

Investigación

EFFECTO DE DOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE *Aleurodicus cocois* (CURTIS, 1846) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

Effect of two entomopathogenic fungus in controlling *Aleurodicus cocois* (Curtis, 1846) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Elizabeth Núñez del Prado^{1,3}, José Iannacone^{1,2} * e Hilda Gómez³

ABSTRACT

Aleurodicus cocois (Curtis, 1846) the coconut whitefly is a very important pest in Peru, mainly in avocado pear trees (*Persea americana* Mill.). Thus, it has been determined that entomopathogenic fungus, can infect and kill white flies, because of this they can be used as biological control agents. This research had as object determine if there is any joint action within two entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith 1957 y *Verticillium lecanii* (Zimmerman, 1892) Viégas 1939, in controlling *A. cocois*. For that, plastic sterile dishes were prepared where 5 mL 2% agar were used for each stage, and infested leaves with *A. cocois* were placed, applied them three treatments by sprinkling: *P. fumosoroseus* (P), *V. lecanii* (V), and the two fungi mixed, which were evaluated one, two and seven days in case of nymph I and eggs and after 4, 8 and 12 days in case of nymph II, NIII y NIV. The effect of mortality of *V. lecanii* on second nymph instar of *A. cocois* was better than *P. fumosoroseus* and than mixture of both fungus, because the highest percentage of mortality is presented since day eight toward day 12. In case of IV nymph instar a low increase was observed in the effect of mixture two entomopathogenic fungus evaluated, being lower the effect of *P. fumosoroseus*.

Key words: biocontrol, *Paecilomyces*, pest, *Verticillium*, white flies.

RESUMEN

Aleurodicus cocois (Curtis, 1846), la mosca blanca del cocotero, constituye una plaga muy importante en el Perú, principalmente en el palto (*Persea americana* Mill.). Se ha determinado que los hongos entomopatógenos, pueden infectar y matar a la mosca blanca, por lo que podrían ser usados como agentes de control biológico. El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe alguna acción conjunta de dos hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith 1957 y *Verticillium lecanii* (Zimmerman, 1892) Viégas 1939, en el control de *A. cocois*. Para ello se prepararon previamente placas de plástico estériles en las que se sirvieron aproximadamente 5 mL de agar al 2%, donde se colocaron hojas infestadas con *A. cocois*, aplicándose tres tratamientos por aspersion: *P. fumosoroseus* (P), *V. lecanii* (V) y la mezcla de los dos hongos, los cuales se evaluaron en el caso de Ninfas I y huevos después de 1, 2 y 7 días, y para la Ninfas II, NIII y NIV cada 4, 8 y 12 días. El efecto de mortalidad de *V. lecanii* sobre el segundo estadio ninfal de *A. cocois* fue mejor que *P. fumosoroseus* y que la mezcla de ambos hongos, ya que el mayor porcentaje de mortalidad se presentó desde el octavo día hasta el día 12. En el caso del IV estadio ninfal se observó un ligero incremento en el efecto al combinarse los dos hongos entomopatógenos evaluados, siendo menor el efecto en *P. fumosoroseus*.

Palabras clave: control biológico, mosca blanca, *Paecilomyces*, plagas, *Verticillium*.

¹ Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@gmail.com *Autor para correspondencia.

² Universidad Ricardo Palma (URP), Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Benavides 5440, Surco, Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@gmail.com *Autor para correspondencia.

³ Programa Nacional de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA), Lima, Perú. Recibido: 16 de marzo de 2007. Aceptado: 22 de mayo de 2007.

INTRODUCCIÓN

Perú es uno de los cinco países del mundo con mayor diversidad biológica, razón por la cual la fauna, en general, y la familia Aleyrodidae (Hemiptera), en particular, se encuentran muy bien representadas. Las especies de esta familia no solían ser plagas primarias a pesar de fuertes aunque ocasionales irrupciones, como por ejemplo la mosca blanca lanuda de los cítricos, *Aleurothrixus floccosus* Maskell 1895, (1954, 1962 y 1967; Soto y García, 2002), la mosca blanca del algodón, *Bemisia tuberculata* Bondar 1929 (1956, 1962, 1970 y 1988; Blatta, 2001), la mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci* Gennadius 1889 (1989, 1995, 1997–98; Blatta, 2001), y la mosca gigante de los frutales también llamada mosca blanca del cocotero (1984 y 1997-1998; Núñez, 1998). Durante los últimos 20 años han alcanzado el nivel de plagas claves en ciertos cultivos, y a partir de 1994, cultivos de gran importancia económica tales como las hortalizas, cucurbitáceas, leguminosas, algodón, arroz y frutales, han comenzado a sufrir fuertes ataques por las moscas blancas (Núñez, 1995; 2000). Valencia (2000) señala que el monocultivo en grandes extensiones, la habilidad de transmitir virus de la familia Geminiviridae, y el abuso de los plaguicidas orgánicos de síntesis han contribuido en gran parte a la creciente incidencia en varios cultivos en la agricultura peruana.

