brotes en las estacas (germinación). Pueden atacar también las raíces y ocasionar pudriciones secundarias (Bellotti *et al.* 2002).

Aleurotrachelus socialis es considerada una de las plagas más importante del cultivo de yuca actualmente en Colombia, por su amplia distribución en las principales zonas yuqueras y los daños económicos que ocasiona si no se le controla oportunamente.

Tabla 1. Distribución global de plagas de artrópodos de importancia para el cultivo de yuca.

Plaga	Especies principales	Américas	Africa	Asia
Acaros	<i>Mononychellus tanajoa</i>	X	X	
	<i>Tetranychus urticae</i>	X		X
	<i>Oligonychus peruvianus</i>	X		
Piojos harinosos	<i>Phenacoccus manihoti</i>	X	X	
	<i>Phenacoccus herreni</i>	X		
Moscas blancas	<i>Aleurotrachelus socialis</i>	X		
	<i>Aleurothrixus aepim</i>	X		
	<i>Bemisia tabaci</i>	X	X	X
	<i>Bemisia tuberculata</i>	X		
Gusano cachón	<i>Erinnyis ello</i>	X		
	<i>Erinnyis alope</i>	X		
Chinche de encaje	<i>Vatiga illudens</i>	X		
	<i>Vatiga manihotae</i>	X		
	<i>Amblystira machalana</i>	X		
Chinche subterránea	<i>Cyrtomenus bergi</i>	X		
Trips	<i>Frankiniella williamsi</i>	X	X	
	<i>Scirtotrips manihoti</i>	X		
	<i>Corinotrips stenopterus</i>	X		
Insectos escamas	<i>Aonidomytilus albus</i>	X	X	X
Mosca de la fruta	<i>Anastrepha pickeli</i>	X		
	<i>Anastrepha manihoti</i>	X		
Mosca del cogollo	<i>Neosilba perezi</i>	X		
	<i>Silba pendula</i>	X		
Mosca de las agallas	<i>Jatrophia brasiliensis</i>	X		
Chisas o mojoyoy	<i>Leucopholis rorida</i>	X	X	X
	<i>Phyllophaga</i> spp.	X	X	X
Comejenes	<i>Coptotermes</i> spp.	X	X	X
	<i>Heterotermes tenuis</i>	X		
Barrenadores del tallo	<i>Chilomima</i> spp.	X		
	<i>Coelostermus</i> spp.	X		
	<i>Lagochirus</i> spp.	X	X	X
Hormigas cortadoras de hojas	<i>Atta</i> spp.	X		
	<i>Acromyrmex</i> spp.	X		
Piojos harinosos de las raíces	<i>Pseudococcus mandioca</i>	X		
	<i>Stictococcus vayssierei</i>		X	
Saltahojas	<i>Zonocerus elegans</i>	X	X	
	<i>Zonocerus variegatus</i>	X	X	

2.3. GENERALIDADES DE LAS MOSCAS BLANCAS

Las moscas blancas son insectos diminutos, raramente de más de 2-3 mm de longitud que se asemejan a pequeñas polillas. Los adultos de ambos sexos son alados y las alas están cubiertas con un polvillo blanco (Borrór *et al.* 1992).

La clasificación de estas moscas blancas está basada en las características morfológicas del cuarto ínstar ninfal o pupa como orificio vasiforme, opérculo, línghula, surcos traqueales, setas caudales y setas dorsales (Caballero 1992).

Las moscas blancas pertenecen al orden Homoptera, familia Aleyrodidae, *que* se divide en 2 subfamilias: Aleurodicinae y Aleyrodinae.

La subfamilia Aleurodicinae es considerada la más primitiva, sus individuos se caracterizan por la presencia de secreciones de cera en forma de filamentos dorsales o algodonosas, los adultos son grandes, con tres o cuatro venas en las alas, se alimentan succionando de árboles y arbustos (Caballero 1992).

En esta subfamilia se encuentran los géneros: *Aleurodicus*, *Dialeurodicus*, *Leonardius* y *Paraleyrodes* (Quaintance and Baker 1913 citado por Caballero 1992).

La subfamilia *Aleyrodinae* es la más evolucionada, sus ninfas se caracterizan por presentar secreciones largas y dorsales; de color transparente, amarillo o negro y se alimentan principalmente de plantas herbáceas, contiene un mayor número de especies, comprende más de 1.000 especies descritas y es la más ampliamente distribuida (Castillo 1996).

Diecisiete géneros se encuentran en esta familia: *Aleurocanthus*, *Aleurocybotus*, *Aleurolobus*, *Aleuroparadoxus*, *Aleuroplatus*, *Aleurothrixus*, *Aleurotithius*, *Aleurotrachelus*, *Aleurotulus*, *Aleyrodes*, *Asterochiton*, *Bemisia*, *Dialeurodes*, *Dialeurodoides*, *Neomaskellia*, *Pealius* y *Tetraleurodes* (Caballero 1992).

Las diferencias morfológicas entre las pupas de Aleurodicinae y Aleyrodinae es la presencia de poros compuestos en el disco dorsal, dos o más pares de setas en la línula y una uña en el ápice de las patas de Aleurodicinae. En Aleyrodinae, no hay poros compuestos ni uñas en las patas, sólo un par de setas en la línula y discos circulares en el ápice de las patas (Gill 1990 citado por Caballero 1992).

En Colombia existen ocho especies de moscas blancas asociadas al cultivo de yuca: *Aleurotrachelus socialis* Bondar, *Aleuroglandulus malangae* Rusell, *Aleurodicus dispersus* Rusell, *Bemisia tuberculata* Bondar, *Paraleyrodes sp*, *Tetraleurodes ursorum* (Cockerell), *Tetraleurodes sp*, *Trialeurodes variabilis* (Quaintance), de las cuales la más ampliamente distribuida es *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hernández 2002).

2.3.1. Clasificación taxonómica de *Aleurotrachelus socialis*

La clasificación de la familia Aleyrodidae está basada en la estructura de la exuvia pupal del cuarto ínstar ninfal y no en las estructuras morfológicas de los adultos (Mound y Halsey 1978; Byrne y Bellows 1991). La mosca blanca de la yuca presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Clase	Insecta
Orden	Homoptera
Suborden	Sternorrhyncha
Superfamilia	Aleyrodoidea
Familia	Aleyrodidae
Género	<i>Aleurotrachelus</i>
Especie	<i>Aleurotrachelus socialis</i> Bondar

2.3.2. Distribución geográfica de *Aleurotrachelus socialis*

A. socialis se encuentra distribuida en el Norte de Sur América (Colombia, Venezuela, Panamá y Ecuador) donde causa considerables daños al cultivo, también se encuentra en Brasil aunque en menor proporción donde no causa daño económico (Farias 1994).



Figura 1. Distribución mundial de *A. socialis*.

2.3.3. Ciclo de vida de *Aleurotrachelus socialis*

El huevo de *A. socialis* se encuentra ubicado en el envés de las hojas del cogollo, rodeado de un polvillo blanco secretado por las glándulas abdominales de los adultos. La forma del huevo es semejante a la de un banano y presenta un pedicelo corto en el extremo más ancho mediante el cual se sujeta a la hoja. El huevo tiene aproximadamente 0.18 mm de longitud y 0.08 mm de diámetro; recién ovipositado es

blanco y a partir del segundo día de desarrollo adquiere un color café-metálico que se intensifica a medida que avanza la incubación (Figura 2). El período de incubación de los huevos es de 11.2 días y la emergencia de la ninfa ocurre a través de una abertura longitudinal en forma de "T" invertida que se forma en el corión (Bellotti y Vargas 1986).

La ninfa de *A. socialis* pasa por cuatro instares. En el primer instar denominado "crawler", la ninfa es pequeña, translúcida, de color verde-amarillo y de forma ovalada y aplanada; tiene tres pares de patas, relativamente desarrolladas y antenas largas. Es móvil, pero generalmente se fija cerca del corión y no abandona la hoja sobre la cual ha emergido (Bellotti y Vargas 1986).

La ninfa de primer instar posee 8 poros dorsales que corresponden a igual número de glándulas abdominales (Figura 2). A partir del segundo día la ninfa secreta por dichos poros una sustancia cerosa que adquiere forma de papilas, que son la principal característica para identificar este instar. La duración promedio del primer instar es de 6.6 días (Bellotti y Vargas 1986).

El cambio a segundo ínstar se evidencia por la presencia de la exuvia del primer ínstar sobre una nueva cutícula (Figura 2). Esta nueva ninfa es de color más oscuro, inmóvil, y su cuerpo quitinizado, está rodeado de una sustancia blanca, cerosa, secretada por los poros laterales. La duración promedio de este ínstar es de 4.3 días (Bellotti y Vargas 1986).

En el tercer ínstar la ninfa no presenta mayores cambios; sólo que su cuerpo es completamente negro y la capa cerosa que lo rodea es más abundante (Figura 2). Este ínstar tiene una duración promedio de 5.6 días (Bellotti y Vargas 1986).

El cuarto y último ínstar se le denomina estado de "pupa" debido a que el adulto se forma dentro de la cutícula sin que se vean cambios externos mayores (Figura 2). No se observan las secreciones características de las ninfas en los ínstars anteriores, aunque las pupas son inmóviles como las ninfas del segundo y tercer ínstar. La duración promedio del cuarto ínstar es de 11.2 días (Bellotti y Vargas 1986).

El adulto emerge a través de una abertura en forma de 'T' invertida que aparece en la superficie dorsal anterior de la pupa. Los adultos

son insectos pequeños, con dos pares de alas, patas y antenas bien desarrolladas; su cuerpo está cubierto de un polvo blanco que le da una apariencia cerosa (Figura 2) (Bellotti y Vargas 1986).

El cuerpo de los adultos es pálido, parcialmente pigmentado, o completamente pigmentado. Los dos pares de alas tienen venación reducida. Las alas son completamente pálidas o con marcas café o café grisáceo pálidas. El cuerpo está completamente cubierto con minúsculas espínulas. Las antenas son elongadas y tienen 7 segmentos. Los ojos compuestos son completamente divididos en ojos dorsales y ventrales o están unidos por un omatidio. Las partes de la boca son elongadas y desarrolladas para perforar y succionar el tejido vegetal (USDA 2001).

Los sexos se diferencian por el tamaño del insecto, pero no es un criterio muy seguro, en general los machos son pequeños y activos y las hembras son de mayor tamaño y menor movilidad (Bellotti y Vargas 1986).

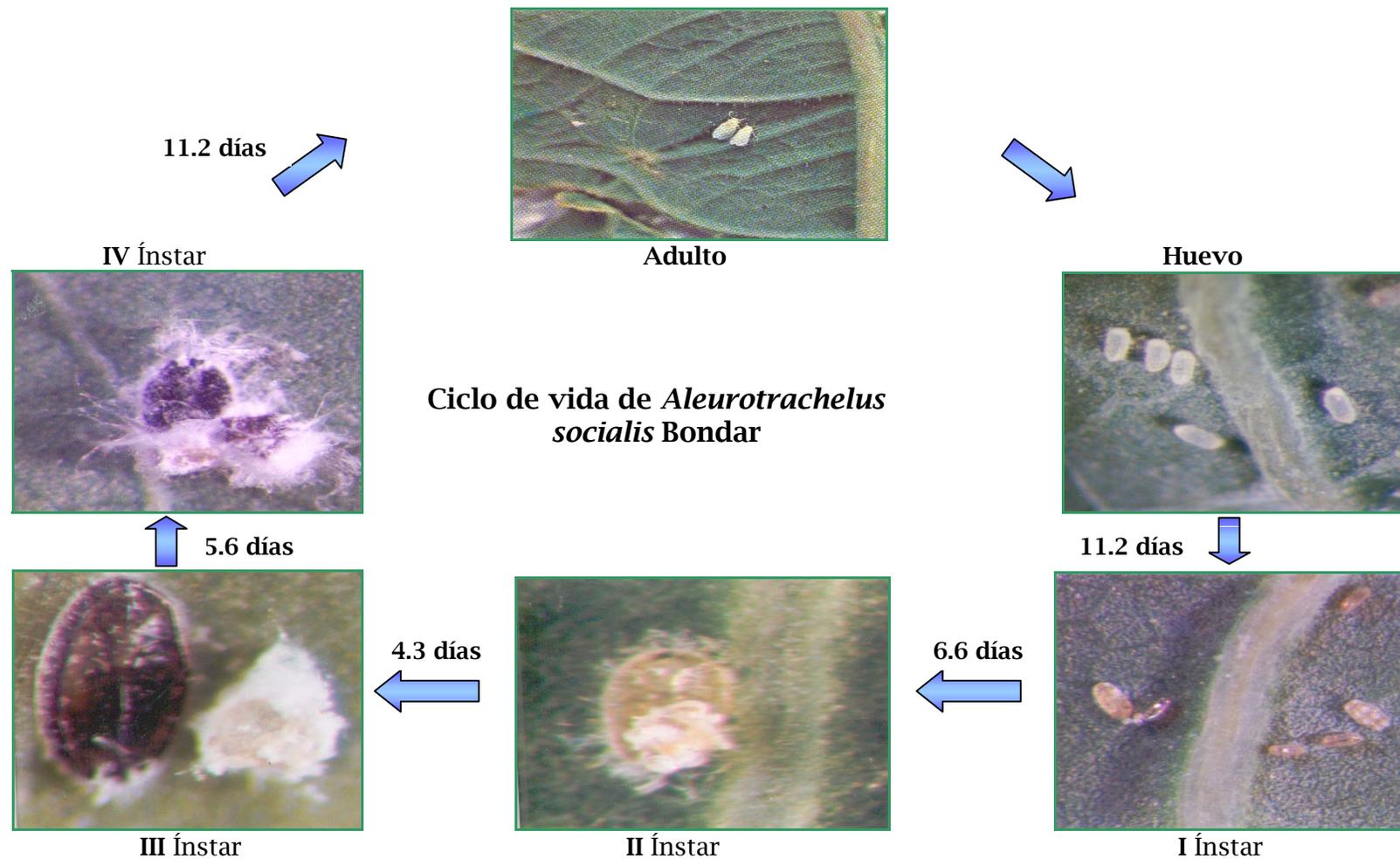


Figura 2. Ciclo de vida y duración de los estados de desarrollo de *Aleurotrachelus socialis* sobre yuca variedad CMC 40. Fotografía: G. Guzmán.

2.3.4. Hábitos y daños

Los adultos se encuentran en mayor número en los cogollos de la planta succionando los jugos de las hojas jóvenes, en este proceso de alimentación ocasionan un daño directo que consiste en la disminución de los jugos elaborados que descienden por el floema. En tanto que las ninfas permanecen y se alimentan en el envés de las hojas intermedias y bajas (Bellotti y Vargas 1986).

Aunque influyen diversos factores como la temperatura, la luminosidad y la precipitación en su actividad. Tanto los adultos como los estados inmaduros son activos y dañinos. Las hembras se alimentan aún durante la cópula y la oviposición (Bellotti y Vargas 1986).

Los síntomas del ataque por adultos son un amarillamiento y encrespamiento de las hojas apicales (Figura 3 a), las hojas del tercio medio de las plantas donde se encuentran las ninfas, reducen su tamaño normal presentándose un amarillamiento desde los bordes hacia el centro con áreas corrugadas más verdes que otras con apariencia de mosaico. Estas hojas generalmente se tornan amarillas, necrozan (Figura 3 b) y finalmente caen según la intensidad del ataque (Arias 1995).

(A)



(B)



(C)



Figura 3. Daño causado por los diferentes estados de *A. socialis*.

(A) adultos (B) Ninfas (C) adultos y ninfas. Fotografía: C. Holguín
Las moscas blancas pueden ocasionar daños indirectos, asociados con la presencia de un hongo y con la transmisión de virus. Los adultos y ninfas secretan sustancias azucaradas que proporcionan el crecimiento del hongo saprófito *Capnodium* sp., conocido comúnmente como fumagina, que puede tener un efecto adverso en la fotosíntesis, al impedir la llegada de la luz a la superficie foliar (Bellotti y Vargas 1986).

Como vectores de virus son especialmente importantes en Africa y en la India; en esas regiones la especie *B. tabaci* es transmisora del virus que causa el mosaico africano, una enfermedad de gran importancia económica (Bellotti y Vargas 1986).

Entre las enfermedades virales de la yuca, el “cuero de sapo” está considerado como una de las más perjudiciales para el cultivo, puesto que afecta directamente la producción de raíces, provocando pérdidas del 90% o más en el rendimiento (Calvert *et al.* 2001).

