

# ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE MOSCA BLANCA MEDIANTE EL USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN CANARIAS

**A. PADILLA<sup>1</sup>, M. MARTÍN<sup>1</sup>, E. HERNÁNDEZ-SUÁREZ<sup>1</sup>, L. ASENSIO<sup>2</sup>, C. FERNÁNDEZ<sup>3</sup>, S. AMADOR<sup>1</sup>, A. CARNERO<sup>1</sup> y L. LÓPEZ-LLORCA<sup>2</sup>**

1. Dpto. de Protección de los Vegetales, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, apdo. 60, E-38200 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España.
2. Dpto. De Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, Universidad de Alicante, Apdo. 99, E-03080 Alicante, España.
3. Dpto. I+D FuturEco S. L. Barcelona, España

## INTRODUCCIÓN

La situación ocasionada en Canarias por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) sobre diferentes cultivos hortícolas al aire libre y bajo invernadero es preocupante, sobre todo por su capacidad de transmitir virus y su resistencia a los fitosanitarios (Hernández-Suárez y Carnero Hernández, 2000). Según las valoraciones de FEDEX (Federación de Exportadores Hortofrutícolas de Las Palmas), la caída de la producción de tomate de exportación de 83 millones de kilos, para Gran Canaria, mientras que en Tenerife, las estimaciones confirman que la producción ha caído en 42 millones de kilos por la influencia principalmente del complejo de virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV y TYLCSV) transmitidos por *B. tabaci* y de otras enfermedades del tomate (Prieto, 2002).

En los últimos años se ha elaborado un catálogo de las especies de mosca blanca y sus enemigos naturales presentes en el archipiélago canario (Hernández-Suárez, 1999). Aunque se le ha dado un mayor énfasis a la recolección de parasitoides y depredadores, también se han estudiado aquellas poblaciones de mosca blanca con síntomas de estar infectadas por hongos entomopatógenos.

Paralelamente se viene desarrollando un estudio de agentes de control biológico en la provincia de Santa Cruz de Tenerife, del cual se han obtenido aislados de diversos géneros de hongos entomopatógenos.

Hasta el momento, la labor desarrollada con respecto al control biológico de *B. tabaci* mediante hongos entomopatógenos, se ha centrado en la caracterización de estos hongos y ensayos preliminares en laboratorio para conocer su patogenicidad sobre ninfas N<sub>4</sub> de esta especie. Conjuntamente, y con el fin de conocer las posibilidades reales de utilizar este tipo de productos, en las condiciones particulares de las islas, se han realizado dos ensayos en campo para probar la eficacia de un formulado en fase de registro y varios productos comerciales, ambos de origen fúngico. La finalidad de la prueba es doble: comprobar que, en estas condiciones, este tipo de organismos ejerce un control sobre la plaga en cuestión, y para ofrecer una alternativa al sector hortícola, mientras se desarrollan propuestas basadas en organismos autóctonos.

## ENSAYO CON AISLADOS AUTÓCTONOS

Los hongos entomopatógenos aislados proceden de muestras de mosca blanca obtenidas sobre flora silvestre (monteverde canario) recolectadas en una misma localidad, Anaga (Tenerife), y dentro de ésta en

tres puntos de muestreo diferentes y sobre cultivos de plátano y tomate en distintas localidades de la isla (Guimar, Puerto de la Cruz y Punta del Hidalgo) (Tabla 1). También se han aislado de muestras de suelos procedentes de terrenos cultivados y ambientes naturales.

Mosca blanca	Aislado
<i>Bemisia afer sens. Lat</i> (Priesner & Hosney)	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) Gams [= <i>Verticillium lecanii</i> ]
<i>Bemisia medinae</i> Gómez-Menor	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) Gams
<i>Aleyrodes</i> sp. nov.	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.
<i>Bemisia tabaci</i>	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.
<i>Aleurodicus dispersus</i> Rusell (1965)	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.

Tabla 1: Resumen de aislados obtenidos sobre diferentes especies de mosca blanca

Además de los aislados de *L. lecanii* (Zare y Gams, 2001) obtenidos sobre mosca blanca, se están estudiando otros aislados, como *Paecilomyces* sp. (P-58) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor (Tf-43), obtenidos de muestras de suelo mediante trampa de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758). Los aislados utilizados en este ensayo se conservan en la micoteca del Dpto. de Protección Vegetal del I.C.I.A. (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias).