La mosca gigante de los frutales o mosca blanca del cocotero constituye una plaga muy importante en el Perú, tanto en plantas frutales como en ornamentales (Valencia *et al.*, 2000), principalmente en las plantaciones de palto, convirtiéndose en la segunda plaga en importancia económica en el país, después de *B. tabaci* (Gómez *et al.*, 2000). Los principales hospederos más comunes de *A. cocois* en el Perú son: mango (*Mangifera indica* L.), plátano (*Musa balbisiana* Colla), vid (*Vitis vinifera* L.), molle de la costa (*Schinus terebinthifolius* Raddi), ficus (*Ficus nitida* Thunb.) y eucalipto (*Eucalyptus* spp.) (Duke, 1983; Morton, 1987; Reátegui y Núñez, 1998; Valencia, 2000; Licerias y Clemente, 2006; Evans, 2007). En ataques severos, la secreción blanquecina característica puede cubrir toda la cara inferior de las hojas, como ocurre en mango y molle de la costa. Sus daños han alcanzado importancia económica en pecano (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch) y vid (en Ica, 12°12' a 13°35' S; 75°20' a 76°12', Perú) y mango (en Ica y Piura, 4° y 6° S; 79° y 81° O, Perú). Las especies ornamentales más afectadas son el molle de la costa, morera (*Morus alba* L.) y eucalipto (Valencia, 2000). Este insecto está distribuido en toda la costa y parte de la selva del Perú, sobre todo en Iquitos (Valencia, 2000; Valencia *et al.*, 2000). Morton (1987) y Valencia (2000) la citan para el Caribe, Centro y Sudamérica. Lamentablemente, y pese a la gran importancia económica que ha ido adquiriendo con los años, *A. cocois* no es una especie muy estudiada y se conoce poco sobre las mejores estrategias de control.

Numerosos hongos afectan al complejo mosca blanca, siendo los más importantes los géneros *Verticillium*, *Paecilomyces* y *Aschersonia*. Asimismo, se ha determinado que los hongos entomopatógenos, en especial los deuteromicetos, pueden infectar y matar todos los estadios de mosca blanca, por lo que podrían ser usados como agentes de control biológico. Los deuteromicetos se caracterizan por reproducirse principalmente por esporas asexuales (conidios o conidias). Una de las grandes ventajas de los deuteromicetos es que se cultivan con gran facilidad en medios artificiales, incluso en medios oligídicos de fácil obtención y bajo costo, lo cual los hace uno de los grupos con mayor potencial como agente de control biológico en programas de Manejo Integrado de Plagas.

Paecilomyces fumosoroseus ha sido reconocido por más de 20 años como uno de los más importantes agentes biocontroladores contra las plagas de aleiródidos en cultivos de campo y de invernadero (Valencia, 2000). Los hongos cubren levemente el cadáver con trazas de micelio y lo adhieren al envés. Las ninfas muestran un aspecto “plumoso” y están rodeadas por brotes de micelio y conidias (Shannon, 1996). El género *Paecilomyces* tiene un gran potencial para el control de mosca blanca, produciéndoles la enfermedad denominada “muscardine amarillo” (Núñez, 1995). Es importante el estudio de *P. fumosoroseus* como controlador, ya que en forma natural es altamente efectivo y, además, tiene una gran

facilidad para crecer extensivamente sobre la hoja en condiciones de humedad, lo que hace que se propague rápidamente en la población de moscas blancas.

Por otra parte, *Verticillium lecanii* es un hongo entomopatógeno de amplio espectro (Rodríguez Dos Santos y Del Pozo Núñez, 2003). Se puede apreciar en ninfas y adultos adheridos al envés, mediante un micelio blanco que es filamentosos y algo cristalino (Shannon, 1996). *V. lecanii* es un hongo de amplia distribución que puede ocasionar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en ambientes cálidos y húmedos (García y López, 1997).

Se ha comprobado que en muchas ocasiones, acciones conjuntas de diferentes organismos entomopatógenos dan como resultado un efecto sinérgico (Cloyd, 2001; Zurek *et al.*, 2002) como es el caso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 y de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* Bonnefoi & de Barjac, 1963, para el control de *Leptinotarsa decemlineata* Say 1823 (Glare y O'Callaghan, 2000; Solter y Wraight, 2001) o aditivo como es el caso de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de Barjac, 1978 con *B. thuringiensis* var. *kurstaki* de Barjac & Lemille, 1970, para el control de *Premnotrypes suturicallus* Kuschel, 1956 (Glare y O'Callaghan, 2000). Debido a lo anterior, en muchos casos se ha considerado conveniente usar para la aplicación una mezcla con más de un organismo, lo que ha demostrado ser altamente rentable pues el control es mucho más efectivo (Cloyd, 2001).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la mortalidad causada por los hongos entomopatógenos, *P. fumosoroseus* y *V. lecanii*, tanto por separado como en combinación, en los diferentes estadios de *A. cocois*, en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el ambiente de Bioensayos y de Insectos Inoculados, del Laboratorio de Entomopatógenos, que forma parte del Programa Nacional de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA), Ate Vitarte, Lima, Perú. El presente estudio es un muestreo probabilístico (aleatorio), experimental y con una variable de tiempo longitudinal.