Existe evidencia de que es transmitida por insectos, siendo la mosca blanca, *Bemisia tuberculata*, la que ha sido asociada más frecuentemente con la enfermedad (Calvert *et al.* 2001).

2.3.5. Control de *Aleurotrachelus socialis*

Un buen control de las poblaciones de moscas blancas se logra con un programa adecuado de manejo integrado, que implica la aplicación oportuna de diversos métodos de control: resistencia varietal, control biológico, control cultural y químico.

2.3.5.1. Resistencia Varietal

Estudios iniciados por el CIAT hace más de 15 años han permitido evaluar la resistencia a mosca blanca especialmente *A. socialis*, de más de 6000 variedades de yuca del banco de germoplasma. El clon MECU 72 ha manifestado en forma consistente un alto nivel de resistencia. Otras variedades presentaron resistencia entre moderada a alta, incluida MECU 64, MPER 335, MPER. 415, MPER 317, entre otras (Bellotti *et al.* 2002).

Estudios de invernadero y campo mostraron que *A. socialis* cuando se alimentó sobre variedades resistentes, tuvo menos oviposición, períodos de desarrollo más largos, tamaño reducido y mayor mortalidad que las que se alimentaron de clones susceptibles (Arias 1995).

La variedad NATAIMA-31, conocida experimentalmente como CG 489-31, proviene del cruzamiento realizado por el Programa de Fitomejoramiento del CIAT entre las variedades MECU 72 y MBRA 12, resistentes a mosca blanca. Esta es la primera variedad en el mundo, que se entrega altamente resistente a mosca blanca y de doble propósito, alimentación humana y agroindustria (Vargas 2003).

2.3.5.2. Control Cultural

Los sistemas tradicionales de cultivar la yuca intercalándola con otros cultivos ha demostrado ser una práctica que reduce la población de plagas (Leihner 1983). Estudios realizados por Gold *et al* (1990), muestran que intercalar cultivos de corta duración como caupí y maíz, reduce significativamente la densidad de huevos de *A. socialis* en las hojas de yuca (69% en yuca/caupí y 54% en yuca/maíz), en relación con el monocultivo. Además se mantuvieron bajos los niveles de mosca blanca hasta 6 meses después de la cosecha del caupí. Sin embargo la competencia retardó el crecimiento de la yuca, ocasionando reducciones en el tamaño de la planta hospedante.

El manejo de fechas de siembra tiene un papel importante en la disminución de la incidencia de esta plaga. Si se siembra en la época

de lluvias adecuada, el cultivo puede estar libre de la plaga o soportar sólo pequeñas poblaciones de ésta (Arias 1995).

Las trampas amarillas se usan como práctica de control físico. Se ha encontrado que las moscas blancas son atraídas por superficies que reflejan el color amarillo en un rango de 500 a 700 nm (Berlinger 1980).

2.3.5.3. Control Químico

Holguín y Bellotti (2002), evaluaron el efecto de la aplicación foliar de los insecticidas: imidacloprid, buprofezin, carbosulfan, tiametoxan, diafenthiuron y piriproxifen. La aplicación foliar con tiametoxan e imidacloprid presentaron los valores de población más bajos para adultos, huevos y ninfas. Además evaluaron diferentes dosis, formas y épocas de aplicación de imidacloprid: remojo de la semilla en la siembra y emergencia de la primera hoja e inmersión de la semilla antes de la siembra, reforzando con aplicaciones foliares. Cuando se utilizó imidacloprid a la siembra en inmersión o remojo de la semilla protegió el cultivo entre 45 y 60 días. Todos los tratamientos mostraron poblaciones menores de adultos, huevos y ninfas indicando

que utilizar insecticidas al inicio del cultivo retrasa la aparición de la plaga y reduce el nivel de población de *A. socialis*.

2.3.5.4. Control Biológico

En exploraciones realizadas en el neotrópico, se han identificado muchos enemigos naturales asociados con el complejo de moscas blancas que atacan la yuca (Bellotti *et al.* 2002). El grupo más representativo es el de los parasitoides microhimenópteros (Castillo 1996; Evans y Castillo 1998). Los géneros *Encarsia* y *Eretmocerus* (Hymenóptera: Aphelinidae) y *Amitus* (Hymenóptera: Platygasteridae) son los que más frecuentemente se asocian con *A. socialis*, *B. tuberculata* y *T. variabilis* (Castillo 1996). Tres de las especies de *Encarsia* fueron identificadas como *E. hispida*, *E. pergandiella* y *E. bellotti* y una de *Amitus* como *A. macgowni* (Evans y Castillo 1998). También se identificaron insectos depredadores como *Chrysopa sp*, *Delphastus pusillus* y *Delphastus sp.* (López-Avila *et al.* 2001).

2.3.5.5. Control Microbiológico

Los hongos entomopatógenos son considerados como los patógenos más promisorios contra insectos chupadores como el caso de los áfidos, escamas y moscas blancas, ya que pueden infectar a los

insectos directamente a través de la penetración de la cutícula (Hajek y Leger 1994). Así como sus múltiples mecanismos de acción que les confiere una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia. Las especies más comunes como controladores de estos chupadores son los hongos Deuteromycetes: *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas, *Aschersonia aleyrodis* Webber y *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin.

2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los primeros microorganismos que se encontraron causando enfermedad en insectos, fueron los hongos por su crecimiento macroscópico sobre la superficie de sus hospederos. Algunos hongos entomopatógenos sin embargo no producen crecimiento superficial o producen muy poco. La mayoría son patógenos obligados o facultativos y algunos son simbióticos. Su crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones ambientales externas en particular, alta humedad y temperatura adecuada para la esporulación y germinación de esporas. Las enfermedades causadas por estos hongos son denominadas “micosis” (Tanada and Kaya 1993).

2.4.1. Clasificación taxonómica de los hongos entomopatógenos

Según la clasificación taxonómica hecha por Ainsworth (1973), la cual separa los hongos en dos divisiones: Myxomycota por formar plasmodios y Eumycota por no formarlos y ser frecuentemente miceliales. Los hongos entomopatógenos se encuentran en la división Eumycota y en las subdivisiones: Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina (Tanada and Kaya 1993).

Los hongos entomopatógenos infectan individuos en todos los ordenes de insectos; la mayoría comúnmente son Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera. (David 1967 citado por Tanada and Kaya 1993 Ferron *et al.* 1975). En algunos ordenes de insectos los estados inmaduros (ninfas o larvas) son más a menudo infectados que los maduros o estado adulto, en otros puede suceder lo contrario. Los estados de huevo y pupa no son frecuentemente infectados por los hongos (Tanada and Kaya 1993).

La especificidad del hospedero varía considerablemente, algunos hongos infectan un amplio rango de hospederos y otros están restringidos a unos pocos o a una sola especie de insectos.

Beauveria bassiana y *Metarhizium anisopliae* infectan cerca de 100 especies diferentes de insectos en varios ordenes, pero aislamientos de estos dos hongos tienen un alto grado de especificidad (Fargues 1976; Ferron *et al.* 1972).

2.4.2. Características de los hongos de la Subdivisión Deuteromycotina

Los Deuteromycotina u hongos imperfectos son imperfectos porque la mayoría de los hongos carecen de fase sexual, o bien ésta no se conoce. Al tener reproducción asexual, son formadores de conidias (Tanada and Kaya 1993).

En una clasificación jerárquica, estos hongos no son iguales a los Ascomycotina y Basidiomycotina pero ambos son complementarios taxonómicamente y por nomenclatura (Ainsworth 1973).

Los Deuteromycotina entomopatógenos son encontrados en dos clases, Hyphomycetes y Coleomycetes. Muchos son patógenos altamente virulentos y han sido aplicados en el control de insectos plaga (Samson *et al.* 1988).

2.4.3. Características morfológicas de la Clase Hyphomycetes

La descripción hecha por Valiela (1979) sugiere que en esta clase las conidias no se forman ni en acérvulos ni en picnidios, sino que se originan en conidióforos libres o directamente en las hifas somáticas.

2.4.4. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos

El desarrollo de micosis puede estar dividido en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo. Lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto.

2.4.4.1. Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero

El primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedero es por la cutícula. Las características físicas y químicas de las superficies de la cutícula del insecto y la espora son las responsables de esta unión. En algunos hongos la adhesión es un fenómeno no específico, mientras en otros esto es un proceso específico. Algunas glicoproteínas pueden servir como un receptor específico para las esporas (Tanada and Kaya 1993).

2.4.4.2. Germinación de la espora

Se entiende por germinación el proceso mediante el cual una espora emite uno o varios pequeños tubos germinales, los cuales por crecimiento y alargamiento dan origen a las hifas (Volcy y Pardo 1994).

La germinación de las esporas en gran parte depende de la humedad ambiental y temperatura. Y en menor grado de las condiciones de luz y nutricionales (Tanada and Kaya 1993).

El nivel de agua es determinante en el crecimiento de los hongos y pequeñas diferencias en los niveles de humedad relativa después de la aplicación de conidias, pueden determinar de un modo u otro el éxito del hongo en el control de insectos plaga (Guillespie 1988).

El resultado de la germinación y la penetración no depende necesariamente del porcentaje total de germinación sino del tiempo de duración de la germinación, modo de germinación, agresividad del hongo, el tipo de espora y la susceptibilidad del hospedero (Samson *et al.* 1988).

2.4.4.3. Penetración del integumento

La penetración de la cutícula del insecto por conidias germinadas, ocurre como resultado de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica por el tubo germinal (Gillespie 1988).

El modo de penetración principalmente depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Charnley 1984).

La fuerza mecánica es notable en el extremo de una hifa invasiva donde la capa cuticular es deformada por presión (Tanada and Kaya 1993). Se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan

degradación del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física (Monzón 2001).

Las enzimas descubiertas en el tubo germinativo son proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterases, y N-acetil-glucosamidasa (quitinasas). Estudios *in vitro* indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa-proteasa-quitinasa (Tanada and Kaya 1993).

Gillespie (1988) reportó que los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces* spp. y *V. lecanii*, producen grandes cantidades de proteasas y quitinasas en medios de cultivo líquido. La producción de proteasa, lipasa y quitinasa sobre la cutícula del insecto, se ha demostrado con *M. anisopliae* mediante coloración de enzimas específicas, recuperadas de moscas previamente inoculadas con conidias del hongo. En varios aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* la enzima principal es una endoproteasa que disuelve la proteína matriz que cubre la quitina cuticular. Por lo tanto, la producción de quitinasa ocurre después del proceso de infección y una vez que el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto.

2.4.4.4. Penetración a través de cuerpos abiertos

Los hongos pueden infectar insectos a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas de un insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápido en este ambiente; por otra parte, los fluidos digestivos pueden destruir la espora o la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por micosis (Charnley 1984).

Los hongos pueden infectar insectos a través de los espiráculos y otros cuerpos abiertos, *Metarhizium anisopliae* ocasionalmente infecta larvas a través de los espiráculos y poros de órganos de los sentidos (McCauley *et al.* 1968 Citado por Tanada and Kaya 1993). *Beauveria bassiana* infecta varias especies de mosquitos a través del sifón posterior (Clark *et al.* 1968 Citado por Tanada and Kaya 1993); en *Heliothis zea* a través del espiráculo (Pekrul and Grula 1979 Citado por Tanada and Kaya 1993) y en el gorgojo de la alfalfa *Hypera postica* a través de la traquea y no por la delgada cutícula del integumento (Hedlund and Pass 1968 Citado por Tanada and Kaya 1993). La región anal de las larvas del gusano de seda es más frecuentemente infectada

por el hongo *Aspergillus flavus oryzae* (Aoki 1961 Citado por Tanada and Kaya 1993).

2.4.4.5. Replicación en el hemocele

Después de llegar al hemocele, la mayoría de los hongos convierten el crecimiento micelial en una fase de levadura o sea crecimiento por gemación. Se producen toxinas y enzimas, aunque algunos hongos aparentemente no poseen toxinas, matan el insecto al consumir todos los nutrientes o por física destrucción (Bustillo 2001).

Los hongos pueden evitar la defensa inmune de un insecto por (1) desarrollo de protoplastos que no son reconocidos por la población de hemocitos del insecto (Dunphy and Nolan 1982b; Latgé et al. 1986 citado por Tanada and Kaya 1993), (2) formando cuerpos hifales multiplicándose y dispersándose rápidamente (Samson *et al.* 1988) y (3) produciendo micotoxinas (Tanada and Kaya 1993).

Las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Ferrón 1981)

Posterior al crecimiento del hongo en el hemocele, la micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto tales como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados. Ocurre una competencia entre el hongo y la flora intestinal. En la mayoría de los casos los hongos producen sustancias antibacteriales y cambio de color del cadáver (Ferrón 1978).

Después de muerto el insecto, si la disponibilidad de agua es alta los hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos. Si las condiciones no son favorables, queda dentro del cadáver del insecto, donde puede sobrevivir por algunos meses y eventualmente producirá esporas cuando lleguen las condiciones favorables. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres pero puede también ocurrir en insectos vivos (Tanada and Kaya 1993).

2.4.4.6. Dispersión de las esporas

La dispersión de la spora puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la spora y el esporangio. Cada conidia puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por

dispersión (Fletcher 1977; Ingold 1978 citado por Tanada and Kaya 1993).

2.4.5. Características de la especie *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin

El género *Beauveria* está compuesto por varias especies: *B. bassiana*, *B. brongniartii* ó *B. tenella*, *B. amorpha*, *B. velata*, sin embargo las más frecuentemente estudiadas son *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin y *B. brongniartii* (De Lacroix) Siemszko (Bustillo 2001).

El género se caracteriza por presentar un micelio blanco (Figura 4 C), conidióforos sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, la cual se presenta en forma de zig-zag (Figura 4 A), después de que varias conidias se producen; las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares (Bustillo 2001). *B. bassiana* posee conidias de globosas a subglobosas (2-3 x 2.0-2.5 μm) y las estructuras conidióforas forman densos grupos (Figura 4 B) (Samson *et al.* 1988).

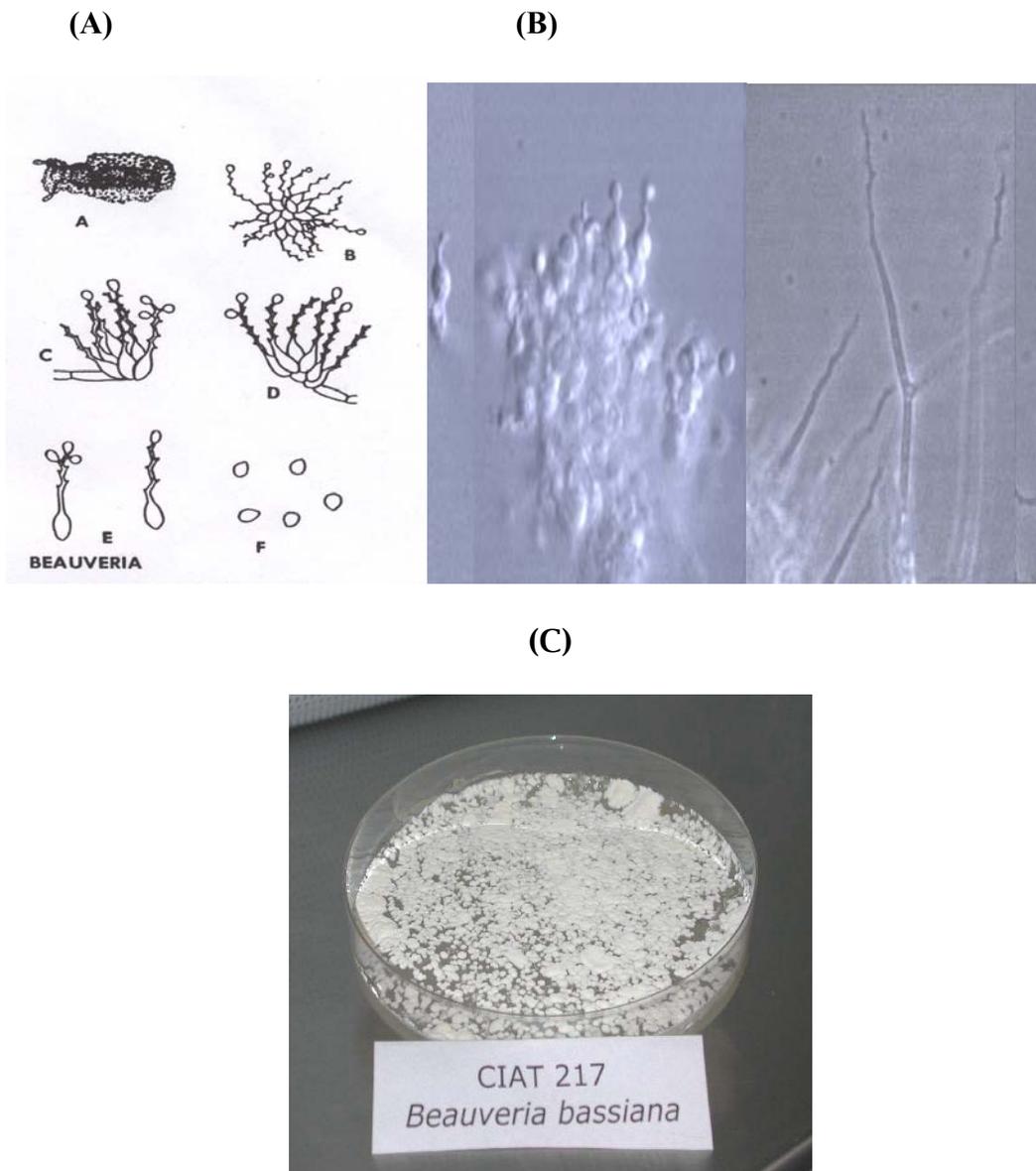


Figura 4. Características microscópicas y macroscópicas de *Beauveria bassiana*. **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *B. bassiana*, Dibujo tomado de Barnett and Hunter (1998). **B.** Microfotografía de conidióforos y conidias de *B. bassiana*, Fotografía Tomada de Kouassi (2001) **C.** Morfología de las colonias de *B. bassiana*. Fotografía: A. Morales.