No se han estudiado los aislados de *Cladosporium herbarum* por no estar clara su capacidad entomopatógena (Fransen 1990).

Estudiado el efecto que la temperatura ejerce sobre estos hongos, durante 25 días, sobre CMA en oscuridad, encontramos que para *L. lecanii* (VH) la temperatura óptima es de 20° C, mientras que para *Paecilomyces* sp. (P-58) y *M. anisopliae* es de 25 ° C. A 4° C el aislado de *L. lecanii* (VH) mostró crecimiento radial, mientras que el resto de los aislados no, sin embargo a 40° C, el crecimiento fue nulo para todos los aislados y además esta temperatura resultó letal para todos ellos, ya que después de someterlos a esta temperatura no se registró crecimiento al pasarlos a 25° C.

Para estimar la patogenicidad de los aislados se realizó el siguiente bioensayo en placa De Petri, en el que se utilizaron ninfas N<sub>4</sub> de *B. tabaci* de cría sobre planta de tomate var. Daniela. Se prepararon cámaras húmedas con círculos de papel de filtro y agua destilada, con portaobjetos estériles en su interior (Landa *et al.*, 1994), sobre los cuales se depositaban 10 gotas de 3µl que contenían una suspensión de 10<sup>5</sup> conidios/ml de cada uno de los aislados mencionados anteriormente. Las gotas se dejaban secar ligeramente y sobre éstas se depositaban las ninfas. Las placas se sellaban y se incuban en cámaras en oscuridad a 20, 25 y 30° C.

Se registró la mortalidad de las ninfas a diferentes tiempos después de la aplicación de los tratamientos, el porcentaje de eficacia mediante la fórmula de Scheneider-Orelli y el tiempo letal medio (LT<sub>50</sub>) fue evaluado mediante la fórmula de Biever y Hostetter (1971):

## Resultados y discusión

La eficacia de los diferentes aislados fue en todos los casos superior al 75% llegando a ser del 100%, como ocurrió con el aislado *Paecilomyces* sp. (P-58) a 20° C. El tiempo letal medio (LT<sub>50</sub>) de los aislados fue similar para todos los hongos evaluados, mostrando *L. lecanii* a 25° C el valor más bajo (2.63) y *M. anisopliae* a 20° C el valor más alto (2.98) (tabla 2).

T <sup>a</sup>	Tratamiento	% medio de mortalidad acumulada ± DS					LT <sub>50</sub>	%Eficacia*
		Horas desde el tratamiento						
		24h	48h	72h	96h	168h		
20° C	P-58	0	0	70±12.25	98±4.47	100±0	2.73	100
	Tf-43	0	0	52±10.95	86±5.48	98±4.47	2.98	97.77
	VH	0	0	72±17.89	84±20.74	92±13.04	2.7	91
	Control	0	0	0	6±8.94	8±8.37	-	-
25° C	P-58	0	0	72±8.4	86±8.94	90±10	2.7	89.3
	Tf-43	0	20±14.14	54±18.17	70±10	80±10	2.91	77.16
	VH	4±8.94	12±13.04	74±16.73	80±12.25	92±8.37	2.63	91.2
	Control	0	2±4.47	2±4.47	10±7.07	10±7.07	-	-
30° C	P-58	0	2±4.47	76±18.17	84±15.17	94±5.48	2.68	94
	Tf-43	0	2±4.47	78±14.83	82±14.83	92±4.47	2.65	91.77
	VH	0	2±4.47	58±17.89	82±8.37	88±8.37	2.93	87.55
	Control	0	0	2±4.47	2±4.47	2±4.47	-	-

Tabla 2. Porcentaje medio de mortalidad acumulada de N<sub>4</sub> para los diferentes tratamientos y temperaturas. LT<sub>50</sub> (tiempo letal medio) producido y el porcentaje medio de eficacia