Establecimiento de la crianza de *A. cocois*

Se colectaron entre 150 y 200 individuos adultos de *A. cocois* de árboles de eucalipto existentes alrededor de los campos de cultivo PNCB-SENASA (12°02' S; 77°01' O), con ayuda de un tubo de plástico de 15 cm de largo y 2 cm de diámetro y con un pincel delgado. Con la finalidad de reconocer estadios y períodos del ciclo de vida y de asegurar una fuente de individuos para el ensayo, se estableció una crianza en cuatro jaulas cubiertas por malla antiáfida de 1 m³ donde se habían colocado 10 plantas de molle costeño de 90 cm de alto. En cada jaula se colocaron 150 y 200 individuos adultos de *A. cocois* hasta la aparición de las posturas en las hojas. Al día siguiente de la infestación se marcaron las hojas con posturas frescas mediante cartulina de colores, utilizando un color diferente para cada fecha de oviposición. Después de la evaluación de estos resultados, para incrementar la población se colectaron especímenes adultos desde hojas de árboles de molle del distrito de Magdalena del Mar, Lima, Perú.

Después de cuatro meses se inoculó el instar II de la ninfa. Para ello se colectaron de las jaulas antes mencionadas entre 150 y 200 especímenes de moscas blancas adultas con la ayuda de un tubo de plástico y un pincel. Los especímenes colectados se utilizaron para infestación cada 15 días. Dos plantas de *S. terebinthifolius* con un tallo de aproximadamente 35 cm de alto se colocaron en cada una de las cinco jaulas de acrílico de 36 x 32 x 39 cm con espacios de 24 x 10 cm cubiertos con malla antiáfida en tres de las cuatro caras laterales de las jaulas, ya que la cuarta cara lateral tenía una puerta corrediza. La crianza se mantuvo en la sala de "Insectos inoculados", con temperatura de 25 °C, humedad del 75% y condiciones de luz controladas (10:14), manteniendo las plantas con un riego semanal.

Hongos entomopatógenos

Los hongos *P. fumosoroseus* y *V. lecanii* provenían del cepario del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del PNCB (Gómez *et al.*, 2000). Las principales características sobre su origen se indican en el **Cuadro 1**. Se seleccionaron al azar 20 ninfas III y IV de mosca blanca de la primera generación criadas en cautiverio, y se realizó la reactivación respectiva utilizando 10 individuos para cada una de las dos especies de hongos.

Cuadro 1. Hongos entomopatógenos empleados en los bioensayos con *Aleurodicus cocois*.

Table 1. Entomopathogenic fungus employed on bioassays with *Aleurodicus cocois*.

Hongo entomopatógeno	Código	Aislado de	Cultivo	localidad
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	CCBLE-818	<i>Bemisia tabaci</i> Gennadius, 1889	Algodón	Cañete, Lima
<i>Verticillium lecanii</i>	CCBLE-506	<i>Coccus hesperidum</i> Linnaeus, 1758	Toronja	Cañete, Lima

Una vez que las ninfas estuvieron infestadas con el hongo, se colocaron en una cámara húmeda para propiciar la esporulación. Luego de la esporulación, se tomó una muestra con un asa de siembra en punta y se realizó el monocultivo de cada uno de los hongos empleando el medio Sabouraud dextrosa agar (SDA) acidificado a 25 °C y luz constante. Se obtuvo una concentración de 3×10^5 esporas mL⁻¹ a partir del cultivo original. De éste, se tomaron 3 µL y se depositaron sobre el extremo superior de una de las seis estrías previamente marcadas por el reverso de la placa de Petri, y con la ayuda de un asa de siembra en argolla se esparció el inóculo sobre éstas. Luego de incubar la placa a 25 °C durante 24 h, se observó la germinación de las esporas con microscopio óptico (Zeiss, B#3 Reichert MicroStar 4, Hicksville, New York, USA) el objetivo 10X; posteriormente, se demarcó el área con el objetivo 40X y se cortó el bloque de agar con la ayuda de un bisturí, se cultivó en el medio SDA acidificado (1 mL de ácido láctico al 44% por cada 100 mL de medio) y se incubó a una temperatura de 25 °C con luz constante. El almacenamiento de las esporas de los hongos se realizó en glicerol al 10%, a una temperatura de -25 °C. La técnica del monocultivo, cosecha y almacenamiento fue la desarrollada por Estrada *et al.* (1997). La mejor colonia resultante se propagó en placas y se utilizó como fuente para los ensayos.

Elección del medio para el establecimiento de los bioensayos

Se estableció una prueba preliminar para la elección del medio más idóneo para el bioensayo. Se hizo una cámara húmeda colocando hojas de aproximadamente 2 cm² infestadas con ninfas de *A. cocois* en forma alternativa en: 1) algodón humedecido con agua destilada (TA), 2) dos algodones humedecidos con agua destilada (2TA), o 3) sobre un medio agar-agua al 0,1% (TAG). Se colocaron cuatro repeticiones de cada tratamiento (TA, 2TA, TAG) y un testigo (T).

Implementación de bioensayos con hongos y mosca blanca

A cada estado (huevo, ninfa I, II, III y IV) de la plaga se le aplicó tres tratamientos y un testigo, con cuatro repeticiones de 10 individuos cada una. Se diluyeron esporas de los respectivos hongos hasta tener aproximadamente una concentración de 10^8 conidias mL⁻¹, lo cual se comprobó mediante el recuento directo de conidias de acuerdo a lo indicado por Gómez *et al.* (2000). La dosis efectiva de esporas de los hongos entomopatógenos que se aplicaron sobre *A. cocois* siguió lo señalado por Alean (2003). Se cortaron hojas infestadas con *A. cocois*, se separaron de acuerdo al estadio correspondiente y luego se aplicaron los productos.