2.4.6. Características de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith

El género *Paecilomyces* presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser también solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio (Figura 5 A). Los conidióforos llevan cadenas de conidias; éstas son hialinas, unicelulares y de forma ovoide (Figura 5 B) (Bustillo 2001).

En nuestro medio se registran como mínimo cinco especies de *Paecilomyces* infectando ocho insectos diferentes. Las infecciones causadas por *P. fumosoroseus* se reconocen por el color rosado pálido mientras que en *P. lilacinus* son de color violeta claro. La especie más importante del género es *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. (Bustillo 2001)

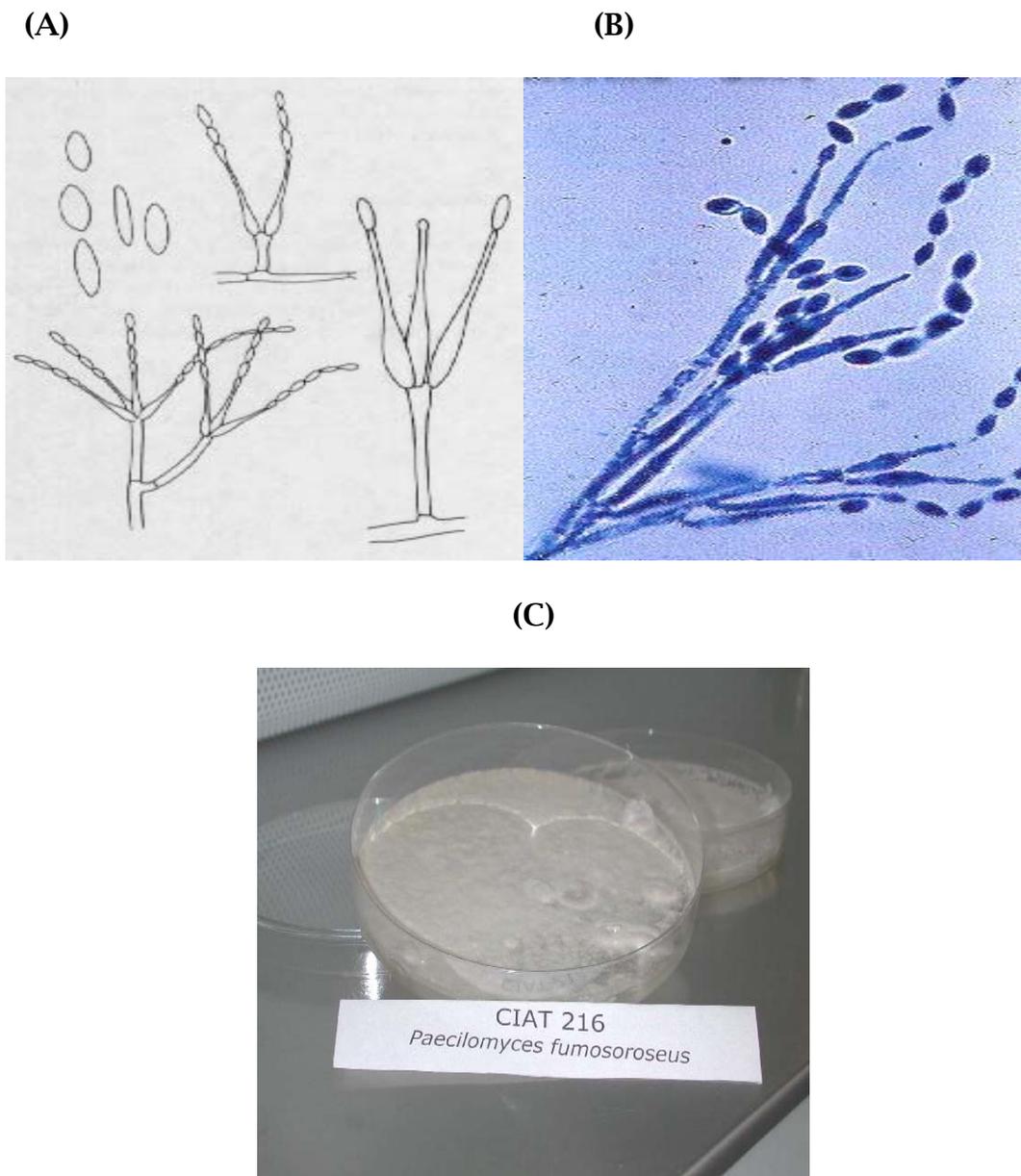


Figura 5. Características microscópicas y macroscópicas de *Paecilomyces* spp. **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *Paecilomyces* spp. Dibujo tomado de Malloch (1997) **B.** M microfotografía de conidióforos y conidias de *Paecilomyces fumosoroseus* Fotografía tomada de Herrera (2001) **C.** Morfología de las colonias de *Paecilomyces fumosoroseus*. Fotografía: A. Morales

2.4.7. Características de *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas

Los conidióforos de las especies de *Verticillium* son pocos diferenciados de las hifas vegetativas, las células conidiógenas (fiálides) están en forma de verticilios de dos a seis, en parejas o solitarias sobre hifas o apicalmente sobre cortas ramificaciones (Figura 6 A) (Samson and Rombach 1985).

Las conidias de *Verticillium lecanii* son pequeñas, hialinas cilíndricas o elipsoidales y redondeadas en sus extremos; con medidas que varían de 2,3 - 10.0 milimicras de largo por 1.0 - 2.5 milimicras de ancho. Estas conidias nacen en forma de gotas filamentosas o en cadenas (Figura 6 B) (Samson and Rombach 1985).

Hacia el año de 1898 en la isla de Java Zimmerman descubrió el hongo denominado *Cephalosporium lecanii* sin embargo, hacia el año 1939 el mismo hongo fue reportado como *Verticillium lecanii* por Viegas, quien se refirió al característico halo blanco formado por éste sobre el insecto *Coccus viridis* (Green) (Samson and Rombach 1985).

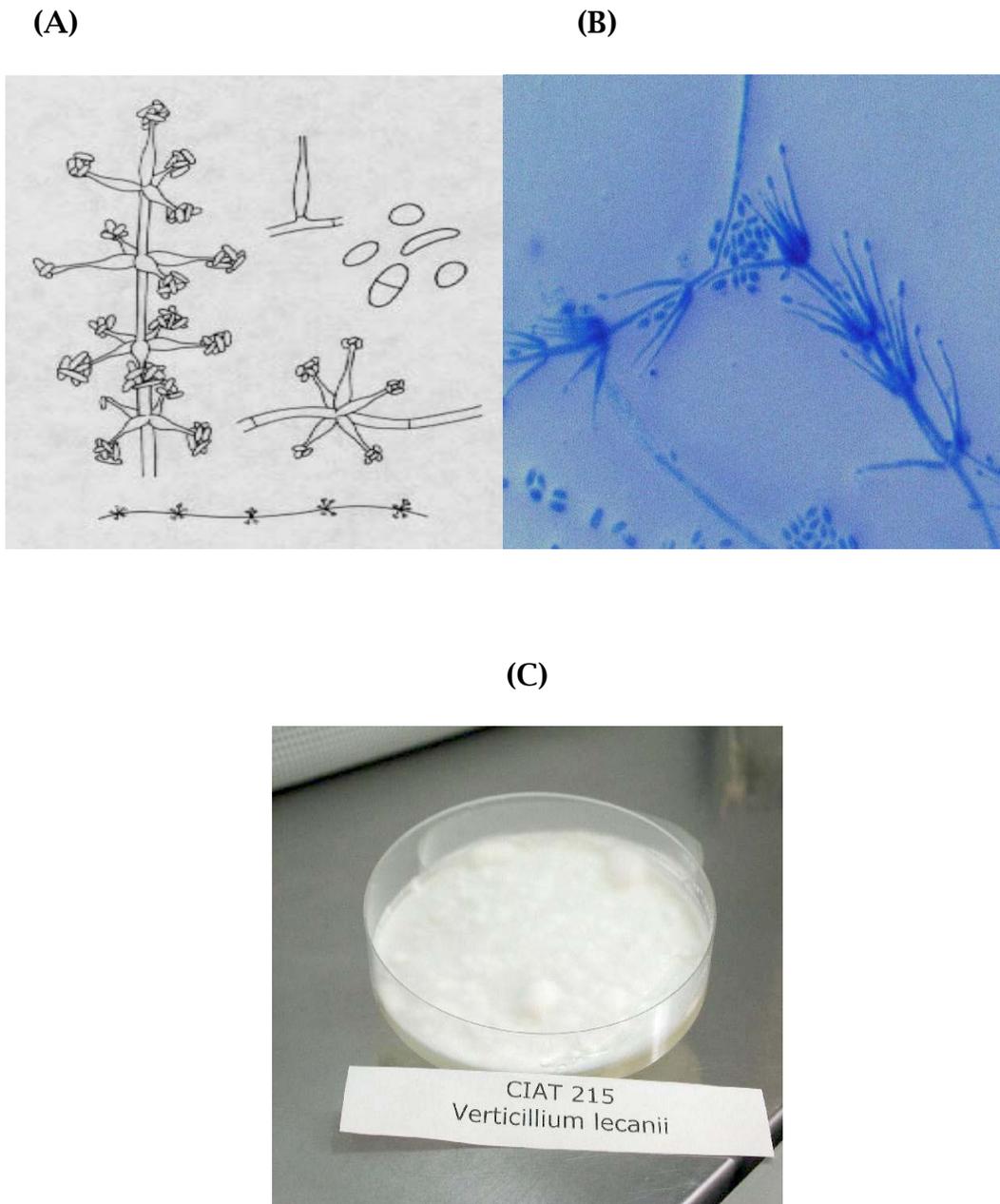


Figura 6. Características microscópicas y macroscópicas de *Verticillium* spp. **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *Verticillium* spp. Dibujo tomado de Malloch (1997). **B.** Microfotografía de conidióforos y conidias de *Verticillium lecanii*. Fotografía tomada de Herrera (2001) **C.** Morfología de las colonias de *Verticillium lecanii*. Fotografía: A. Morales.

El entomopatógeno *V. lecanii* es un hongo de amplia distribución y puede provocar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos de invernaderos (García 1996).

Existen numerosos informes en los que se comenta la acción de *V. lecanii* sobre la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (westwood). En uno de estos Fransen (1990), comenta que este hongo infecta tanto ninfas como adultos del insecto, pero no sus huevos.

2.4.8. Producción de hongos entomopatógenos

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato (Monzón 2001).

2.4.8.1. Medios de Cultivo

Todos los medios de cultivo utilizados en micología deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo de los hongos (carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, etc). El pH ha de ser

ligeramente ácido para facilitar el crecimiento de los hongos e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos.

Además se deben añadir antibióticos antibacterianos para inhibir el crecimiento de las bacterias saprófitas que suelen contaminar las muestras. Los más usados son el Cloranfenicol y la Gentamicina.

Existen tres tipos de medios de cultivo para los hongos de acuerdo a su procedencia y origen de sus componentes: 1. Medios naturales, se caracterizan por estar preparados por compuestos de origen natural y su composición no es exacta, como pedazos o infusiones de frutas, vegetales, granos de cereales o tejidos animales. Estos medios varían mucho en su composición, no son fácilmente reproducibles, ni de amplio uso. 2. Medios semisintéticos, están conformados por compuestos de origen natural y químico, estos medios de cultivo están preparados con peptonas, extractos de plantas, agar y otros compuestos de procedencia desconocida o variable. 3. Medios sintéticos, presentan composición química definida cuantitativa y conocida. La mayoría de las fórmulas de los medios de cultivo utilizados para hongos contienen peptona, algún carbohidrato y agar (Pelczar *et al.* 1997)

2.4.8.2. 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 vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo este más protegido al momento de la aplicación, así mismo, la facilita evitando que se sedimente fácilmente y/o que forme grumos que tapen la boquillas. 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).

Hay dos tipos de formulaciones: 1. Seca o polvo mojable en la cual se utiliza un vehículo, el cual puede ser de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable. 2. Líquida o emulsificable que utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido utilizado 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).

La comercialización de insecticidas basados en hongos entomopatógenos requiere un control de las propiedades biológicas, físicas y químicas. Para esto se realizan pruebas microbiológicas como concentración de esporas, germinación de esporas y prueba de pureza. Además de las pruebas físico-químicas de determinación de pH, porcentaje de humedad, humectabilidad, Suspensibilidad y taponamiento de boquillas, que aseguren al usuario un producto con la máxima eficacia de control en el campo (Vélez *et al.* 1997).

2.4.9. Reactivación de los Hongos Entomopatógenos

Es conocido el procedimiento para mantener la virulencia constante mediante inoculación del hongo a un insecto hospedero vivo y su posterior reaislamiento una vez muerto el mismo. La frecuencia de estos pases por insectos está dada por las veces que la cepa puede ser multiplicada sin perder su virulencia recomendándose generalmente hacerla cada 3 ó 4 pases por medio nutriente natural o sintético (Ocpi 1986).

Otro método empleado para mantener cepas virulentas ha sido la incorporación de larvas de lepidopteros desecados y pulverizados a un medio nutriente comercial (Ocpi 1986).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

Esta investigación se realizó en el laboratorio y cuarto de cría de Bioecología y MIP del Salivazo de los Pastos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado en el municipio de Palmira, Departamento del Valle del Cauca. Ubicado a 3° 31' latitud norte, 76° 20' longitud oeste a 1000 msnm.

3.2. PLANTAS HOSPEDERAS

El material vegetal utilizado para evaluar los aislamientos de hongos entomopatógenos sobre huevos y ninfas de *A. socialis* correspondió a plantas de yuca de 30-40 días de siembra de la variedad CMC 40, sembradas en potes plásticos con suelo estéril de 1.0 kg, las cuales se mantuvieron en casa de malla a una temperatura de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 50-60%.

3.3. INSECTOS

Los estados ninfales y adultos de *A. socialis* utilizados en los diferentes ensayos fueron tomados de la colonia establecida en CIAT desde 1992, sobre plantas de yuca de la variedad CMC 40 en condiciones de invernadero a una temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 60-70%.

3.4. COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LOS AISLAMIENTOS NATIVOS

Sánchez y Bellotti (1997), realizaron varias exploraciones de campo en las zonas yuqueras de los departamentos del Cauca, Chocó, Caldas, Santander, Tolima y Valle, donde colectaron hojas de yuca afectadas por mosca blanca en diferentes grados de daño, estas hojas fueron colocadas dentro de cámaras húmedas y llevadas al laboratorio por un período de 48 horas; luego evaluaron el material recolectado en campo con un microscopio estereoscópico y escogieron las ninfas que presentaron signos de afección por hongo como esporulaciones o coloraciones atípicas.