T<sup>a</sup>: Temperatura

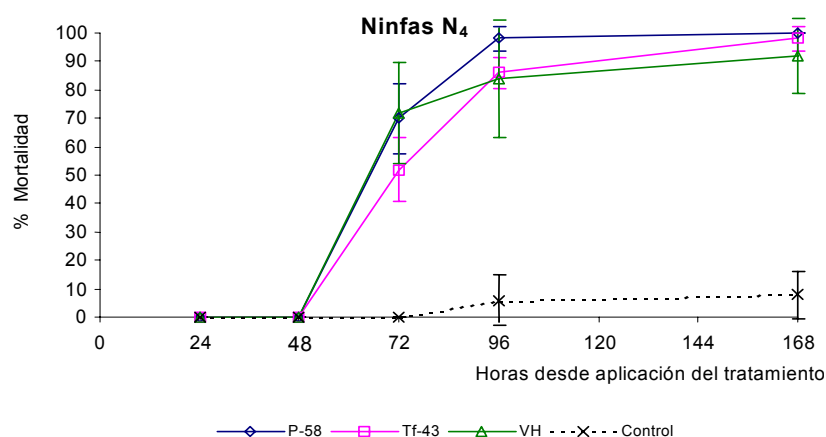
DS: Desviación estándar

LT<sub>50</sub>: Tiempo letal medio

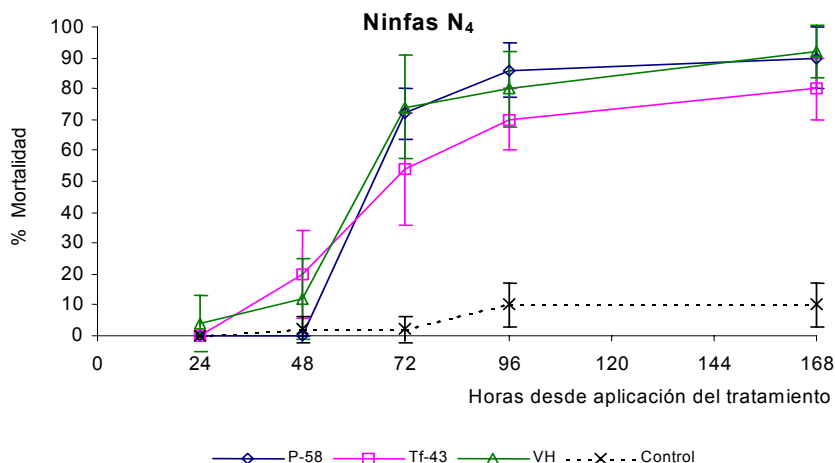
\* Porcentaje medio de eficacia final a las 168 horas desde la aplicación del tratamiento

El tiempo letal medio (LT<sub>50</sub>) correspondiente al aislado de *L. lecanii* es mayor a 30° C, mientras que para los aislados de *Paecilomyces* sp. y *M. anisopliae* disminuye según aumenta la temperatura, resultados que concuerdan con el óptimo de temperatura obtenido para cada uno de ellos.

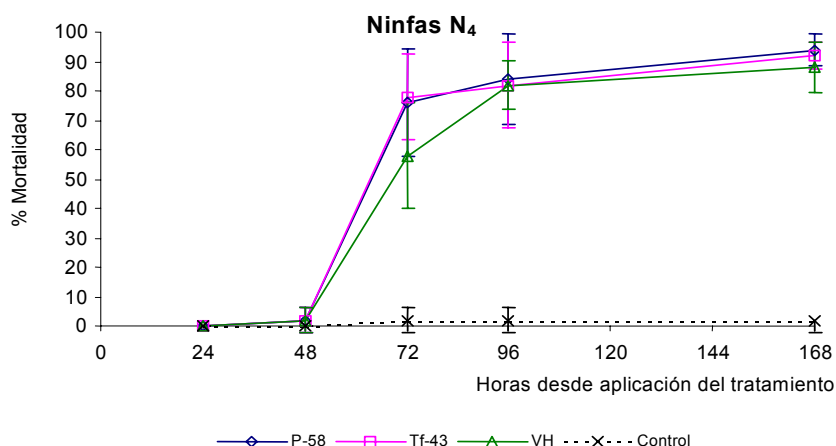
Representando los datos, no se observan importantes diferencias entre los distintos aislados estudiados a las diferentes temperaturas, salvo que a 25° C el efecto de algunos de los aislados ensayados se manifiesta desde las 24 horas después del tratamiento (Gráfica 1, 2, 3).