En botellas plásticas de 1 y 1,5 L se colocaron 200 mL de cada una de las suspensiones a ser aplicadas: agua destilada (testigo), las soluciones con conidias de cada uno de los hongos entomopatógenos, y una suspensión con la mezcla de ambos tratamientos aportando cada hongo el 50% del total de esporas, agregando a los tratamientos y al testigo Tween al 0,1%. Se colocó el aplicador a cada una de las botellas y se roció el contenido en las hojas con ninfas y/o posturas de acuerdo al tratamiento asignado. El volumen asperjado por tratamiento fue de $4,0 \pm 0,5$ mL de suspensión. Finalmente, se colocaron las hojas

sobre el agar en las placas, las cuales permanecieron bajo las mismas condiciones de la crianza en el área de “Insectos inoculados”. Las evaluaciones se realizaron mediante observación directa y con la ayuda de un microscopio estereoscopio (Zeiss, S# 4 Olympus VM-1, Hicksville, New York, USA) a 1, 2 y 7 días para las posturas y para la ninfa I, y a los 4, 8 y 12 días para las ninfas II al IV. Se consideraron como insectos muertos por el hongo a aquellos que mostraban crecimiento hifal sobre ellos (Badilla *et al.*, 1996; Gómez, 1999).

Análisis estadístico

Para la determinación del medio en el que se realizaría el ensayo se practicó un análisis de varianza (ANDEVA), para el cual se realizó una transformación angular de los datos utilizando el arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de mortalidad antes del análisis, para estabilizar el error de la varianza (Zar, 1996). Cuando existían diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de Tukey ($P = 0,05$). Los porcentajes de mortalidad de los ensayos para determinar el efecto de los dos hongos entomopatógenos sobre los huevos y las ninfas I al IV de *A. cocois*, se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada antes de hacer un ANDEVA y la prueba de Levine (Zar, 1996), de esta última se determinó que a pesar de la transformación los datos no tenían una distribución normal; por lo tanto los porcentajes de mortalidad se sometieron a la prueba equivalente no paramétrica de Kruskal Wallis (Zar, 1996), comparando los datos entre tratamientos y entre períodos de exposición por estadío. Para el cálculo de los estadísticos descriptivos e inferenciales se utilizó el programa SPSS 13,0 (SPSS, 2003). En todos los casos se utilizó la fórmula de Abbott cuando el porcentaje de mortalidad del testigo resultó diferente a cero (Abbott, 1925).

RESULTADOS

Elección de medio para el establecimiento de los bioensayos

El porcentaje de mortalidad de *A. cocois* en las placas con agar-agua fue de 46,7%, el porcentaje con dos algodones fue de 70,5% y con un algodón fue de 86% (**Cuadro 2**). El porcentaje de individuos muertos para el medio con agar-agua fue diferente a todos los demás. Incluso el porcentaje de mortalidad en los otros dos tratamientos fue igual al porcentaje de mortalidad del testigo, razón por la cual se optó por realizar los ensayos en el medio agar-agua.

Cuadro 2. Elección del medio para realizar bioensayos.

Table 2. Bioassay media election.

Medio de cultivo	Mortalidad (%)
T	86,7 a
TA	73,99a
2TA	70,5 a
TAG	46,6 b
CV	25,5
Significancia DMS	0,56
WD	0,87

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

T = testigo; TA: algodón humedecido con agua destilada; 2TA: dos algodones humedecidos con agua destilada; TAG: medio agar-agua al 0,1%; CV = coeficiente de variación; DMS: diferencia mínima significativa; WD: Waller Duncan.

Comparación entre tratamientos fúngicos

Huevos. Todos los tratamientos mostraron la misma tendencia: no hubo efecto en los primeros días y se alcanzaron altos porcentajes de mortalidad al séptimo día, sin diferencias entre hongos, tanto separados como combinados (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Efecto comparativo de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Verticillium lecanii* sobre el porcentaje de mortalidad de los huevos y de las ninfas I-IV de *Aleurodicus cocois*.

Table 3. Comparative effect of *Paecilomyces fumosoroseus* and *Verticillium lecanii* on *Aleurodicus cocois* eggs and nymphs I-IV mortality percentage.