Tres aislamientos de los obtenidos por Sánchez y Bellotti (Tabla 2) y tres aislamientos colectados a partir de individuos de *Trialeurodes*

vaporariorum afectados por hongos entomopatógenos en muestras de follaje de habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) procedentes del municipio de Pradera (Valle del Cauca) y pertenecientes al programa de Entomología de Fríjol del CIAT (Tabla 2), se encontraban almacenados en el cepario del CIAT en la técnica de papel filtro seco a una temperatura de -20°C (Figura 8 A).

Estos seis aislamientos se sembraron en Papa Dextrosa Agar (PDA) y Saboraud Dextrosa Agar (SDA) (Figura 8 B). Posteriormente fueron reactivados sobre adultos de *A. socialis*.

Tabla 2. Aislamientos de hongos entomopatógenos colectados de moscas blancas en zonas yuqueras del país

Aislamiento	Origen	Fecha de		Identificación*
		Colección	Hospedero	
CIAT 210	Pradera-Valle	26-Jul-99	<i>T. vaporariorum</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CIAT 211	Pradera-Valle	14-May-99	<i>T. vaporariorum</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CIAT 212	Pradera-Valle	10-Jun-99	<i>T. vaporariorum</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CIAT 215		04 Dic-97	<i>A. socialis</i>	<i>Verticillium lecanii</i>
CIAT 216		27-Abr-97	<i>A. socialis</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CIAT 217		16-Nov-96	<i>A. socialis</i>	<i>Beauveria bassiana</i>

* Identificación realizada por Richard A. Humber de Plant Protection Research Unit US Plant, Soil & Nutrition Laboratory, USDA, Ithaca, NY USA.

3.5 REACTIVACION DE LOS AISLAMIENTOS NATIVOS

3.5.1. Reactivación sobre pupas de *A. socialis*.

Para la reactivación de los hongos en el laboratorio se evaluaron varias metodologías, la primera fue la propuesta por Landa *et al.* (1994) para determinar la patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre *Trialeurodes vaporariorum* y adaptada por Sánchez y Bellotti (1997) a *Aleurotrachelus socialis*, la cual consistió en tomar de la colonia de *A. socialis*, 30 ninfas de cuarto ínstar (pupas) sobre una placa de vidrio porta objetos estéril de 100 x 30 mm, en filas de 10 y columnas de 3 especímenes. La inoculación de los hongos entomopatógenos se realizó aplicando sobre cada pupa tres microlitros de una suspensión de conidias. Este procedimiento se realizó con cada uno de los aislamientos nativos. La microgota de inóculo se aplicó sobre cada pupa y se dejó secar por espacio de 2 minutos. La placa se colocó sobre cajas de petri de 60 x 15 mm dentro de cajas de petri de 100 x 15 mm con papel filtro húmedo con agua destilada estéril (Figura 7 A). La evaluación se realizó 7 días después de la aplicación con un microscopio estereoscópico. Sin embargo no se observó sobre los especímenes el crecimiento de los hongos empleados si no la presencia de hongos contaminantes.

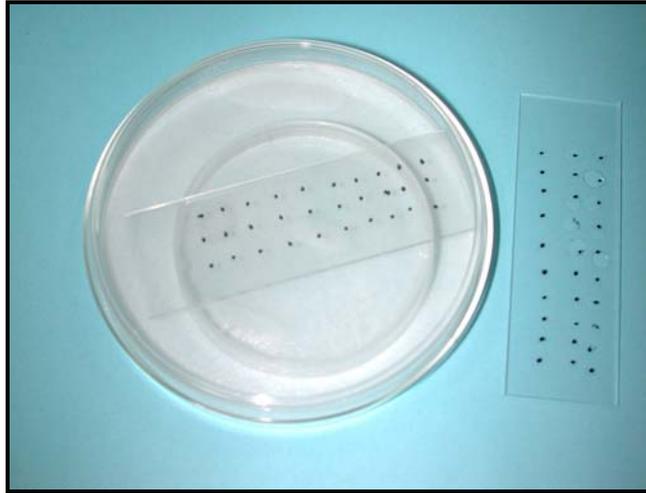
3.5.2. Aspersión de los hongos entomopatógenos sobre ninfas de *A. socialis* en hojas de yuca.

La segunda metodología evaluada consistió en tomar de la colonia de mosca blanca, hojas de yuca afectadas por los diferentes estados ninfales de *A. socialis*.

Los peciolo de las hojas de yuca se introdujeron en viales de 12 x 35 mm con agua destilada estéril y se sellaron con papel parafinado. Inmediatamente se ubicó el haz de las hojas sobre la superficie interna de cajas de petri de 150 x 15 mm..

Posteriormente se realizó la aplicación de los hongos con un microaspersor de vilves a una presión de dos atmósferas (Figura 7 B). La evaluación se realizó 5 días después de la aplicación con un microscopio estereoscópico. Sin embargo las hojas de yuca se deterioraron y también se obtuvo como resultado la presencia de hongos contaminantes por lo que no se observó el crecimiento de los aislamientos nativos aplicados.

(A)



(B)



Figura 7. Metodologías utilizadas para la reactivación de los aislamientos nativos sobre ninfas de *A. socialis* (A) Lámina porta-objetos (B) Caja plástica. Fotografía: E. Melo.

3.5.3. Adultos en cajas de petri con papel filtro húmedo estéril

La metodología de reactivación que finalmente se utilizó, consistió en tomar de la colonia 20 adultos de *A. socialis* con un aspirador bucal, luego se llevaron a una nevera a una temperatura de 5° C, durante 15 minutos y se introdujeron en cajas de petri de 60 x 15 mm. Las cajas contenían papel filtro húmedo con agua destilada estéril. Sobre estos adultos se inocularon las suspensiones de conidias de los hongos entomopatógenos (Figura 8 C).

Las cajas de petri que contenían los adultos de mosca blanca inoculados con los hongos entomopatógenos se llevaron a una incubadora a 27°C, con un fotoperíodo de 12:12 y una humedad relativa 50±10 %. Los insectos se dejaron en estas condiciones por un período de cinco días, después de transcurrido este tiempo, los adultos con presencia de micelio fueron sembrados en medio de cultivo PDA.

3.5.4. Agar suplementado con insecto

Una vez purificados los hongos se les realizó un pase sobre “agar insecto” al 0.5%. Para la preparación de este agar se colectaron adultos de *A. socialis* de la colonia y de cultivos de yuca localizados en el municipio de Jamundí - Valle del Cauca (Figura 8 D). Se maceraron y se adicionaron a

agar PDA esterilizado previamente a razón de 0.5 g del macerado por cada 100 ml de agar. Se llevó nuevamente a autoclavar a una presión de 100 libras durante 10 minutos, al agar se le agregó Cloranfenicol al 0.05 %, se vertió en cajas de petri desechables estériles de 60 x 15 mm y sobre éste se sembraron los seis aislamientos. Posteriormente se les realizó otro pase sobre “agar insecto” con macerado de huevos y ninfas de *A. socialis* (Figura. 8 E) siguiendo el mismo procedimiento anterior. Después de realizada la reactivación y los dos pases sobre agar insecto, estos aislamientos se utilizaron en los bioensayos.

3.6. PRODUCCIÓN MASIVA DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Para la producción masiva de los aislamientos nativos se emplearon dos medios de cultivo sintéticos: Papa Dextrosa Agar (PDA) Merck® y Saboraud Dextrosa Agar más Extracto de Levadura (SDAY) y dos medios de cultivo líquidos semisintéticos: Papa Dextrosa más Extracto de Levadura (PDY) y Bean Lime (BL).

Estos medios de cultivo se elaboraron agregando a 1000 ml de agua destilada cada uno de sus componentes, se agitaron en un vórtex durante 10 minutos y posteriormente se llevaron a esterilizar en un autoclave

(Tabla 3). Antes de servir los medios en las cajas de petri, se les adicionó antibiótico. Para los medios de cultivo líquidos PDY y BL, primero se precece la papa y el frijol respectivamente (Tobón 2002).

3.6.1. Obtención de los inóculos

Los aislamientos se multiplicaron en los medios de cultivo anteriormente descritos, los cuales se mantuvieron en una incubadora a 27°C, con un fotoperíodo de 12:12 y una humedad relativa 50±10 %.

Una vez esporulados, se cosecharon las conidias de cada aislamiento agregando a cada caja de petri 50 ml de Tween 80 al 0.05% en agua destilada estéril y removiendo el hongo con una espátula. Posteriormente se licuó durante 60 seg y se vertió en un beaker de 250 ml (suspensión madre). Se realizaron tres diluciones sucesivas de 100 µl de suspensión del inóculo en 900 µl de agua destilada estéril, se rotularon como 10⁻¹, 10⁻² y 10⁻³. Con la cámara de Neubauer y 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.

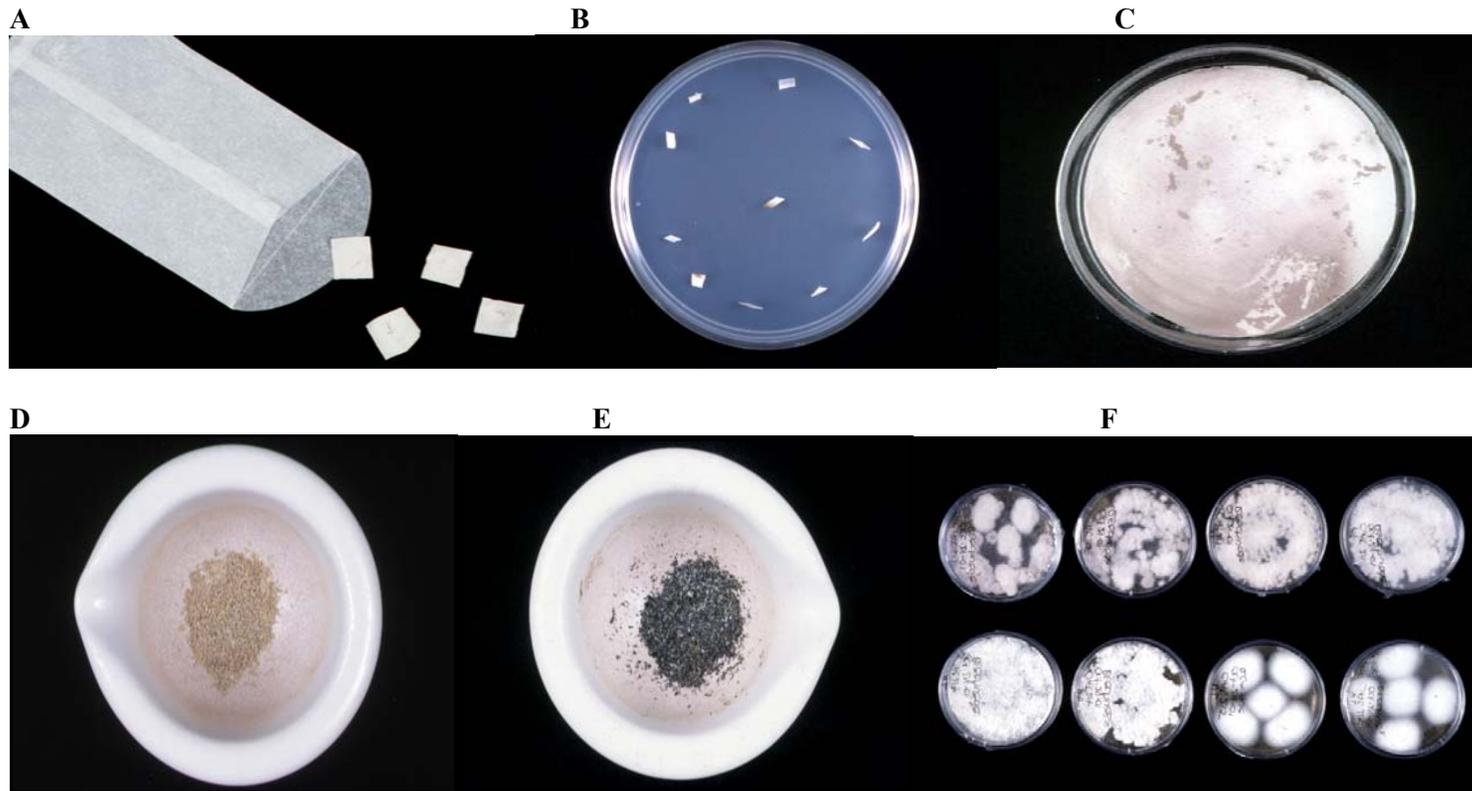


Figura 8. Metodología de reactivación de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos.

(A) Conservación en papel filtro seco (B) Siembra en PDA (C) Inoculación sobre adultos de *A. socialis* (D) Adultos de *A. socialis* recolectados para «agar insecto»(E) Huevos y ninfas de *A. socialis* recolectados (F) Aislamientos reactivados. Fotografía: J. Quintana.

Tabla 3. Composición de los medios de cultivo utilizados para el crecimiento de los aislamientos nativos.

PDA		SDAY		PDY (líquido)		BL (Líquido)	
PDA Merck®	39 g	Peptona	10 g	Papa	250 g	Frijol (Calima)	200 g
Agua destilada	1000 ml	Dextrosa	40 g	Dextrosa	20 g	Dextrosa	20 g
		Extracto levadura	10 g	Peptona	5 g	Agua destilada	1000 ml
		Agar	15 g	Extracto levadura	5 g		
		Agua destilada	1000 ml	Agua destilada	1000 ml		
Acido Láctico 0.1%		Acido Láctico 0.1%		Cloranfenicol 0.05%		Cloranfenicol 0.05%	

Esterilización en autoclave a 121°C de temperatura, presión de 20 lb por 45 minutos.

3.7. BIOENSAYOS REALIZADOS CON LOS AISLAMIENTOS NATIVOS Y LOS PRODUCTOS COMERCIALES

3.7.1. Determinación del estado de desarrollo más susceptible y selección del aislamiento más promisorio.

Para infestar las plantas de yuca, se aspiraron de 20-30 adultos de *A. socialis* (Figura 9 A) y se introdujeron en jaulas pinza ubicadas en las hojas de la planta (Figura 9 B). Al cabo de 24 horas, se retiraron los adultos. Este procedimiento se realizó 4, 7, 14 y 23 días después con el fin de obtener todos los estados de desarrollo del insecto en el momento de la aplicación (Figura 9 C).

El inóculo se obtuvo del crecimiento de los aislamientos nativos en medio PDY líquido de 15 días de desarrollo y se llevó a la concentración de 1×10^8 conidias/ml (Figura 9 D).

La aplicación de los hongos sobre las ninfas y huevos de *A. socialis* se realizó con un microaspersor, a una presión de salida de 10 PSI (Figura 9 E). El cubrimiento fue evaluado sobre una tira de papel hidrosensible. El volumen asperjado por tratamiento fue de 4.0 ± 0.5 ml de suspensión. Después de la aplicación las plantas fueron

llevadas a un cuarto de cría a una temperatura de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del 80-90% (Figura 9 F).

La evaluación se realizó con un microscopio estereoscópico (Figura 9 G) a emergencia de adultos. Se contabilizaron exuvias, ninfas vivas y ninfas muertas con y sin evidencias de micosis. Las ninfas muertas sin evidencia de micosis se ubicaron en cajas de petri con papel filtro húmedo por 4-5 días para determinar la presencia o no del hongo.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento. Como unidad experimental se consideró cada hoja de la planta sobre la cual se colocó una jaula pinza y en la que se dejaron 30 ninfas o huevos de *A. socialis*. Los controles consistieron en agua destilada estéril y agua destilada estéril más Tween 80 al 0.05%. Esta misma metodología se empleó para determinar la concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) y evaluar las formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos.