Gráfica 1: Porcentaje medio de mortalidad acumulada en los diferentes tiempos de observación, sobre el estadio N<sub>4</sub> de *B. tabaci* a 20° C con sus respectivos ES



Gráfica 2: Porcentaje medio de mortalidad acumulada en los diferentes tiempos de observación, sobre el estadio N<sub>4</sub> de *B. tabaci* a 25° C con sus respectivos ES



Gráfica n°-3: Porcentaje medio de mortalidad acumulada en los diferentes tiempos de observación, sobre el estadio N<sub>4</sub> de *B. tabaci* a 30°C con sus respectivos ES

### Ensayo preliminar en campo con productos comerciales

Con el objetivo de conocer la capacidad de control de *B. tabaci* en las condiciones registradas en campo se llevó a cabo el siguiente ensayo, en un invernadero de malla tipo canario, con tomate *var. Daniela*, ubicado en Las Galletas, en el sur de la isla.

Las plantas del invernadero presentaban infección por el virus de la hoja en cuchara del tomate (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) y el tipo de control que se aplicaba era químico.

Se establecieron parcelas que se subdividían en cuatro bloques, correspondientes a cada uno de los tratamientos. Se desecharon las filas que se encontraban en el perímetro de cada bloque, con el fin de que no existieran interacciones entre los tratamientos.

Se realizó un primer recuento previo al primer tratamiento, con el objetivo de conocer el nivel de población de *B. tabaci*. El resto de los recuentos se realizó semanalmente.

Los tratamientos aplicados, por la tarde, fueron los siguientes:

- MYCOTAL® (Koppert) formulado a base de *L. lecanii*

- NATURALIS-L® (Agrichem) formulado a base de *Beauveria bassiana*
- TESTIGO (sólo con agua).
- INSECTICIDA ESTÁNDAR (este tratamiento se basaba en una mezcla de productos utilizada normalmente por el agricultor).

Se seleccionaron 8 plantas de cada bloque, y se contabilizó el número de adultos/hoja del estrato medio superior, además se recogió un foliolo de la zona basal, en él que se contabilizaba en laboratorio el número de ninfas N<sub>4</sub> muertas, y en éstas se confirmaba la presencia del hongo aplicado.

Los datos climatológicos registrados, temperatura y humedad relativa, se corresponde con la duración del ensayo.

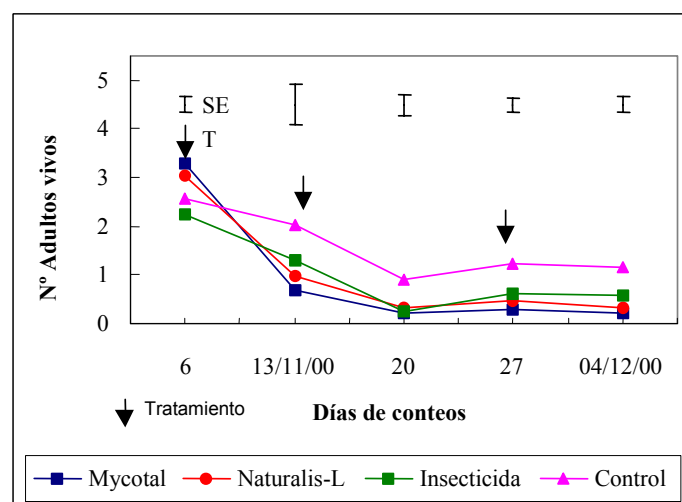
## Resultados y discusión

En la gráfica 4 se representa la evolución de la población de adultos/hoja. Para el control, la media de individuos en cada conteo está por encima de los restantes tratamientos. En los dos últimos recuentos se observa que la población se mantiene relativamente constante para los cuatro tratamientos (Tabla 3), presentando los valores más bajos el tratamiento Mycotal®.

Tratamiento	Media de adultos ± ES				
	C1	C2	C3	C4	C5
Mycotal®	3.31±0.4	0.68±0.21	0.22±0.17	0.28±0.14	0.21±0.17
Naturalis-L®	3±0.4	0.96±0.21	0.34±0.17	0.47±0.14	0.34±0.17
Insecticida	2.25±0.4	1.31±0.21	0.25±0.17	0.62±0.14	0.6±0.17
Control	2.56±0.4	2±0.21	0.9±0.17	1.21±0.14	1.15±0.17

ES: Error estándar

Tabla 3: Nivel medio de adultos/ hoja de *B. tabaci*



Gráfica 4: Nivel medio de adultos/hoja en los diferentes recuentos con sus respectivos ES