Tratamiento	Prom ± DE	Prom ± DE	Prom ± DE
	1 día	2 días	7 días
Huevos			
T	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 21,6a
P	0 ± 0a	0 ± 0a	75 ± 5,8b
V	0 ± 0a	0 ± 0a	82,5 ± 15b
PV	0 ± 0a	0 ± 0a	77,5 ± 5b
Valor K-W	NS	NS	9,30
Sig.	NS	NS	0,008
Ninfa I			
T	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 20a
P	12,5 ± 18,9b	20 ± 18,3b	87,5 ± 15b
V	0 ± 0a	0 ± 0a	87,5 ± 25b
PV	12,5 ± 5b	17,5 ± 10b	72,5 ± 21b
Valor K-W	9,80	10,65	10,08
Sig.	0,005	0,002	0,004
Ninfa II			
	4 días	8 días	12 días
T	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a
P	15 ± 19,1b	21,1 ± 16,3bc	73,6 ± 24,9b
V	7,8 ± 9,7a	28,9 ± 19,6c	97,2 ± 5,6c
PV	0 ± 0a	10 ± 8b	85,1 ± 5b
Valor K-W	9,80	9,78	12,01
Sig.	0,005	0,005	0,0005
Ninfa III			
T	5,5 ± 5a	0 ± 0a	0 ± 0a
P	7,5 ± 9,6a	38,4 ± 14,2b	50 ± 57,7b
V	15 ± 10ab	11,9 ± 9,2a	50 ± 57,7b
PV	25 ± 12,9b	32,4 ± 13b	50 ± 57,7b
Valor K-W	7,34	11,75	3
Sig.	0,03	0,0007	0,016
Ninfa IV			
T	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a
P	0 ± 0a	15 ± 23,8ab	12,5 ± 15ab
V	7,5 ± 5b	20 ± 11,5b	41,4 ± 30,2bc
PV	0 ± 0a	12,5 ± 19ab	45,4 ± 12c
Valor K-W	10,38	5,82	9,11
Sig.	0,003	0,05	0,009

Prom: promedio; DE: desviación estándar; Sig.: significancia; T: Testigo; P: *Paecilomyces fumosoroseus*; V: *Verticillium lecanii*; PV: *Paecilomyces fumosoroseus* + *Verticillium lecanii*; Valor K-W: valor de Kruskal Wallis; NS: no significativo.

Letras distintas en la misma columna indican que existen diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Ninfa I. Inicialmente, todos los tratamientos produjeron algún grado de mortalidad en comparación con el testigo, aunque *V. lecanii* mató menos que los otros dos tratamientos. Al séptimo día, todos los tratamientos produjeron altos niveles de mortalidad, sin diferenciarse entre ellos (**Cuadro 3**).

Ninfa II. Los efectos fueron detectables sólo a partir del octavo día. Al final de la evaluación, el tratamiento más efectivo fue *V. lecanii*, mientras que los restantes tratamientos no se diferenciaron entre sí (**Cuadro 3**).

Ninfa III. El tratamiento combinado fue más letal que los otros dos al principio (día 4), pero al día 12 los tres tratamientos eran iguales entre sí (**Cuadro 3**).

Ninfa IV. En este estadio no hubo una tendencia clara: inicialmente (día 4) el mejor tratamiento fue *V. lecanii* solo, pero los tres tratamientos se igualaron a los 8 días, mientras que hacía el final (día 12), sólo los tratamientos *V. lecanii* y combinado produjeron mortalidad, ya que el tratamiento *P. fumosoroseus* no se diferenció del testigo (**Cuadro 3**).

Comparación entre tiempos de exposición

Con relación al tiempo de exposición, en los huevos sólo hubo efecto al 7° día, no se vio ningún efecto a 1 y 2 días (**Cuadro 4**). Por otro lado, en el caso de ninfa I, los tres tratamientos tuvieron efecto significativo al séptimo día. Para ninfa II el mayor efecto de mortalidad por los hongos se registró el día 12, y sólo para la mezcla de hongos entomopatógenos hubo efecto el octavo día. En cuanto a ninfa III, el porcentaje de mortalidad de los dos hongos a través del tiempo fue semejante, es decir no hubo variaciones en ninguno de los casos. Lo mismo ocurrió para el caso de ninfa IV, excepto que sí hubo una diferencia estadística en el caso de la mezcla de los hongos en el día 12.

Análisis global

En los estadios ninfa I y ninfa II se observó mortalidad durante los primeros días con la aplicación de *P. fumosoroseus*; en cambio *V. lecanii* tuvo menor efecto sobre los individuos, lo cual cambió para los estadios de ninfa III y ninfa IV, lo que podría deberse a que las ninfas de primer y segundo instar son más susceptibles al inicio a *P. fumosoroseus* que los estadios de ninfa III y ninfa IV, pero que en el tiempo *V. lecanii* ocasiona una mayor mortalidad en ninfa I y ninfa II. El único estadio en el que se apreció un porcentaje significativo de desarrollo de los dos hongos en mezcla fue la ninfa IV (**Cuadros 3 y 4**).

Cuadro 4. Efecto de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Verticillium lecanii* sobre el porcentaje de mortalidad de los huevos y de las ninfas I-IV de *Aleurodicus cocois* para tres períodos de exposición.
Table 4. Effect of *Paecilomyces fumosoroseus* and *Verticillium lecanii* on *Aleurodicus cocois* eggs and nymphs I-IV mortality percentage at three periods of exposure.