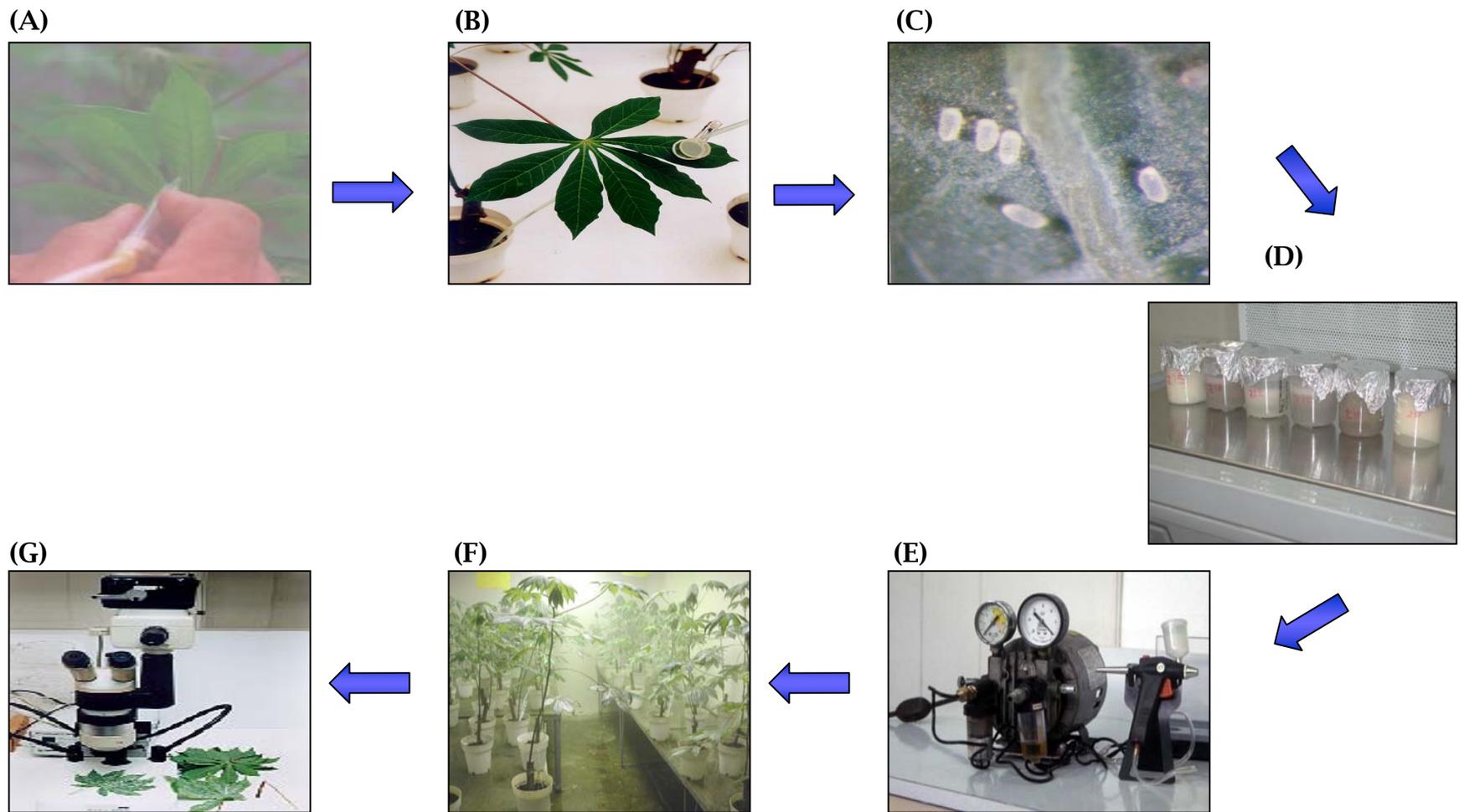


Figura 9. Metodología de aplicación de los hongos entomopatógenos (A) Aspirador bucal (B) Jaula pinza (C) Estado huevo (D) Soluciones de Hongos entomopatógenos (E) Paint-brush (F) Cuarto de cría (G) Microscopio estereoscópico.

3.7.2. Concentración letal media y noventa (CL₅₀ y CL₉₀).

Después de tener el estado de desarrollo más susceptible a los hongos entomopatógenos aplicados, se evaluó sobre éste el aislamiento más promisorio en siete concentraciones (1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 5.0×10^6 , 1×10^7 , 5.0×10^7 conidias/ml), además del testigo. Los datos obtenidos en las evaluaciones fueron sometidos a un análisis Probit para calcular la CL₅₀ y CL₉₀.

3.7.3. Evaluación de productos comerciales.

Se evaluaron seis formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos en la dosis recomendada por cada casa comercial sobre el estado de desarrollo de *A. socialis* más susceptible a los aislamientos nativos (Tabla 4). Así mismo, se realizó un control de calidad según la metodología establecida por Cenicafé (Vélez *et al* 1997). Se determinó los valores para conteo de esporas, viabilidad a las 24 horas, pureza, pH y humectabilidad de los productos formulados.

Tabla 4. Formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos evaluadas sobre *A. socialis*

Formulado	Ingrediente activo	Presentación
<i>P.f</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Polvo mojable (producción en arroz)
V.I (a)	<i>Verticillium lecanii</i>	Polvo mojable (microtalco estéril)
<i>B.b</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Polvo mojable (microtalco estéril)
V.I (b)	<i>Verticillium lecanii</i>	Polvo mojable (microtalco estéril)
V.I (c)	<i>Verticillium lecanii</i>	Microglobulizado
V.I (d)	<i>Verticillium lecanii</i>	Polvo mojable (microtalco estéril)

3.7.3.1 Control de calidad de las formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos

3.7.3.1.1. Concentración de esporas

Se tomó 1 g de cada producto formulado en polvo y 1 ml del producto microglobulizado, se depositó en tubos de ensayo que contenían 10 ml de Tween 80 al 0.05% en agua destilada estéril (ADE) (suspensión madre 10^0), se agitó en un vórtex durante un minuto. Inmediatamente se mezcló un mililitro de la suspensión madre con 9 ml de ADE (dilución 10^{-1}) y un mililitro de la dilución 10^{-1} con 9 ml de ADE hasta obtener la dilución 10^{-2} . Se continuó de igual forma hasta obtener la dilución apropiada para el recuento de esporas.

Para el recuento de esporas se utilizó la cámara de Neubauer o hemocitómetro.

3.7.3.1.2. Viabilidad de esporas

Se sirvieron 10 ml de Agar-agua sin acidificar en cajas de petri de 100 x 15 mm, se marcaron 5 puntos en la superficie externa inferior de la caja, correspondientes a los puntos en los cuales se depositaron las alícuotas que contiene las esporas. De la dilución 10^{-3} de cada submuestra preparada en la prueba de conteo de esporas y previamente agitada, se tomaron 5 μ l para depositarlos en las cajas de petri, a razón de 5 alícuotas por caja por

submuestra. Las cajas de petri inoculadas se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación se agregó azul de lactofenol a cada alícuota. Luego se cortaron las alícuotas y se depositaron sobre una lámina portaobjetos y se cubrió con una laminilla para contar las esporas germinadas, las no germinadas y con estos valores determinar el porcentaje de germinación.

3.7.3.1.3. Prueba de pureza

Se preparó SDA más cloranfenicol (0,016%), luego se tomó de la dilución 10^{-4} de cada una de las submuestras del patrón y se agitó en un vórtex durante un minuto; se inoculó 0,1 ml en la superficie de dos cajas de agar por submuestra, dispersando el inóculo con la ayuda de un rastrillo de vidrio.

Las cajas de petri se sometieron a incubación a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Diariamente y durante siete días se contabilizó el número de unidades formadoras de colonia (UFC) de cada microorganismo en cada una de las submuestras.

El porcentaje de pureza (P) se calculó aplicando la fórmula:

$$\% P = \frac{\text{UFC del ingrediente activo}}{\text{UFC totales}} \times 100$$

3.7.3.1.4. pH

Se preparó una mezcla en proporción 1:10 (muestra: agua destilada), se homogenizó y se dejó reposar durante una hora. Después con un pHmetro, previamente calibrado con soluciones Buffer se determinó el pH de los productos.

3.7.3.1.5. Humectabilidad

Se pesaron 5 g de la formulación que se iba a evaluar y se depositaron en un punto fijo en la superficie de un vaso de precipitado de 250 ml y 7 cm de diámetro interno, que contenía 200 ml de agua destilada. Con un cronómetro se midió el tiempo transcurrido entre el momento de agregar la muestra y el instante en que ésta desaparece de la superficie. Esta prueba se le realizó a los cinco formulados en polvo.

3.7.4. Experimento preliminar. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de *A. socialis*

Con el fin de establecer una metodología que permitiera la evaluación de los hongos entomopatógenos sobre el estado adulto de *A. socialis*, se realizó un ensayo preliminar de cinco días de duración, utilizando diferentes unidades experimentales, con el fin de observar la sobrevivencia de los adultos de mosca blanca dentro de éstas.

3.7.4.1. Jaulas pinza.

Para infestar las plantas de yuca, se aspiraron de una caja de emergencia de 20-30 adultos de *A. socialis* recién emergidos y se introdujeron en jaulas pinza de 2.5 centímetros de diámetro ubicadas en las hojas de la planta (Figura 10 A).

3.7.4.2. Cajas de Petri.

La segunda metodología utilizada consistió en infestar las plantas de yuca, tomando con un aspirador bucal 20-30 adultos de *A. socialis* recién emergidos y se depositaron en cajas de petri de 150 mm de diámetro x 25 mm de alto (Figura 10 B).

3.7.4.3. Cilindro de acetato con tela negra

Se cubrió el suelo de plantas de yuca de 20 - 30 días de siembra con tela negra y la parte aérea con un cilindro de acetato transparente de 40 cm de alto y 18 cm de diámetro, con ventanas de tul blanco como sistema de aireación, sujetado a los potes plásticos por cintas adhesivas (Figura 11 A). A través de estas vetanas se introdujeron 30 adultos recién emergidos de *A. socialis*.

Después de realizar este ensayo preliminar, se determinó que la metodología más práctica y de fácil evaluación era utilizar los cilindros de acetato pero con la variación de dejar las plantas de yuca con una sola hoja, para facilitar el conteo de los adultos y la aplicación de los hongos sobre éstos.

(A)



(B)



Figura 10. Metodologías empleadas para la evaluación de los hongos entomopatógenos sobre adultos de *A. socialis* (A) Jaulas pinza (B) Cajas de petri. Fotografía: J. Quintana.

3.7.5. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de *A. socialis* en cuarto de cría

El primer ensayo se realizó utilizando los cilindros de acetato con la variación anteriormente descrita, en un cuarto de cría masiva a una temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 80-90%.

El inóculo se obtuvo del crecimiento de los aislamientos nativos en medio PDY líquido de 15 días de desarrollo y se llevó a la concentración de 1×10^8 conidias/ml.

La aplicación de los aislamientos nativos sobre los adultos de *A. socialis* se realizó con un microaspersor con una presión de salida de 10 PSI. El volumen asperjado por tratamiento fue de 3.0 ± 0.5 ml de suspensión.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento. Como unidad experimental se consideró cada planta cubierta por el cilindro de acetato. El control consistió en agua destilada estéril más Tween 80 al 0.05%.

La evaluación se realizó diariamente y se contabilizaron los adultos vivos y los adultos muertos con y sin evidencias de micosis. Los adultos muertos sin evidencia de micosis se ubicaron en cajas de petri con papel filtro húmedo por 4-5 días para determinar la presencia o no del hongo.

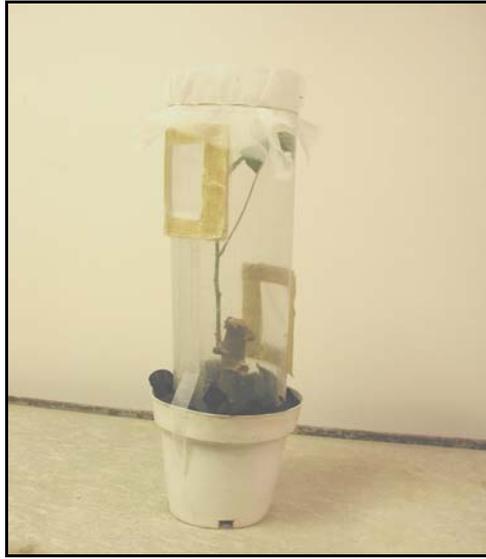
3.7.6. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de *A. socialis* en casa de malla

Este ensayo se realizó utilizando la metodología de los cilindros de acetato pero no se efectuó en el cuarto de cría sino en una casa de malla con rangos de temperatura que variaron entre los 26 y 32°C y rangos de humedad relativa que oscilaron entre el 40-100%.

El inóculo se obtuvo del crecimiento de los aislamientos nativos en medio PDY líquido de 15 días de desarrollo y se llevó a la concentración de 1×10^8 conidias/ml.

La aplicación de los aislamientos nativos sobre los adultos de *A. socialis* se realizó con un microaspersor con una presión de salida de 10 PSI. El volumen asperjado por tratamiento fue de 3.0 ± 0.5 ml de suspensión

(A)



(B)



Figura 11. Metodologías empleadas para la evaluación de los hongos entomopatógenos sobre adultos de *A. socialis*. (A) Cilindro de acetato cubierto con tela negra en la parte inferior. (B) Cilindro de acetato cubierto con espuma en la parte inferior. Fotografía: I. Aleán

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento. Como unidad experimental se consideró cada planta cubierta por el cilindro de acetato. El control consistió en agua destilada estéril más Tween 80 al 0.05%.

La evaluación se realizó diariamente y se contabilizaron los adultos vivos y los adultos muertos con y sin evidencias de micosis. Los adultos muertos sin evidencia de micosis se ubicaron en cajas de petri con papel filtro húmedo por 4-5 días para determinar la presencia o no del hongo.

3.7.7. Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) del aislamiento nativo CIAT 215 sobre adultos de *A. socialis*.

La infestación de las plantas de yuca de 20 - 30 días de siembra consistió en dejar las plantas por un período de 2 -3 horas en la mesa de la colonia de mosca blanca más cercana a las plantas donde se encuentran las pupas y los adultos recién emergidos de *A. socialis*, permitiendo así la migración de éstos a las plantas nuevas.

Una vez se observaba una buena cantidad de adultos en el envés de la hoja, se procedía a colocar los cilindros de acetato y se ubicó un círculo de espuma de 15 cm de diámetro en vez de la tela negra para cubrir el suelo, a esta espuma se le realizó una abertura, donde se introdujo el cilindro de acetato (Figura 11 B).

Posteriormente se llevaron las plantas al cuarto de cría y se optó por no encender los humidificadores

Se evaluaron seis concentraciones (1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 conidias/ml) del aislamiento CIAT 215 *Verticillium lecanii* de 15 días de desarrollo en medio BL líquido.

La aplicación del aislamiento sobre los adultos de *A.socialis* se realizó con un microaspersor con una presión de salida de 10 PSI. El volumen asperjado por tratamiento fue de 3.0 ± 0.5 ml de suspensión.

El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar, con 10 repeticiones por tratamiento. Como unidad experimental se consideró cada planta cubierta por el cilindro de acetato. El control consistió en agua destilada estéril más Tween 80 al 0.05%.

4. RESULTADOS

4.1. Estado de desarrollo más susceptible y aislamiento más promisorio.

De los seis aislamientos nativos evaluados sobre los diferentes estados de desarrollo de *A. socialis*, el aislamiento CIAT 215 de *V. lecanii* presentó los porcentajes de mortalidad más altos, superiores al 50%, sobre todos los estados de vida del insecto y una mortalidad de 67.3% en promedio (Figura 12). Este fue seguido por el aislamiento CIAT 212 de *P. fumosoroseus* y CIAT 217 de *B. bassiana* con 48.5% y 47.2% de mortalidad, respectivamente. Los testigos presentaron una mortalidad promedio del 16%, inferior a todas las cepas evaluadas (Figura 12). Estos resultados no coinciden con los reportados por Sánchez y Bellotti (1997) quienes evaluaron diferentes cepas de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Fusarium* sp. y *V. lecanii* sobre ninfas de cuarto ínstar de *A. socialis*, y determinó una cepa de *B. bassiana* como la cepa más virulenta.

De los cinco estados de desarrollo de *A. socialis* evaluados, el aislamiento CIAT 215 de *V. lecanii* presentó los porcentajes de mortalidad más altos sobre huevos próximos a eclosionar (84.1%) y ninfas de II ínstar (72.0%). Aunque no se presentaron diferencias significativas entre estos dos estados de desarrollo, se seleccionó el de huevos próximos a eclosionar como el más susceptible dado que estos porcentualmente presentan una mayor mortalidad y no han iniciado

el daño a la planta. Los demás estadios presentaron mortalidades de 61.5% para ninfas de IV ínstar, 60.4% ninfas de I ínstar y 58.5% ninfas de III ínstar (Figura 13.).