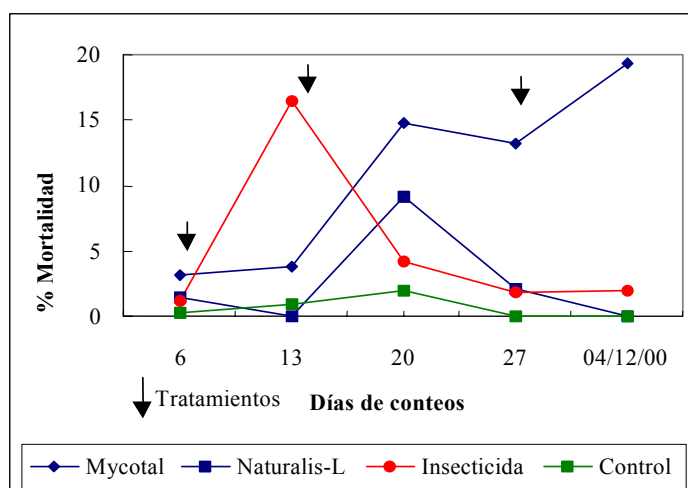
En la siguiente tabla 4 y gráfica 5 se representa el porcentaje medio de ninfas N<sub>4</sub> por foliolo a lo largo del ensayo.

Observando la acción del producto Mycotal® sobre las ninfas de *B. tabaci* se aprecia que después de las aplicaciones la mortalidad de ninfas aumenta hasta llegar al 19.3% en el último recuento. Con el producto comercial Naturalis-L®, se aprecia un aumento de mortalidad del 9.2% después de haber

aplicado el segundo tratamiento y finalmente desciende. El tratamiento químico presenta una alta mortalidad en el segundo recuento, sin embargo al final del ensayo ésta ha disminuido siendo similar al control.

Tratamiento	% medio de mortalidad de ninfas				
	C1	C2	C3	C4	C5
Mycotal®	3.1	3.8	14.7	13.2	19.3
Naturalis-L®	1.4	0	9.2	2.1	0
Insecticida	1.2	16.4	4.2	1.9	2
Control	0.3	0.9	2	0	0

Tabla 4: Porcentaje medio de mortalidad de ninfas N<sub>4</sub> de *B. tabaci* por foliolo



Gráfica 5: Porcentaje de mortalidad de ninfas/foliolo de *B. tabaci* en los diferentes recuentos

Evaluando los tratamientos en conjunto, se puede considerar que el tratamiento que muestra mayor mortalidad, siempre teniendo en cuenta que la mortalidad de ninfas en campo no fue elevada en ningún caso, fue Mycotal.

La temperatura media registrada a lo largo del ensayo fue de 19.3° C, con una mínima de 14.5° C y una máxima 21.1° C. La humedad relativa media fue de 63.9%, la máxima de 95.1 y la mínima de 58.4%. Estos rangos de temperatura y humedad no representan condiciones extremas para el desarrollo de los hongos aplicados.

### Ensayo de campo con formulado en fase de registro

En colaboración con la empresa FuturEco se ha llevado a cabo un ensayo en campo con un formulado desarrollado por dicha empresa a base de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith, que se encuentra actualmente en fase experimental.

Un invernadero de malla tipo canario, se dividió en 9 parcelas; entre ellas se colocaron barreras físicas (malla antitrips) para dificultar el vuelo de los adultos. De un total de 24 plantas/parcela, se utilizaron las 8 centrales para evaluar el ensayo, en ellas se contaba el número de adultos de *Bemisia tabaci* de tres folíolos de hojas bien desarrolladas, de la parte media-alta. Se llevaban al laboratorio 8 folíolos, cogidos al azar de la parte media-baja de la planta, para observar el número de los últimos estadios ninfales y el estado de las mismas, sobre discos de hoja de 2,98 cm<sup>2</sup>.

La introducción de *B. tabaci* fue artificial, realizando sueltas semanales sobre tomate var. Boludo, tolerante al virus TYLCV.

El ensayo consistía en evaluar tres tratamientos:

- Tratamiento biológico (TB): aplicación de blastosporas (*Paecilomyces fumosoroseus*). La dosis fue de 200.000 blastosporas/cm<sup>2</sup> de hoja.
- Tratamiento químico (TQ): aplicación de un insecticida cuya materia activa es piriproxifen (Atominal®10 EC, C.Q. Massó). La dosis empleada fue 75 cc/hl.
- Tratamiento control (TC): sin aplicación.