	Testigo	P	V	P + V
Tratamiento	Prom. ± DE	Prom. ± DE	Prom. ± DE	Prom. ± DE
Huevos				
1d	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a
2 d	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a
7 d	30 ± 21,6b	75 ± 5,8b	82,5 ± 15b	77,5 ± 5b
Valor K-W	10,46	10,56	10,51	10,67
Sig.	0,005	0,005	0,005	0,005
Ninfa I				
1d	0 ± 0a	12,5 ± 18,9a	0 ± 0a	12,5 ± 50a
2 d	0 ± 0a	20 ± 18,3a	0 ± 0a	17,5 ± 10a
7 d	10 ± 20a	87,5 ± 15b	87,5 ± 25b	72,5 ± 21b
Valor K-W	2	7,72	10,67	8,26
Sig.	0,36	0,02	0,005	0,01
Ninfa II				
4 d	0 ± 0a	15 ± 19,1a	7,8 ± 9,7a	0 ± 0a
8 d	0 ± 0a	21,1 ± 16,3a	28,9 ± 19,6a	10 ± 8b
12 d	0 ± 0a	73,6 ± 24,9b	97,2 ± 5,6b	85,1 ± 5c
Valor K-W	NS	7,32	8,73	9,60
Sig.	NS	0,02	0,01	0,008
Ninfa III				
4d	2,5 ± 5a	7,5 ± 9,6a	15 ± 10a	25 ± 13a
8 d	0 ± 0a	38,4 ± 14,2a	11,9 ± 9,2a	32,4 ± 13a
12 d	0 ± 0a	50 ± 57,7a	50 ± 57,7a	50 ± 58a
Valor K-W	8,28	3,36	0,21	0,34
Sig.	0,06	0,18	0,89	0,84
Ninfa IV				
4d	0 ± 0a	0 ± 0a	5,8 ± 5a	0 ± 0a
8 d	0 ± 0a	15 ± 23,8a	20 ± 11,5a	12,5 ± 19a
12 d	0 ± 0a	12,5 ± 15a	41,4 ± 30,2a	45,4 ± 12b
Valor K-W	NS	2,61	3,40	8,28
Sig.	NS	0,27	0,18	0,01

Prom: promedio; DE: desviación estándar; Sig.: significancia; T: testigo; P: *Paecilomyces fumosoroseus*; V: *Verticillium lecanii*; P+V: *Paecilomyces fumosoroseus* + *Verticillium lecanii*; Valor K-W: valor de Kruskal Wallis; NS: no significativo.

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

DISCUSIÓN

El estado de desarrollo de la mosca blanca influye en su susceptibilidad a la infección debido a que el patógeno no la afecta de igual forma en todas sus etapas (Torres y Cárdenas, 1996). *V. lecanii* infesta a *B. tabaci* en estadio ninfal, principalmente en la etapa de ninfa II (Shannon, 1996), pero no afecta pupas, adultos, ni huevos. Candido (1999) indicó que la susceptibilidad de *B. tabaci* a *P. fumosoroseus* es muy baja. Sin embargo, algunas cepas de *P. fumosoroseus* infestan ninfas, pupas y adultos de este insecto (Torres y Cárdenas, 1996).

Ramos *et al.* (2000) mencionan una mortalidad de 37,7% sobre las posturas de *B. tabaci* a los 8 días de aplicación de *B. bassiana*. Por otro lado, se ha encontrado que el control de huevos de *T. vaporarium* no fue eficiente ni con *Aschersonia aleyrodinis* Webber, 1897 (Fransen *et al.*, 1987) ni con *V. lecanii* (Fransen, 1990), razón por la cual a uno y 2 días de la infección no se apreció sintomatología en los huevos (**Cuadro 3**). En general, para estos dos períodos de exposición, el porcentaje de mortalidad de los huevos fue inferior al que se aprecia en los estadios de ninfa I y ninfa II, lo cual podría deberse a las barreras físicas propias del corium (Ramos *et al.*, 2000) y a que las proteasas producidas por los hongos entomopatógenos no tendrían inicialmente el mismo efecto en el corium de los huevos que en la cutícula de las ninfas del insecto (Badilla *et al.*, 1996). Sin embargo, la prueba de Kruskal Wallis para los huevos y para el estadio ninfa I de *A. cocois*, muestra efectos significativos de los tres tratamientos a los 7 días de exposición (**Cuadro 3**).

A los 8 días *B. bassiana* tuvo una eficiencia entre el 78,2 y 89,5% para el control de las ninfas de primer instar de *B. tabaci* (Ramos *et al.*, 2000), porcentajes que están dentro del rango obtenido en este estudio para *A. cocois* a los 7 días de exposición. De igual forma, *B. bassiana* tuvo una eficiencia entre el 79 y 95% para el control de huevos y ninfas de *A. floccosus* en condiciones de laboratorio (Santamaría *et al.*, 1998).

Morales y Cardona (1996) determinaron que los primeros estadios ninfales de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* son los más susceptibles a los hongos entomopatógenos, lo cual se asemeja a los presentes resultados. Por otro lado, Sánchez y Belloti (1997) afirman que el segundo instar de *Aleurotrachelus socialis bordalis* Bondar es el estadio más susceptible a *B. bassiana*. Lo anterior muestra la alta susceptibilidad de este estadio a los hongos entomopatógenos.

Osborne *et al.* (1990) afirma que el tercer instar ninfal es menos susceptible a la infección que el segundo, lo cual también refrenda los resultados obtenidos (**Cuadro 3**). Según Gómez (1999), *V. lecanii* es el patógeno más efectivo sobre *A. cocois*, tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones de invernadero y de campo. Sin embargo, según Alean (2003) la ninfa III de *A. socialis* presenta los porcentajes más altos de mortalidad para *V. lecanii*.