Debido a las características morfológicas de esta mosca blanca que secreta una sustancia cerosa de color blanco, que podría confundirse con el micelio del hongo. Se realizó la evaluación a emergencia de adultos, contabilizando las exuvias que presentaban aberturas. Se puede afirmar que la aplicación sobre huevos próximos a eclosionar ocasionó una mayor mortalidad; sin embargo, en las evaluaciones hechas al estereoscopio se observaron todos los estados de desarrollo de *A. socialis* afectados por el hongo (Figura. 14). No obstante, Sánchez y Bellotti (1997) determinaron el segundo ínstar de *A. socialis* como el estado de desarrollo más susceptible a la cepa Bb 9501 de *B. bassiana*. De otra parte, Fransen (1990) mostró que *V. lecanii* infectaba tanto a ninfas como adultos pero no huevos de *T. vaporariorum*.

Así mismo, informó que las ninfas de segundo ínstar fueron las más susceptibles. Sin embargo Morales y Cardona (1996) determinaron a los primeros estados de desarrollo de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* como los más susceptibles a diferentes especies de hongos entomopatógenos, siendo los huevos próximos a eclosionar el estado ideal para hacer la aplicación por su alta tasa de mortalidad, determinada por la baja emergencia de adultos.

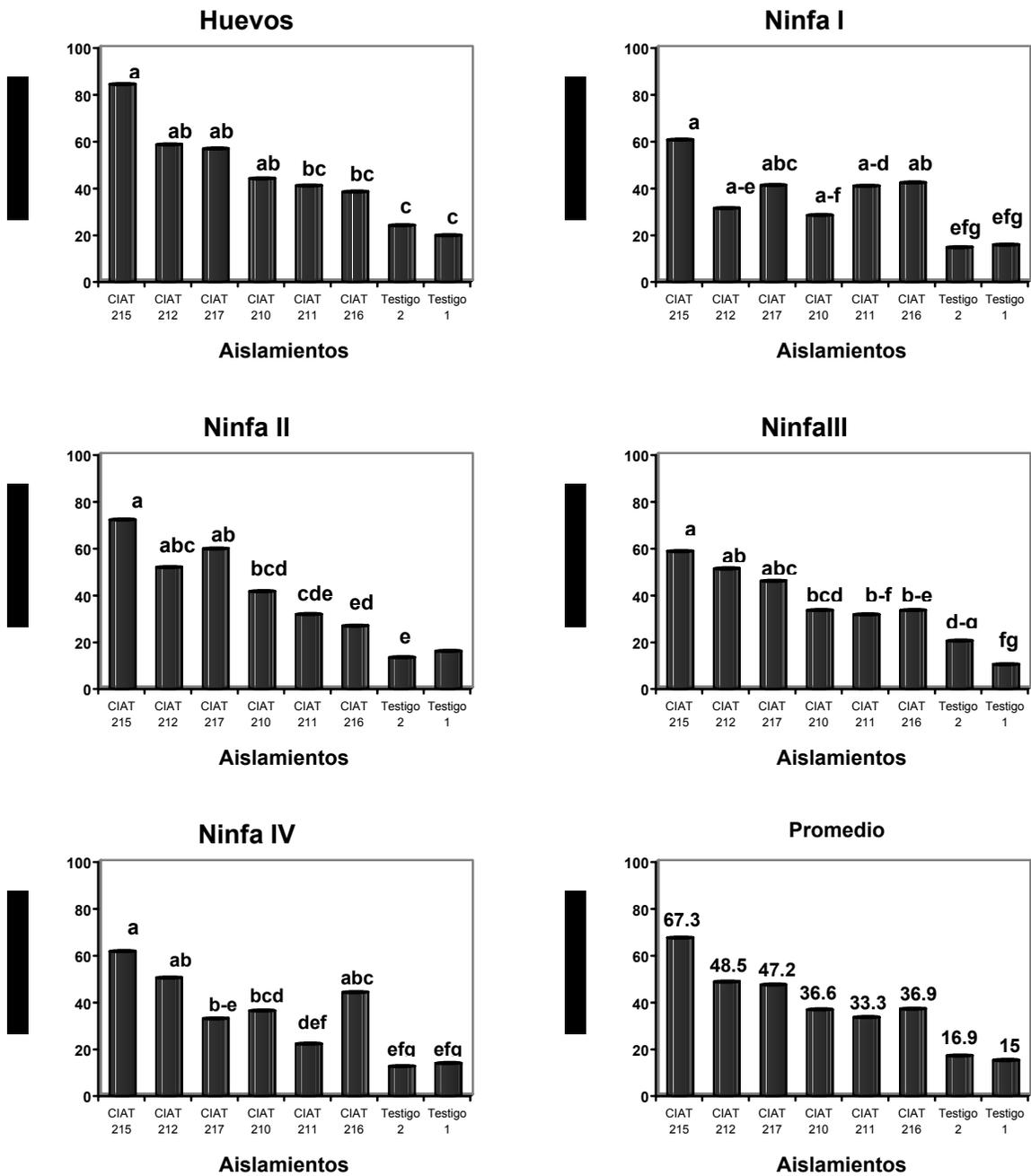
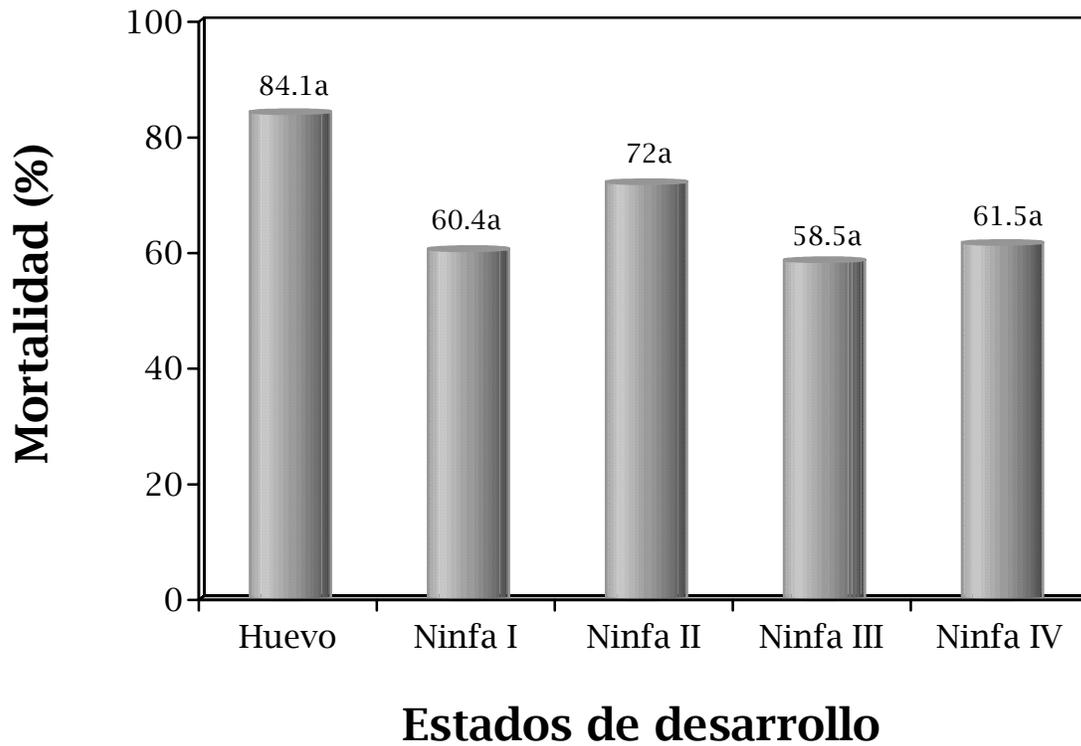


Figura 12. Porcentaje de mortalidad de aislamientos de hongos entomopatógenos sobre los diferentes estados de desarrollo de *A. socialis*. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).



*Prueba de Tukey al 5% de significancia

Figura 13. Porcentaje de mortalidad del aislamiento CIAT 215 *Verticillium lecanii* sobre huevos y ninfas de *Aleurotrachelus socialis*. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).

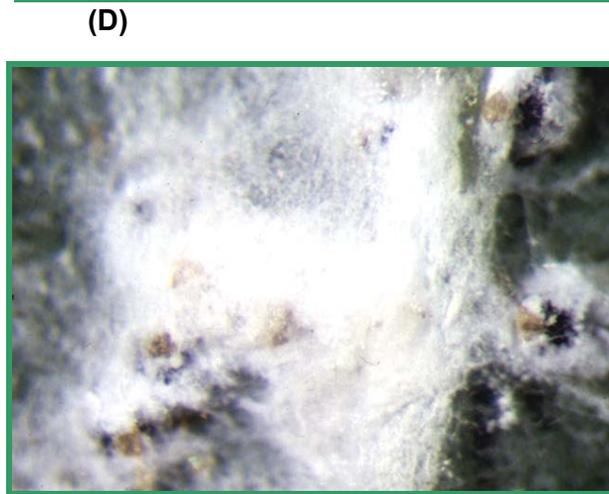
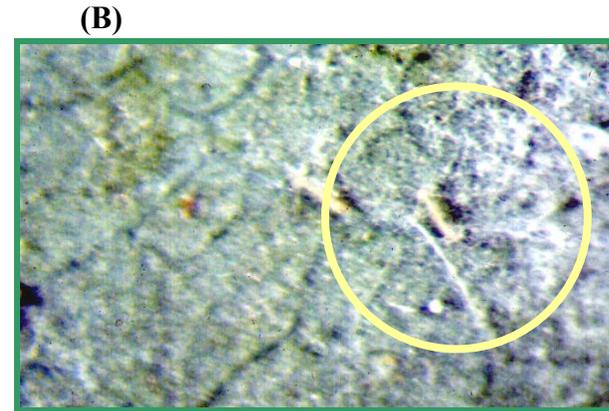
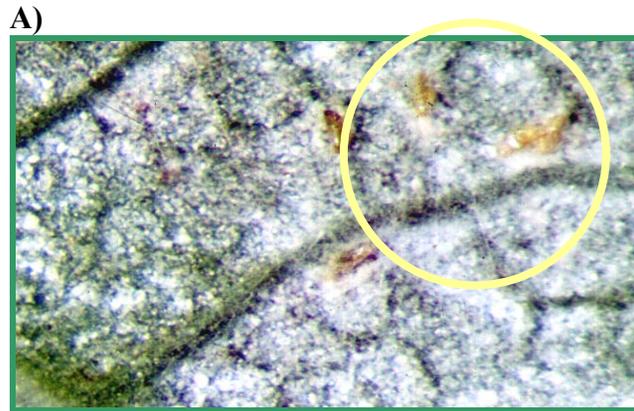


Figura 14. Presencia de micelio de *Verticillium lecanii* sobre los estados de desarrollo de *A. socialis*.

(A) Huevos (B) Ninfas de I Ínstar (C) Ninfas de II Ínstar (D) Ninfas de III y IV Ínstar. Fotografía: J. Guerrero.

4.2 Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}).

Para el aislamiento CIAT 215 (*V. lecanii*), a mayor concentración del inóculo se presentó mayor mortalidad de huevos próximos a eclosionar de *A. socialis* (Fig. 15). El análisis Probit mostró que la CL_{50} del aislamiento CIAT 215 se alcanzó con una concentración de 1.4×10^7 conidias/ml con límites de confianza de 3.6×10^5 - 1.5×10^9 conidias/ml. La CL_{90} se alcanzó con una concentración de 2.3×10^{12} conidias/ml con límites de confianza de 9.3×10^9 - 4.1×10^{21} (Tabla 5). Estos resultados plantean la necesidad de utilizar concentraciones muy altas de hongos en campo para obtener niveles óptimos de control.

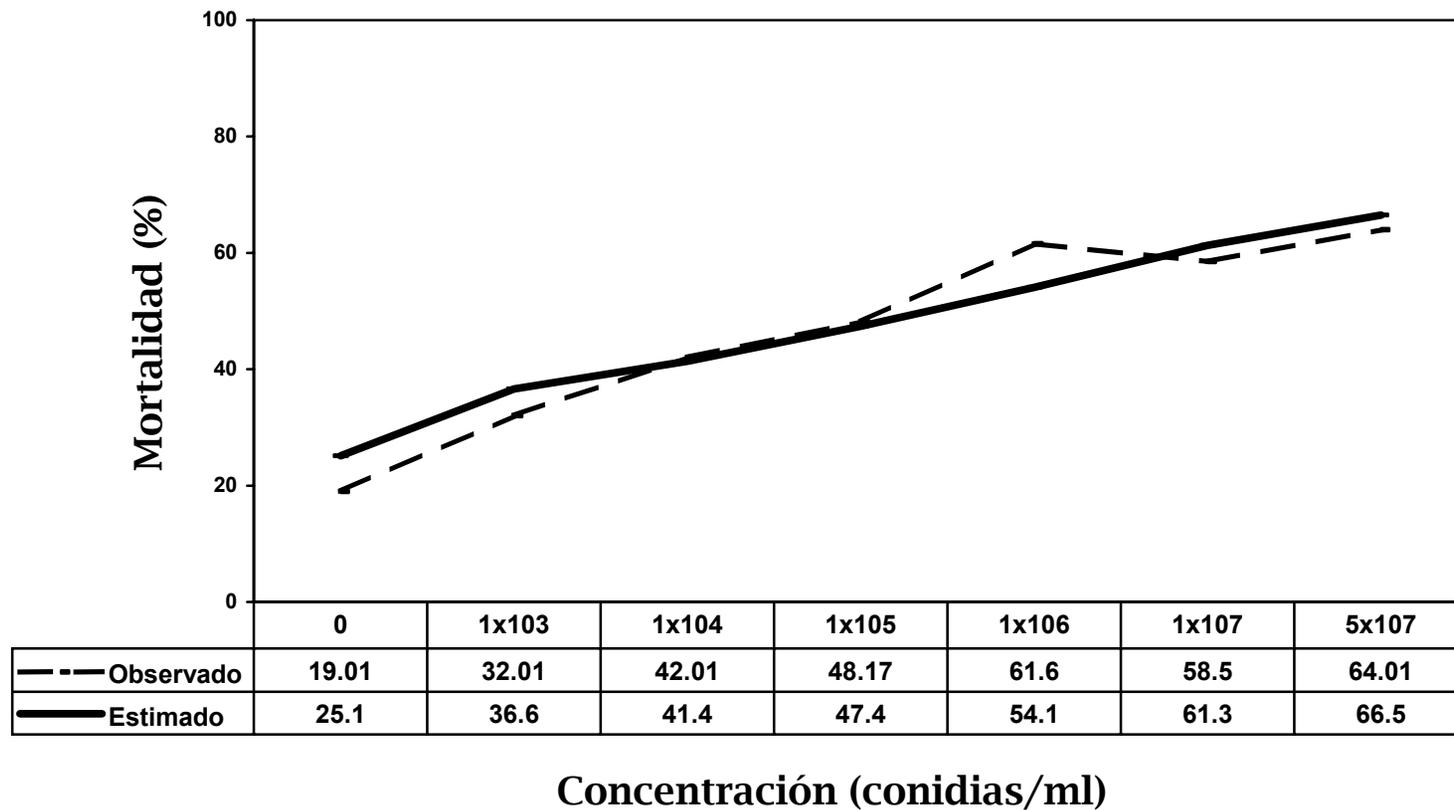


Figura 15. Mortalidad de huevos próximos a eclosionar de *A. socialis* a varias concentraciones del aislamiento CIAT 215 (*Verticillium lecanii*)

Tabla 5. Determinación de la Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) del aislamiento CIAT 215 (*Verticillium lecanii*)

N	CL_{50} (LC)*	CL_{90} (LC)	B ± EEM	X^2	P > X^2
2146	1.4×10^7 (3.6×10^5 - 1.5×10^9)	2.3×10^{12} (9.3×10^9 - 4.1×10^{21})	0.24 ± 0.05	12.6	0.01

*Límites de confianza al 95%

4.3 Control de calidad de productos comerciales.

En el recuento de propágulos de los productos formulados, hubo una concentración menor a la cantidad de esporas registrada en la etiqueta (Tabla 6). En el mejor de los casos el contenido de esporas por gramo de formulado fue el equivalente al 40% de las conidias que especifica la formulación, en otros este porcentaje fue inferior al 10%.

En la prueba de viabilidad a 24 horas después de siembra en placas de agar agua, se observó que sólo el formulado *P.f.* presentó una viabilidad del 95%; en los otros productos la viabilidad fue inferior al 50% (Tabla 6). Una formulación comercial debe tener una germinación superior al 85% en un tiempo de incubación de 24 horas, ya que al asperjar en el campo el hongo debe tener un rápido efecto sobre la población del insecto que está atacando y un corto período de exposición a condiciones ambientales (Velez *et al.*1997).