El primer tratamiento se aplicó cuando en el primer recuento se registró una densidad media de población de 24 adultos/fofolio. Se hizo un segundo tratamiento a los 7 días y el tercero a los 17 días desde el primer tratamiento.

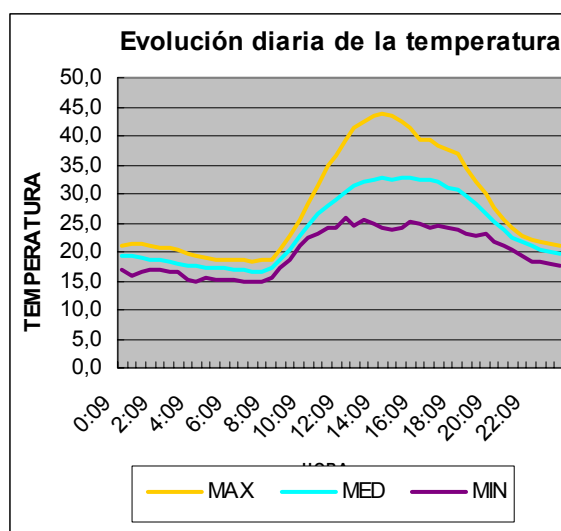
Las aplicaciones se realizaron por la tarde, con un pulverizador manual, con un volumen de agua suficiente para cubrir la superficie de la planta, previo cálculo de la superficie foliar del cultivo (Astegiano, 2001). Se daba un riego previo a los tratamientos.

El primer recuento fue previo al primer tratamiento para conocer los niveles de la población de partida; el segundo fue antes de la aplicación del segundo tratamiento, el tercero antes del tercer tratamiento, y un cuarto a los 5 días después del tercer tratamiento, dándose entonces por concluido el ensayo.

Los datos de temperatura y humedad relativa se registraron, diariamente cada 30 minutos, durante el periodo en que se realizaron los tratamientos, usando un sensor tipo HOB0-H8.

## Resultados y discusión

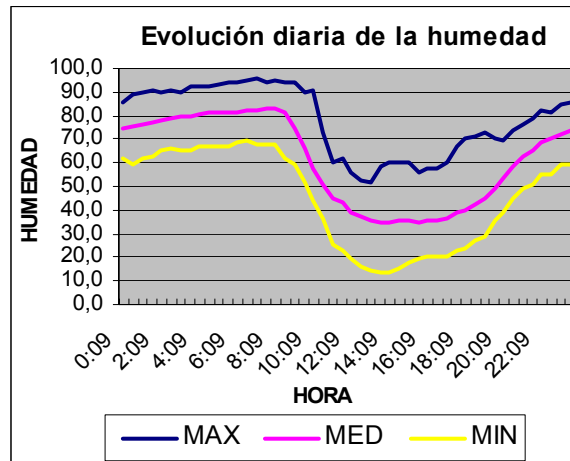
Los datos de temperatura y humedad registrados a lo largo del ensayo son representados en las gráficas 6 y 7.



Gráfica 6: Evolución media diaria de la temperatura a lo largo del ensayo

Podemos observar que durante un determinado periodo, entre las 12 y las 19 horas, la temperatura máxima registrada es superior a los 33° C, llegando a superar, ocasionalmente los 40° C. Entre las 12 y las 20 horas se registra una temperatura media de 27-33° C, mientras que la mínima en el

mismo periodo es de 22 a 25° C. Durante la noche las temperaturas son más suaves, encontrándose entre los 15 y 23° C.



Gráfica 7: Evolución media diaria de la humedad relativa a lo largo del ensayo

Con respecto a la humedad, entre las 12 y las 18 horas observamos una humedad máxima que oscila entre el 50-60%, una humedad media entre 35-50% desde las 12 hasta las 20 horas, y la mínima que varía entre 15-33% en el mismo periodo. Entre las 00 y las 10 horas la humedad relativa registrada es superior al 60%, alcanzando valores máximos del 95%, con una media del 80%.

Podemos observar que durante un periodo importante del día (14 horas) se registran datos de temperatura que varían entre los 15-25° C y la humedad relativa (10 Horas) está por encima del 60%, periodo que coincide con la tarde-noche, mientras que en el resto del día se pueden registrar valores extremos de temperatura y humedad para el desarrollo de estos hongos.