Con una aplicación de *V. lecanii* en *A. socialis*, Alean (2003) obtuvo un porcentaje de mortalidad para los huevos (82,5%) y para las ninfas de tercer instar (58,5%) muy similar al obtenido en el presente estudio; pero difirió de los resultados observados para las ninfas I, II y IV en *A. cocois*, pues el porcentaje de mortalidad de *A. socialis* en cada estadio fue ninfa I: 60,4%, ninfa II: 72% y ninfa IV: 61,5%).

Al inicio se observó escasa mortalidad de ninfa I y II de *A. cocois* por *V. lecanii*, lo cual se modificó a partir de ninfa III hacia ninfa IV (**Cuadro 3**); por lo tanto, los estadios de ninfa I y II serían más susceptibles al inicio a *P. fumosoroseus* en comparación con ninfa III y IV. Pero, *V. lecanii* ocasionó una mayor mortalidad en ninfa I y II (**Cuadro 4**). Vidal *et al.* (1997) demostraron que *P. fumosoroseus* es altamente patógeno para el instar II de *B. argentifolii* entre los 5 y 7 días, y Landa *et al.* (1994) registraron que *P. fumosoroseus* es capaz de desarrollarse rápidamente tanto en *B. argentifolii* como en *T. vaporariorum*.

Badilla *et al.* (1996) muestran que en *B. tabaci* en el estadio ninfa IV, el porcentaje de eficacia puede llegar a ser hasta de un 100% para *P. fumosoroseus* y de 91% para *V. lecanii* a 20 °C; por el contrario, a 25 °C (temperatura en la que se realizó el presente experimento) puede ser ligeramente menor, para *P. fumosoroseus* hasta de 89,3% y para *V. lecanii* de 91,2%. Estos resultados explicarían el mayor porcentaje de mortalidad observado por *V. lecanii* para la ninfa IV en comparación con *P. fumosoroseus* (**Cuadro 3**).

El efecto sinérgico observado en muchas ocasiones por acciones combinadas de diferentes organismos entomopatógenos para el control de insectos plagas (Glare y O'Callaghan, 2000; Cloyd, 2001; Solter y Wraight, 2001; Zurek *et al.*, 2002) no fue observado en el presente estudio. En general, el tratamiento combinado *P. fumosoroseus* y *V. lecanii* no produjo un mayor porcentaje de mortalidad que los tratamientos por separado sobre huevos y ninfas de *A. cocois* (**Cuadro 3**). Debido a lo anterior, no se considera conveniente ni económico usar una mezcla de estos dos hongos entomopatógenos para el control de *A. cocois*, pues se ha demostrado que, excepto el ligero incremento de efecto de ambos hongos sobre la ninfa IV, el control combinado no es más efectivo que el uso de ambos hongos por separado en ningún otro estado de desarrollo.

CONCLUSIONES

El efecto de los hongos entomopatógenos solos o en mezcla es similar para el control de los huevos, ninfas I y III de *A. cocois*. Pero con una exacerbación del efecto de *P. fumosoroseus* en la ninfa I a los 2 días. El efecto de *V. lecanii* sobre el segundo estadio ninfal de *A. cocois* fue mejor que *P. fumosoroseus* y que la mezcla de ambos hongos, ya que el mayor porcentaje de mortalidad se presentó desde el octavo día hasta el día 12. Únicamente, en el caso del IV estadio ninfal se observó un ligero incremento en el efecto al combinarse los dos hongos entomopatógenos evaluados.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Alean, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. 107 p. Tesis Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, Microbiología Agrícola y Veterinaria, Bogotá, Colombia.
- Badilla, F., J.C. Toledo, y C. Barreno. 1996. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en adultos de la "chinche salivosa" *Aeneolamia albofasciata* y *Prosapia* spp. (Homoptera: Cercopidae) en la caña de azúcar en Escuintla, Guatemala. *Manejo Integrado de Plagas* 42:39-44.
- Blatta, S. 2001. La mosca blanca del tabaco *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Leyrodidae) II. Enemigos naturales. *Rev. Terralia* on line. Disponible en <http://www.terralia.com/revista23/pagina56.asp>. Leído el 29 de diciembre de 2003.
- Candido, G. 1999. Virulence of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces amoenerosues* (Hennigs) Samson toward the whitefly *Bemisia argentifolii* Belows and Perring. 100 p. Thesis MSc. University of California, Riverside, California, USA.
- Cloyd, R. 2001. The dilemma of tank-mixing. *Greenhouse Manage. Prod.* 21:66-67.

Duke, J. 1983. Handbook of energy crops On line. Available at http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/dukeindex.html Accessed 29 December de 2003.

Estrada, V., A. Vélez, y N. López. 1997. Estandarización de una metodología para obtener cultivos monoespóricos del hongo *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 48:559-565.

Evans, G.A. 2007. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the world and their host plants and natural enemies. 715 p. USDA/Animal Plant Health Inspection Service (APHIS), Riverdale, Maryland, USA.

Fransen, J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. p. 187-211. *In* Gerling, D. (ed.) Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept, Wimborne, UK.

Fransen, J., K. Winkelman, and J.C. Van Lenteren. 1987. The differential mortality at various life stages of the greenhouse whitefly. *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae), by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycosina: Coelomycetes). *J. Invertebr. Pathol.* 50:158-165.