La prueba de pureza tiene como finalidad establecer la proporción del agente biológico en la formulación e identificar los microorganismos contaminantes. Dos formulados de *V. lecanii* (*V.l.b* y *V.l.c*) no presentaron el crecimiento de las colonias del ingrediente activo (Tabla 6); por el contrario presentaron contaminación por los hongos

Penicillium sp. y *Aspergillus* sp. Sólo tres formulaciones presentaron una pureza mayor al 95% (*P.f.*, 98%, *V.l.a* y *B.b.* 100%).

El intervalo óptimo de pH para una formulación comercial según Velez *et al.* 1997 es de 5.5 y 7.0. De las formulaciones evaluadas sólo los productos (*V.l.a* y *V.l.d*) se encuentran en este rango con un pH de 5.54 y 5.59, respectivamente. Los dos productos de mayor contaminación y menor viabilidad (*V.l.b* y *V.l.c*) presentaron un pH de 4.80 y 4.87. Estos productos son de la misma casa comercial en diferentes presentaciones. Es posible que el inerte empleado estuviese contaminado y esto afecte por competencia del sustrato de crecimiento la germinación de las esporas del hongo considerado como ingrediente activo.

Los formulados que presentaron mejor humectabilidad son *V.l.b*, *P.f.* y *V.l.a* con 1.5, 2.0 y 4.0 minutos, respectivamente, los formulados de *V.l.d* y *B.b.* no presentaron humectación o es muy lenta; lo que implicaría que al momento de la aplicación éstos podrían formar grumos y ocasionar taponamiento de las boquillas (Tabla 6).

Tabla 6 . Control de calidad de los hongos entomopatógenos formulados evaluados en el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis*

Producto	Conteo de esporas con/ml		Viabilidad 24 h (%)	Pureza (%)	pH	Humectabilidad (min)
	Lectura	Según casa comercial				
<i>P.f.</i>	6.6x10 ⁸	2x10 ¹⁰	95	98	5.35	2.0
<i>V.l.(a)</i>	8.1x10 ⁶	2x10 ⁷	35	100	5.54	4.0
<i>B.b.</i>	1.9x10 ⁸	2x10 ⁹	40	100	5.14	50.0
<i>V.l. (b)</i>	1.3x10 ⁸	2x10 ¹⁰	22	-	4.80	1.3
<i>V.l. (c)</i>	9.0x10 ⁷	2x10 ¹⁰	13	-	4.87	*
<i>V.l. (d)</i>	2.0x10 ⁷	2x10 ⁹	40	40	5.59	Ninguna

* La presentación de este producto es un microglobulizado por tal motivo no se le realizó la prueba de humectabilidad.

4.4. Evaluación de los productos comerciales sobre el estado de desarrollo de *A. socialis* más susceptible a los hongos entomopatógenos

Después de realizar el control de calidad, se evaluaron las diferentes formulaciones comerciales sobre huevos próximos a eclosionar de *A. socialis*. Se encontró que los productos formulados que se evaluaron presentaron porcentajes de mortalidad inferiores al 50%, sin embargo se encontraron diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo al 95% de confiabilidad (Figura 16). Esto indica que los productos evaluados no son adecuados para controlar *A. socialis*. Es probable que se deba a que dichos productos son recomendados para controlar otras especies de mosca blanca que son menos quitinizadas y no presentan cerosidad alrededor de su cuerpo como es el caso de *A. socialis*.

Se evidencia que la calidad de las formulaciones de hongos entomopatógenos evaluadas no es óptima. Queda la duda si la formulación misma es la que afecta la acción entomopatógena del hongo empleado como principio activo y por esto los productos no ejercen un buen control sobre el insecto. De otra parte se aprecia el problema de generalizar el control de varias especies de mosca blanca con un aislamiento de hongo entomopatógeno. Por esto es necesario

considerar las especies del complejo que son consideradas plaga en determinados cultivos, para así mismo seleccionar los aislamientos más virulentos y en cada caso dar una recomendación.

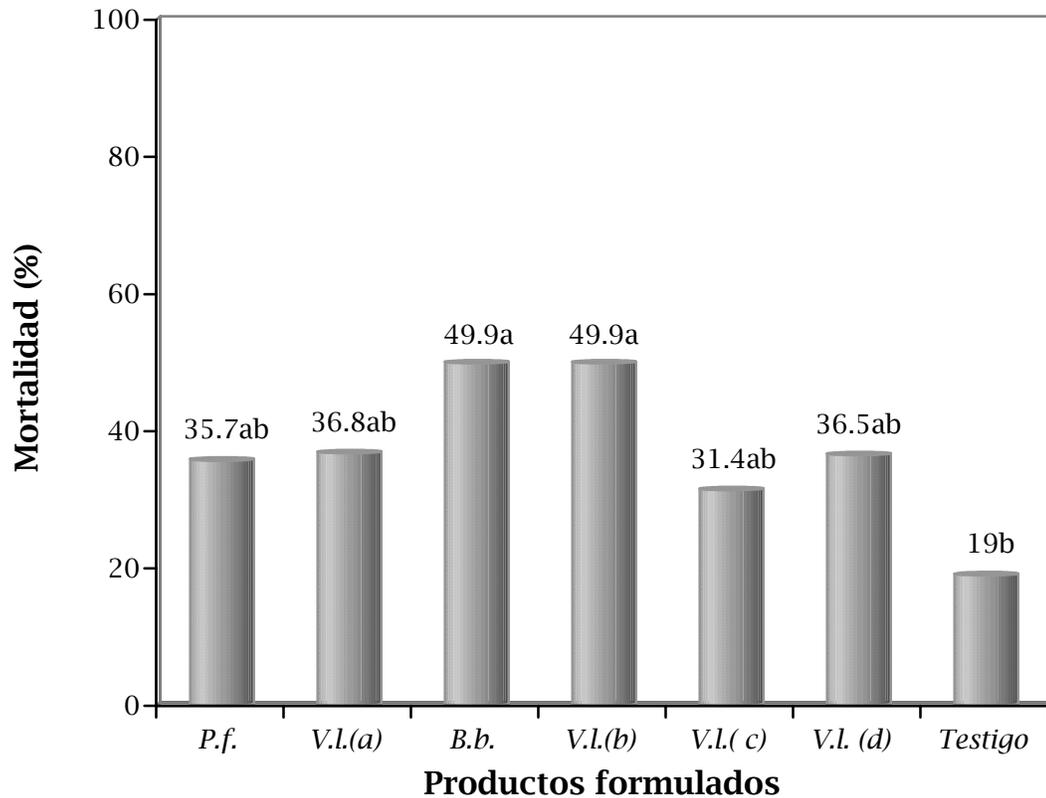


Figura 16. Mortalidad de huevos próximos a eclosionar de *A. socialis* con productos de hongos entomopatógenos formulados. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de Tukey).

4.5. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de *A. socialis* en cuarto de cría

Se obtuvo como resultado que tres aislamientos presentaron una mortalidad superior al 50% sobre adultos de *A. socialis*; siendo la más alta la obtenida con el aislamiento CIAT 211 *Paecilomyces fumosoroseus* con un 62% , seguido por CIAT 210 *P. fumosoroseus* y CIAT 215 *Verticillium lecanii* con un 57% y 55% respectivamente. No obstante se presentó una mortalidad en el testigo superior al 30% (Figura 17).

Esta mortalidad tan alta en el testigo se presentó principalmente porque no todos los adultos se posaban en el envés de la hoja, y quedaban atrapados en las gotas de agua que se formaban por el exceso de humedad en el tul y las paredes del cilindro de acetato.

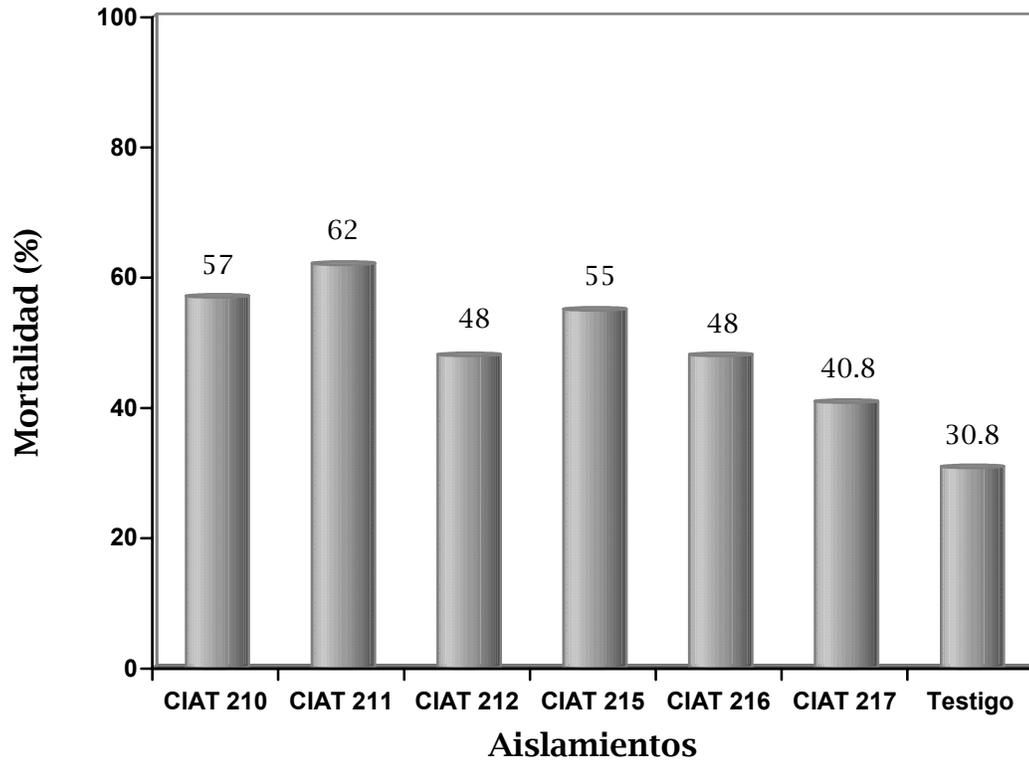


Figura 17. Porcentaje absoluto de mortalidad de adultos de *A. socialis* con diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos.

4.5.2. Evaluación de los aislamientos nativos sobre adultos de *A. socialis* en casa de malla

En el montaje del bioensayo se presentó un error en debido a que algunos adultos se escaparon por la parte inferior del cilindro de acetato, pues la cinta que sujetaba el cilindro a la materia en algunas ocasiones se despegó y por el espacio que quedaba entre éste y la tela, se fugaron los adultos, esto no permitió hacer un análisis estadístico ya que varias unidades experimentales se perdieron. Sin embargo, se decidió seguir aplicando el aislamiento CIAT 215 de *Verticillium lecanii*, por presentar una mortalidad del 92%, además por que se observó una alta mortalidad de los adultos de *A. socialis* incluso 2 días después de aplicado el hongo (Figura 18).

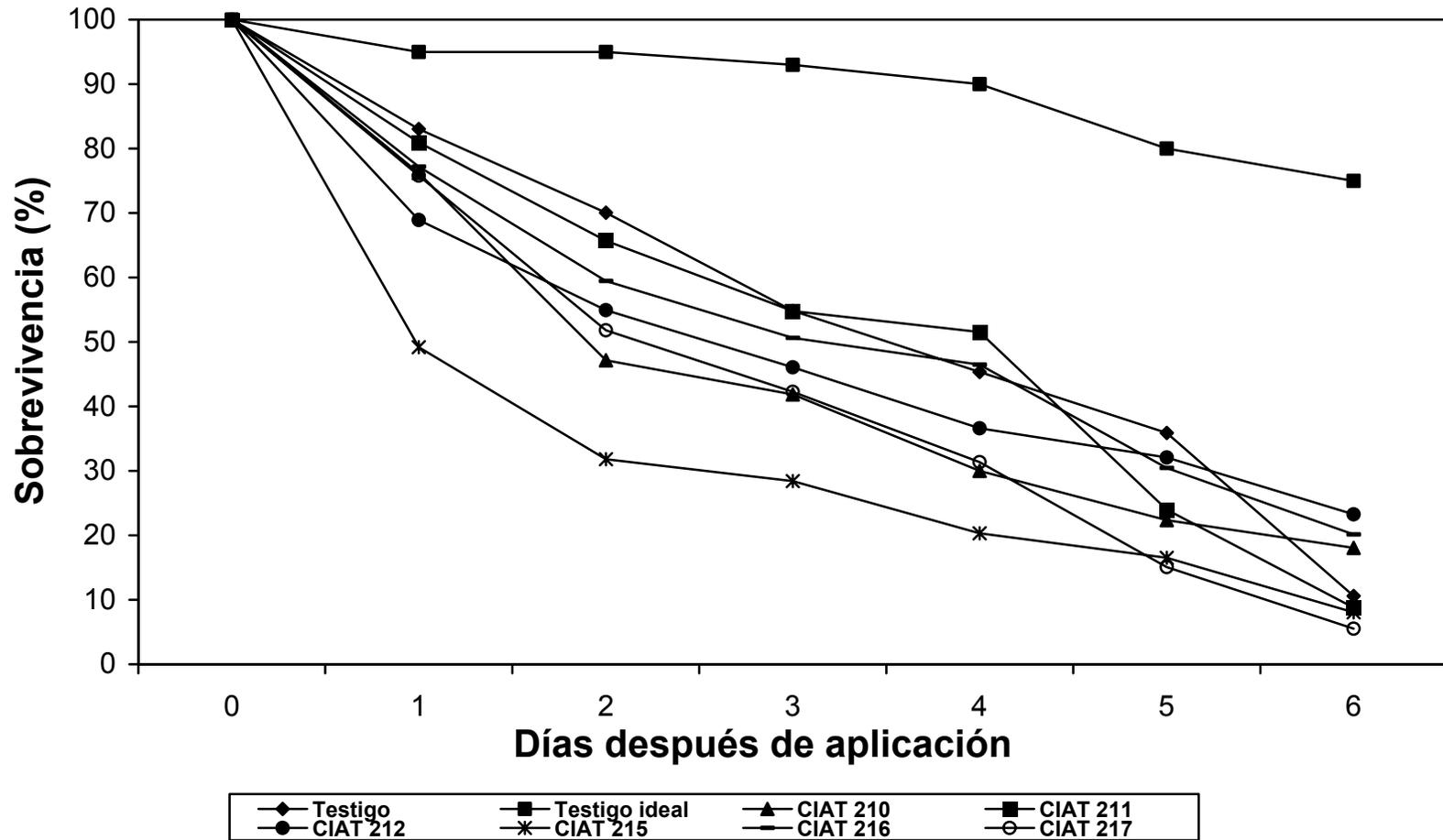


Figura 18. Sobrevivencia de adultos de *A. socialis* a aplicaciones de diferentes hongos entomopatógenos

4.5.3 Concentración letal media y noventa (CL_{50} y CL_{90}) del aislamiento nativo CIAT 215 sobre adultos de *A. socialis*.