Como se observa en la gráfica 8, en el último recuento los tres tratamientos son significativamente diferentes, el tratamiento control presenta la población más elevada, mientras que el tratamiento biológico mantiene un nivel intermedio y el tratamiento químico comienza a aumentar después de haber alcanzado niveles inferiores en recuentos anteriores.

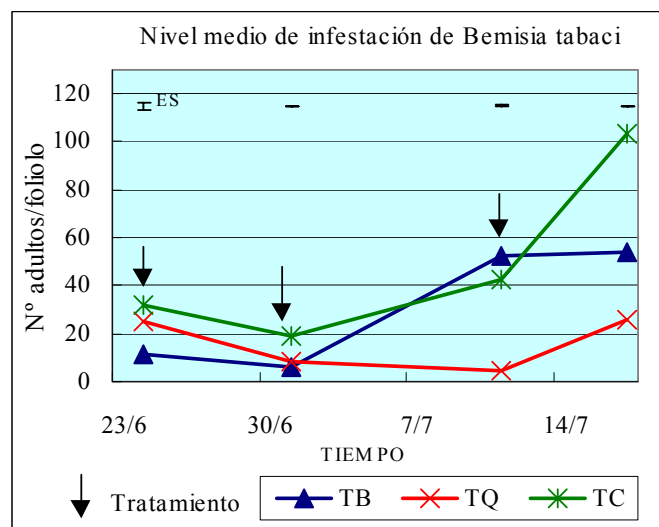


Gráfico 8: Nivel medio de adultos/foliolo de *B. tabaci* a lo largo del ensayo y su respectivo ES



Respecto al material traído al laboratorio, observamos que los valores medios de ninfas/2,98 cm<sup>2</sup> de hoja, en el último recuento el tratamiento control es significativamente diferente de los demás, presentando los valores más altos de infestación, sin embargo el tratamiento químico y el biológico no presentan diferencias significativas y la población de ninfas tiende a disminuir (Gráfica 9). Sobre las ninfas del tratamiento biológico se podía observar el hongo aplicado (Foto 1).

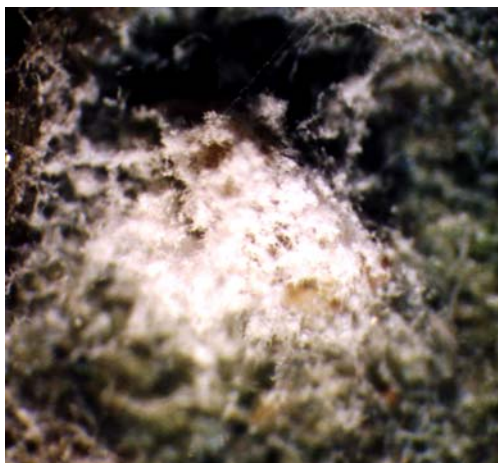
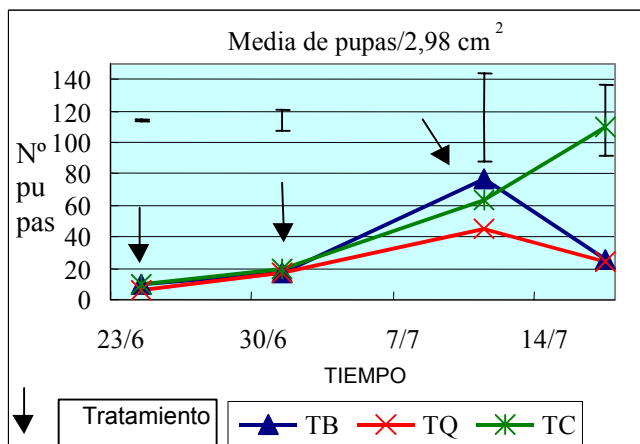


Foto 1: Ninfa N<sub>4</sub> de *B. tabaci* cubierta por *Paecilomyces fumosoroseus*



Gráfica 9: Nivel medio de ninfas/2,98 cm<sup>2</sup> de hoja y su respectivo ES

Se registró parasitismo de forma natural por el parasitoide *Encarsia sophia* (Timberlake, 1926) en todas las parcelas (Foto 2) y de forma puntual por *Eretmocerus mundus* Mercet. No se encontraron diferencias significativas para el % de parasitismo por *E. sophia* entre los tratamientos. Sin embargo, analizando el porcentaje de estas ninfas parasitadas emergidas, sí que mostraron diferencias a lo largo del ensayo, en el cuarto recuento el tratamiento biológico y el control muestran valores similares y superiores al tratamiento químico, lo que podría indicar un efecto negativo de este tratamiento sobre el parasitoide.