García, J., y A. López. 1997. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Rev. Colomb. Entomol.* 23:25-30.

Glare, T., and M. O'Callaghan. 2000. *Bacillus thuringiensis*: Biology, ecology and safety. 350 p. John Wiley & Sons, New York, USA.

Gómez, H. 1999. Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de la "mosca blanca" *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) en Lima, Perú. *Rev. Per. Entomol.* 41:83-86.

Gómez, H., A. Zapata, y H. Gamarra. 2000. Producción de hongos y virus entomopatógenos para el control de plagas agrícolas. 44 p. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), Lima, Perú.

Landa, Z., L. Osborne, F. López, and J. Eyal. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. *Biol. Control* 4:341-350.

Liceras, L.Z., y J.C. Clemente. 2006. Plagas insectiles en el cultivo de lúcumo *Pouteria lucuma* [R. et P.] O. Kze., en la Provincia de Trujillo, La Libertad. *Pueblo Cont. (Perú)* 17:5-10.

Morales, A., y C. Cardona. 1996. Evaluación de diferentes hongos entomopatógenos sobre las moscas blancas *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*. 21 p. Informe final. Convenio CIAT-Agrevo S.A. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia.

Morton, J. 1987. Biriba. p. 88-90. *In* J. Morton (ed.) Fruits of warm climates. Creative Resource Systems. Miami, Florida, USA.

Núñez, E. 1995. Reporte de Perú. *In* R. Caballero and A. Pitty (eds.) *In Memoria*, IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus, Zamorano 16-18 Octubre, 1995. Zamorano, Honduras. *CEIBA* 36:157-162.

Núñez, E. 1998. Los Aleyrodidae peruanos y sus controladores biológicos. p. 5. *In* XL Convención Nacional de Entomología, Ica. Noviembre de 1998. Sociedad Entomológica del Perú, Lima, Perú.

Núñez, E. 2000. Las moscas blancas y sus enemigos naturales. p. 53. *In* XLII Convención Nacional de Entomología, Lima. Noviembre de 1998. Sociedad Entomológica del Perú, Lima, Perú.

Osborne, L., K. Hoelmer, and D. Gerling. 1990. Prospects for biological control of *Bemisia tabaci*. International Organization for Biological Control/West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS) Bulletin 13:153-160.

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

Reátegui, A., y E. Núñez. 1998. Niveles de infestación de *Aleurodicus cocois* (Curtis) en tres hospederos botánicos. p. 78. In XL Convención Nacional de Entomología, Lima. Noviembre de 1998. Sociedad Entomológica del Perú, Lima, Perú.

Rodríguez Dos Santos, A., y E. Del Pozo Núñez. 2003. Aislamiento de hongos entomopatógenos en Uruguay y su virulencia sobre *Trialeurodes vaporariorum* West. Agrociencia (Cuba) 2:71-78.

Sánchez, D., y A. Bellotti. 1997. Evaluación de la patogenicidad de hongos *Hypomyces* sobre la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis*. 21 p. Informe final. Convenio Cooperativo CIAT-COLCIENCIAS. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia.

Santamaría, A., J. Costa-Comelles, A. Alonso, J.M. Rodríguez, y J. Ferrer. 1998. Ensayo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin para el control de la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae) y su acción sobre el parásito *Cales noacki* (Howard) (Hymenoptera: Aphelinidae). Bol. San. Veg. Plagas 24:695-706.

Shannon, P. 1996. Hongos entomopatógenos. p. 60-68. In L. Hilje (ed.) Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Serie de Materiales N° 37. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

Solter, L., and S. Wraight. 2001. Development, evaluation and safety of entomopathogens for leaf feeding insect defoliators. 301 p. Annual Report of Multi-State Project, Urbana, Illinois, USA.

Soto, A., y F. García. 2002. Especies de moscas blancas en los cítricos de España Peninsular. Las moscas blancas de cítricos. On line. Disponible en <http://www.seea.es/conlupa/mbcitricos/mbCitricos4.htm>. Leído el 29 de diciembre de 2003.

SPSS. 2003. Statistical package for the social sciences. Base 12.0 user's guide. 368 p. SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA.

Torres, E., y H. Cárdenas. 1996. *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith en el control microbiano de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae). p. 40. In XIX Congreso Nacional de Control Biológico. Simposium de Control Biológico de Mosquita Blanca. Culiacán, 14-15 de noviembre. Sociedad Mexicana de Control Biológico, Culiacán, Sinaloa, México.

Valencia, L. 2000. La mosca blanca en la agricultura peruana. 20 p. Industria Gráfica Cimagraf, Lima, Perú.

Valencia, L., N. Mujica, y F. Cisneros. 2000. Las moscas blancas y sus enemigos naturales. Informe de Perú. p. 62. In L. Hilje (ed.) In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Panamá, 22-24 de noviembre. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, Panamá, República de Panamá.

Vidal, C., L.A. Lacey, and J. Fargues. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hypomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. J. Econ. Entomol. 90:765-772.

Zar, J. 1996. Biostatistical analysis. 662 p. 3rd ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA.

Zurek, L., W. Watson, and C. Schal. 2002. Synergism between *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) and boric acid against the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). Biol. Control 23:296-302.