Como resultado se obtuvo que la mortalidad en el testigo fue del 15 % y se observa que a mayor concentración del hongo hay una mayor mortalidad de los adultos de *A. socialis* (Figura 19). Sin embargo los datos de mortalidad obtenidos en la mayoría de las repeticiones ocurrió el día siguiente a la aplicación y no fue progresiva a través del tiempo como es lo esperado con los hongos entomopatógenos, además en ninguna de las repeticiones se observó el crecimiento del hongo sobre los adultos, como ocurrió con las aplicaciones anteriores cuando la humedad fue superior al 80%, es posible que esto se deba a que la humedad relativa en el cuarto de cría fue muy baja (40-60%)

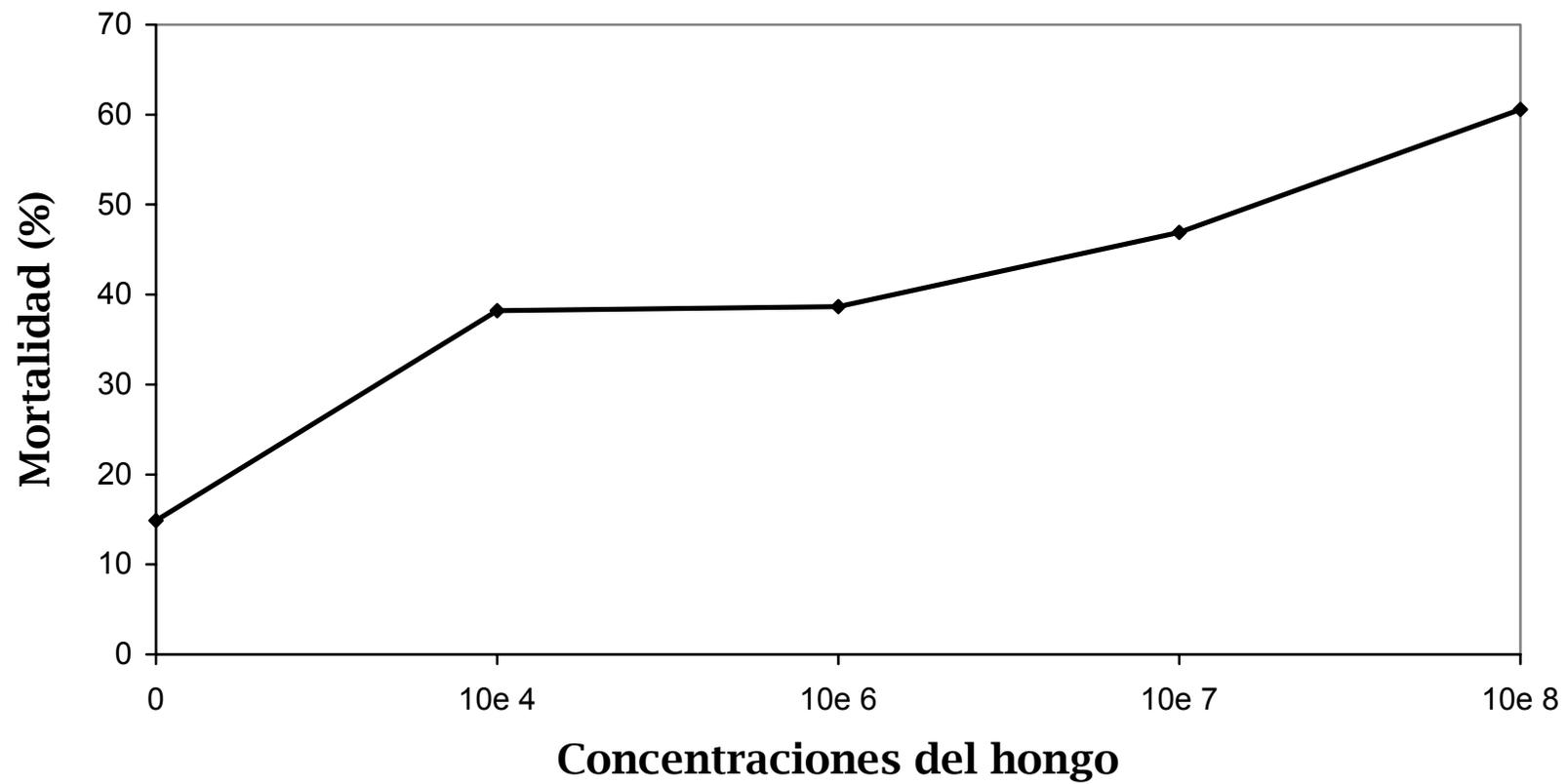


Figura 19. Mortalidad de *A. socialis* a la aplicación del aislamiento CIAT 215 *Verticillium lecanii* en varias concentraciones

CONCLUSIONES

- El aislamiento CIAT 215 de *Verticillium lecanii* fué seleccionado como el aislamiento más promisorio para el control de *A. socialis* por presentar los niveles mayores de infección sobre los diferentes estados de desarrollo del insecto bajo condiciones de invernadero.
- El estado de desarrollo de *A. socialis* más susceptible a los hongos entomopatógenos es el de huevos próximos a eclosionar, esto favorece el manejo del insecto pues se reflejaría en un menor consumo de la savia elaborada y la disminución de pérdidas en rendimiento.
- El aislamiento CIAT 215 de *V. lecanii* alcanza su CL_{50} a una concentración de 1.4×10^7 conidios/ml y su CL_{90} a una concentración de 2.3×10^{12} conidios/ml.
- Los parámetros de control de calidad evaluados indican que las formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos existentes en el mercado nacional no cumplen con los requerimientos mínimos exigidos por el ICA.
- Los hongos entomopatógenos formulados para otras especies de mosca blanca evaluados sobre huevos próximos a eclosionar de *A. socialis* no presentaron un buen control del insecto plaga ya que ningún producto produjo una mortalidad superior al 50%.

RECOMENDACIONES

- Evaluar sobre *A. socialis* otras especies de hongos entomopatógenos promisorias como *Aschersonia aleyrodis* que ha sido reportado parasitando diferentes homopteros entre ellos varias especies de mosca blanca.
- Continuar con las evaluaciones de control de calidad y patogenicidad de otros productos formulados sobre *A. socialis* con el fin de determinar la dosis adecuada para esta especie de mosca blanca.
- Seleccionar el mejor producto comercial formulado a nivel de invernadero para luego ser aplicado en campo.

BIBLIOGRAFIA

AINSWORTH, G. 1973. Introduction and keys to higher taxa. In: "The Fungi: An Advanced Treatise". AINSWORTH, G.; SPARROW, F. and Sussman, A. Academic Press, New York. (IVA): 1-7

ALARCON, F.; DUFOUR, D. 2002. Almidón agrio de Yuca en Colombia. En: La yuca en el Tercer Milenio : Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Compilación y dirección: Bernardo Ospina, Hernán Ceballos. CLAYUCA. Cali Colombia. pg 470-502

ANDERSON, P. Tropical Whitefly IPM Project. [en línea]. Taxonomic Keyword List/Natural enemies. Tropical Whitefly IPM Project. 2002. [diciembre 12 2002].
<<http://www.tropicalwhiteflyipmproject.cgiar.org/wf/project-keywords-taxonomy.jsp#na>>.

ARIAS, B. 1995. Estudio sobre el comportamiento de la "Mosca blanca" *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera Aleyrodidae) en diferentes genotipos de yuca *Manihot Esculenta* Crantz. *Tesis maestría*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Palmira, Colombia. 166 p.

BARNETT, H.; HUNTER, H. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. MacMillan Publ. Co., New York. 218 p.

BELLOTTI, A. 2002. Arthropod Pests. In: Cassava Biology, production and utilization. Hillocks, R.; Thresh, J.; Bellotti, A. CABI Publishing. London. United Kingdom. pp. 209-235.

BELLOTTI, A.; ARIAS, B.; VARGAS, O.; REYES, J.; GUERRERO, J. 2002. Insectos y Acaros dañinos a la yuca y su control. En: La yuca en el Tercer Milenio : Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Compilación y dirección: Bernardo Ospina, Hernán Ceballos. CLAYUCA. Cali Colombia. pg 160-203.

BELLOTTI, A.; VARGAS, O. 1986. Mosca blanca del cultivo de yuca: biología y control; unidad audiotutorial. CIAT. Cali Colombia 40 p.

BERLINGER, M. 1980. A yellow sticky trap for whiteflies: *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*. (27): 98-102

BORROR, D.; TRIPLEHORN, C.; JOHNSON, N. 1992. An Introduction to the study of insects. Harcourt Brace College Publishers. Philadelphia, (USA) 875 p.

BYRNE, D.; BELLOWS. T. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology*. pp. 431-457.

BYRNE, D.; BELLOWS. T.; PARRELLA, M. 1990. Whiteflies in agricultural systems. En: *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. D. Gerling (Ed) pp. 227-262.

BUSTILLO, A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: *seminario Uso de entomopatógenos en Colombia*. Sociedad Colombiana de entomología. Bogotá. pg. 30-53

CABALLERO, R. 1992. Whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) from Central America and Colombia including slide-mounted pupal and field keys for identification, natural enemies, and economic importance. *Tesis maestría*. Kansas State University. Manhattan. USA. 200 p.

CALVERT, L.; CUERVO, M.; PINEDA, B. 2001. Cuero de Sapo. Una enfermedad que ataca la yuca. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali Colombia. Plegable divulgativo.

CASTILLO, J. 1996. Moscas blancas (Homoptera Aleyrodidae) y sus enemigos naturales sobre cultivos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en Colombia. *Tesis maestría*, Universidad del Valle, Cali, Colombia. 174 p.

CEBALLOS, H. 2002. La yuca en Colombia y el Mundo: Nuevas perspectivas para un cultivo milenario. En *La yuca en el tercer milenio: Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento, Utilización y Comercialización*. Compilación y dirección: Bernardo Ospina, Hernán Ceballos. CLAYUCA. Cali Colombia. pg. 1-13

CHARNLEY, A. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. In: Invertebrate-microbial Interactions. **ANDERSON, J.;** **RAYNER, A.** and **WALTON, D.** Cambridge University Press. Cambridge. pp 229-270.

CIAT 2000, 2001. Annual Report, PROJECT-PE 1. Integrated pest and disease management in major agroecosystems. CIAT. Cali Colombia 190 p.

COCK, J. 1989 La yuca, un nuevo potencial para un cultivo tradicional, CIAT. Cali. Colombia. 240p.

EVANS, G.; **CASTILLO J.** 1998. Parasites of *Aleurotrachelus socialis* (Homoptera: Aleyrodidae) from Colombia including descriptions of two species (Hymenoptera: Aphelinidae: Platygasteridae). Florida Entomologist (USA). 81 (2): 171-178

FAO Y FIDA. 2000. La Economía Mundial de la yuca, Hechos, Tendencias y Perspectivas. Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola. Roma. Italia. 59 p.

FARGUES, J. 1976. "Spécificité des champignons entomopathogènes imparfaits (Hyphomycètes) pour les larves de coléoptères (Scarabaeidae et Chrysomelidae)." Entomophaga. (21) : 313-323 .

FARIAS, A. 1994. Flutuação populacional de *Aleurothrixus aepim* em mandioca, em Sao Miguel das Matas, Bahia. Revista Brasileira de Mandioca (Brasil) 13(2):119-122

FERRON, P. 1981. Pest Control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burges, H. ed. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. p.465-482. Academic Press, New York, 949 p.

FERRON, P. 1978. Biological control of insect pest by entomopathogenous fungi. In: Annual review of entomology (United States). (23): 409-442

FERRON, P.; **ROBERT, P.;** **DEOTTE, A.** 1975. Susceptibility of *Oryctes rhinoceros* adults to *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology. (25): 335-356

FERRON, P.; HURPIN, B.; ROBERT, P. 1972. "Sur la spécificité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin." *Entomophaga*. 17 : 165-178 .

FRANSEN, J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. In: *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. D. Gerling (Ed.) pp. 187-205.

GARCIA J. 1996. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Tesis pregrado*, Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá. 121 p.

GILLESPIE, A. 1988. Use of fungi to control pest of agricultural importance. In: Burge, M. (Ed) *Fungi in biological control systems*. Manchester University Press, Manchester, England. 269 p.

GOLD, C.; ALTIERI, M.; BELLOTTI, A. 1990. Direct and residual effects of short duration intercrops on the cassava whiteflies *Aleurotrachelus socialis* and *Trialeurodes variabilis* (Homoptera: Aleyrodidae) in Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment* (32): 57-67

HAYEK, A.; Leger, R. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. In: *Annual Review of Entomology United States*. (39): 293-322

HENRY, G.; HERSHEY, C. 2002. Cassava in South America and the Caribbean. In: *Cassava Biology, production and utilization*. Hillocks, R.; Thresh, J.; Bellotti, A. CABI Publishing. London. United Kingdom . pp. 17-40

HERNANDEZ, P. 2002. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Entomología de Yuca. *Comunicación personal*.

HERRERA, J. Welcome to Herrera's Microfungi Home Page. [**en línea**] División of Science. Truman State University. Kirksville. Abr 2001. [citado marzo, 2003].
<http://www2.truman.edu/~jherrera/Anamorphic_fungi/genera.html>

HOLGUIN, C.; BELLOTTI, A. 2002. Efecto de la aplicación de insecticidas químicos en el control de la mosca blanca *Aleurotrachelus socialis* Bondar en el cultivo de yuca *Manihot esculenta* Crantz. Resúmenes XXIX Sociedad Colombiana de Entomología. P 79. Montería, Julio 17 - 19.

KOUASSI, M. Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. [en línea] Vertigo - La revue en sciences de l'environnement sur le WEB, Vol 2 No 2 , Octobre 2001. [citado marzo, 2003].
<http://www.vertigo.uqam.ca/vol2no2/art3vol2n2/mathias_de_kouassi.html>

LACEY, L. 1997. Manual of techniques in insect pathology. London (United Kingdom) : Academic. 409 p.

LANDA, Z.; OSBORNE, L.; LOPEZ, F.; EYAL, J. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomopatogenous fungi on whiteflies. Biological Control. 4(4): 341-350

LANDA, Z.; OSBORNE, L. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomologist 75(1): 456-471

LEIHNER, D. 1983. Management and evaluation of intercropping systems with cassava. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 70 p.

LOPEZ-AVILA, A.; CARDONA, C.; GARCIA, J.; RENDON, F.; HERNANDEZ, P. 2001. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. Revista Colombiana de Entomología. 27(3-4):137-141

MALLOCH, D. MOULDS: Isolation, cultivation, identification. [en línea] Department of Botany, University of Toronto. 1997 [citado marzo, 2003].
<<http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Moulds.html>>

MONZON, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. (63): 95-103

MORALES, A.; CARDONA, C. 1996. Evaluación de diferentes hongos entomopatógenos sobre las moscas blancas *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*. Informe final Convenio CIAT - AgrEvo S.A. CIAT. Palmira. Colombia. 37 p.

MOUND, L.; HALSEY, S. 1978. Whitefly of the world. a systematic catalogue of the aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History) and Wiley. Chichester. England. 340 p.

OFICINA CUBANA DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL. Medio de cultivo para la preservación de virulencia en cepas de hongos entomopatógenos. Instituto Cubano de Investigaciones Azucareras. [en línea]. La Habana Cuba. Certificado de Autor de Invención. < <http://www.ocpi.cu/doc/1989/t11186.PDF>>

OSBORNE, L.; STOREY, G.; McCOY, C.; WALTER, J. 1990. Potential for controlling the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* with the fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control (5, 1990, Adelaide, Australia). Proceedings and Abstracts. 386 p.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. 1997. Microbiología. Cuarta Edición. Mexico: Mc Graw Hill.. 826 p.

SAMSON, R.; EVANS, H.; Latgé, J. 1988. "Atlas of Entomopathogenic Fungi". Springer-Verlag, Berlin. 300 p.

SAMSON, R. ; ROMBACH, M. 1985. Biology of the fungi *Verticillium lecanii* and *Aschersonia*. In : Biological pest control. The glasshouse experience. Blanford Press. England. (2) : 34-42

SANCHEZ, D. ; BELLOTTI, A. 1997. Evaluación de la patogenicidad de hongos Hyphomycetes sobre la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis*. Informe final Convenio Cooperativo CIAT - COLCIENCIAS. CIAT Palmira. Colombia. 21 p.

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

TOBON, R. 2002. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Bioecología y MIP del salivazo. *Comunicación personal*.

VARGAS, H.; BOLIVAR, L.; ARIAS, B.; BELLOTTI, A. 2002. Nataima-31: Variedad de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) resistente a mosca blanca (*Aleurotrachelus socialis* Bondar) para el Valle Cálido del Alto Magdalena. Centro Internacional d Agricultura Tropical (CIAT), Cali Colombia, Corporación Colombiana de Investigación Agraria (CORPOICA), Bogotá, Colombia; Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá, Colombia. Plegable divulgativo.

VALIELA, M. 1979. Introducción a la fitopatología. Instituto Nacional Tecnológico Agropecuario. Buenos Aires (Argentina). Colección Científica. Tomo VII. Vol 4.

VÉLEZ, P. ; POSADA, F. ; MARIN, P. ; GONZALEZ, M. ; OSORIO, E. ; BUSTILLO, A. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café Pedro Uribe Mejía. CENICAFE. Chinchiná, Caldas (Colombia). 37 p.

VOLCY, C.; PARDO, V. 1994. Principios de Micología. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 141 p.

USDA. The United States Department of Agriculture. Whitefly web page [**en línea**] The Systematic Entomology Laboratory. Beltsville Agricultural Research Center. Last updated: 5 de Julio de 2001. <<http://www.sel.barc.usda.gov/whitefly/wfframe.htm>>

University of Toronto, Moulds Isolation, Cultivation, Identification. [**en línea**]. Department of Botany, David Malloch, [Toronto] 1997. <http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/ID_Plate_II.HTML>