Foto 2: Orificio de emergencia del parasitoide *Encarsia sophia* sobre Ninfa N<sub>4</sub> de *B. tabaci*

## CONCLUSIONES

El ensayo en laboratorio muestra la eficacia que los aislados de *L. lecanii*, *Paecilomyces* sp. y *M. anisopliae* ejercen sobre ninfas N<sub>4</sub> de *Bemisia tabaci*, que en todos los casos es superior al 75%.

Dadas las condiciones ambientales que se registraron en campo para el primer ensayo y los bajos niveles de población encontrados, podemos concluir que es posible el control de la plaga con el producto MYCOTAL®, aunque se manifiesta de forma más lenta que el tratamiento químico, que parece mostrar un efecto más rápido, pero menos permanente en el tiempo.

Respecto al ensayo con el formulado en fase experimental, el comportamiento registrado es similar al ensayo anterior, ya que tanto sobre el nivel de adultos/foliolo como sobre el nivel de pupas/2,98 cm<sup>2</sup> encontramos que el tratamiento biológico actúa más lentamente, mientras que el tratamiento químico actúa más rápidamente, pero su control es más permanente en el tiempo.

Teniendo en cuenta el porcentaje de parasitismo por *Encarsia sophia* y la emergencia de este parasitoide en las parcelas tratadas con el producto fúngico, podríamos profundizar en los ensayos, teniendo en cuenta la interacción de ambos como estrategia de control biológico de *B. tabaci*, partiendo de niveles de población menores a los registrados para este ensayo.

La temperatura y humedad relativa registradas a lo largo del último ensayo, alcanzan durante un número de horas, que van desde el anochecer hasta el amanecer, valores favorables para el desarrollo de los hongos, aunque en el resto del día llegan a obtenerse valores que son extremos para el desarrollo de estos organismos. Por lo tanto para que los hongos entomopatógenos alcancen un desarrollo sobre el cultivo y ejerzan un control sobre la plaga, es necesario que durante un amplio número de horas se alcancen condiciones favorables, ya que las condiciones extremas las superan, y en todo caso retardan su crecimiento, pero no impiden su desarrollo.

## Bibliografía

BEITIA, F.; E. HERNÁNDEZ-SUÁREZ, A. CARNERO, J.C. ONILLON, P. GUIRAO, (1996). **Posibilidades de control biológico de *Bemisia tabaci*: situación en Canarias**. En: CENIS, J.L. (coord.), **El virus del rizado amarillo**

**(hoja en cuchara) del tomate (TYLCV) y su vector *Bemisia tabaci*: 81-85.** Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia.

FRANSEN, J. (1990). **Natural enemies of whiteflies: Their bionomics pest status and management.** Dan Gerling, ed. Great Britain: Athenaeum Pr. Newcastle upon Tyne, p. 187-210.

HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E. (1999). **La familia Aleyrodidae y sus enemigos naturales en las Islas Canarias.** Memoria doctoral (inéd.). Departamento de Biología Vegetal, Universidad de La Laguna.

HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E. y CARNERO HERNÁNDEZ, A. (2000). **Las moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) en las Islas Canarias (II): problemática actual.** Granja 7: 42-49.

LANDA, Z.; L. OSBORNE; F. LÓPEZ Y J. EYAL, (1994). **A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies.** Biological control 4: 341-350.

PRIETO, A. (2002). **Los nuevos enemigos del campo.** La Provincia, Diario de Las Palmas. Marzo 2002.

Zare, R. y Gams, W. (2001). **A revision of Verticillium section Prostata. IV. The genera Lecanicillium and Simplicillium gen. nov.** Nova Hedwigia 73, 1-50.

=====

**Agradecimientos:** Queremos agradecer a las casas comerciales que han colaborado en los diferentes ensayos (FuturEco, Koppert, Agrichem y Massó) y a la cooperativa Cocarmen, especialmente a sus técnicos.

**Nota:** Autor para la correspondencia Ángeles Padilla (mpadilla@icia.es)