

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA CEPA BeA DE *Beauveria bassiana*  
(BALSAMO) VUILLEMIN PARA EL CONTROL DE LA MOSCA BLANCA  
*Trialeurodes vaporariorum* (WESTWOOD, 1856) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)  
EN EL CULTIVO DE TOMATE

por

Camilo Mateo PEÑALOZA ROMANIELLO

TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2020

Tesis aprobada por:

Director: -----  
Ing. Agr. MSc. Pablo González Rabelino

-----  
Lic. Dra. Leticia Bao

-----  
Ing. Agr. MSc. Gabriela Grille

Fecha: 26 de agosto de 2020

Autor: -----  
Camilo Mateo Peñaloza Romaniello

## AGRADECIMIENTOS

A Leticia y Pablo por orientarme y apoyarme en este trabajo. Agradezco profundamente su buena disposición.

A Guillermo por ayudarme a canalizar mi idea de trabajo final.

A Oscar Bentancur por orientarme en el análisis estadístico.

A Sole por apoyarme en el trabajo de campo.

A todos los compañeros y amigos que me enriquecieron en esta etapa.

A Magui por su apoyo continuo.

A mi familia por brindarme esta posibilidad.

Muchas gracias

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PRODUCCIÓN DE TOMATE EN INVERNADERO EN URUGUAY .....	2
2.2. PRINCIPALES PLAGAS DEL CULTIVO DE TOMATE .....	2
2.2.1. <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (mosca blanca de los invernaderos).....	3
2.2.1.1. Clasificación taxonómica.....	3
2.2.1.2. Origen y distribución .....	3
2.2.1.3. Daños .....	3
2.2.1.4. Características morfológicas, biología y hábitos .....	4
2.2.1.5. Métodos de control.....	6
2.3. CONTROL BIOLÓGICO.....	6
2.4. <i>Beauveria bassiana</i> .....	7
2.4.1. <u>Historia</u> .....	8
2.4.2. <u>Clasificación taxonómica</u> .....	8
2.4.3. <u>Descripción del entomopatógeno</u> .....	8
2.4.4. <u>Utilización en el control de plagas</u> .....	9
2.4.5. <u>Modo de acción y ciclo de vida</u> .....	9
2.4.6. <u>Distribución y hospederos</u> .....	10
2.4.6.1. Efecto sobre <i>Trialeurodes vaporariorum</i> .....	10
2.4.6.2. Efecto sobre organismos no objetivo .....	11
2.4.7. <u>Efecto de factores ambientales</u> .....	12
2.4.7.1. Temperatura .....	12
2.4.7.2. Humedad .....	12
2.4.7.3. Radiación solar.....	13
2.4.7.4. Condiciones ambientales para la producción comercial y conservación .....	14
2.4.8. <u>Compatibilidad con fitosanitarios</u> .....	14
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	16
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	20

4.1. EVOLUCIÓN POBLACIONAL Y EFICACIA DE CONTROL.....	19
4.2. CONDICIONES AMBIENTALES REGISTRADAS DURANTE EL ENSAYO.....	24
4.3. DETERMINACIÓN DE ESTADOS A EVALUAR.....	26
4.3. PERSPECTIVAS.....	27
5. <u>CONCLUSIONES</u> .....	28
6. <u>RESUMEN</u> .....	29
7. <u>SUMMARY</u> .....	30
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	31
9. <u>ANEXOS</u> .....	40

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.		Página
1.	Comparación del número promedio de ninfas y adultos de <i>T. vaporariorum</i> en los dos tratamientos.....	19
2.	Comparación del número promedio de la proporción ninfas/adultos de <i>T. vaporariorum</i> de todas las fechas para los dos tratamientos.....	23
Figura No.		
1.	Unidades experimentales delimitadas por mallas antiáfido.....	17
2.	Liberación de adultos de <i>T. vaporariorum</i> en las unidades experimentales.....	17
3.	Evolución del número de adultos de <i>T. vaporariorum</i> en las diferentes fechas de monitoreo.....	20
4.	Evolución del número de ninfas de <i>T. vaporariorum</i> en las diferentes fechas de monitoreo.....	21
5.	Relación ninfa/adulto en las diferentes fechas de monitoreo.....	22
6.	Variación de la temperatura dentro del invernáculo durante el ensayo.....	24
7.	Variación de la humedad relativa dentro del invernáculo durante el ensayo....	25

## 1. INTRODUCCIÓN

En Uruguay la producción de tomate representa uno de los principales cultivos hortícolas, siendo la segunda hortaliza a nivel de importancia según su contribución al valor bruto de producción. En la zafra 2014/2015 se plantaron 470 hectáreas de tomate abarcando 886 productores y se cosecharon 35 mil toneladas. Se destina en su mayoría para el consumo en fresco (92% de la producción). El cultivo se realiza tanto a campo como dentro de estructuras de protección, siendo esta última la modalidad principal, representando el 81% del total de la producción de tomate (MGAP. DIEA y MGAP. DIGEGRA, 2017). En Uruguay el ciclo de cultivo abarca la primavera, verano y otoño en el Sur, mientras que en el Norte puede realizarse en otoño, invierno y primavera para obtener cosecha a contra estación.

Por las características de producción de Uruguay, con cultivos que se desarrollan todo el año bajo protección, la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las que causa mayores perjuicios al cultivo de tomate. En Uruguay el manejo de la mosca blanca se realiza principalmente mediante el control químico con aplicaciones de insecticidas de síntesis. Este método actualmente resulta poco eficaz y dificultar el manejo del cultivo para poder respetar el tiempo de espera.

De esta manera se hace necesario incluir otros métodos de control para mejorar el manejo de la mosca blanca. En este sentido surge control biológico con microorganismos, que ha tenido éxito en el mundo, especialmente para el control de la especie *T. vaporariorum* (Landa y Osborne, 1992). Dentro de ellos, el hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin se destaca por su efectividad en el control de moscas blancas, siendo uno de los entomopatógenos más estudiados con este fin (Rodríguez y Del Pozo, 2003a). La población de esta especie entomopatógena presenta una gran variabilidad de aislamientos con diferentes eficacias de control sobre las poblaciones de mosca blanca.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de un aislamiento promisorio de *B. bassiana* perteneciente a la Facultad de Agronomía como agente de control biológico sobre *T. vaporariorum* en tomate bajo estructuras de protección como se realizan los cultivos comerciales.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PRODUCCIÓN DE TOMATE EN INVERNADERO EN URUGUAY

El tomate es la segunda hortaliza que genera mayores ingresos al Mercado Modelo. Existen dos zonas principales de producción, Sur con el 43 % de la producción y litoral Norte con el 57% (MGAP. DIEA y MGAP. DIGEGRA, 2017). En la zona Sur se realizan cultivos mediante las dos modalidades (campo y protegido) y su cosecha se concentra principalmente en verano y otoño; mientras en la zona Norte se realiza únicamente mediante estructuras de protección destinándose principalmente a producir a contra estación (MGAP. DIEA y MGAP. DIGEGRA, 2017).

El ciclo de producción de tomate varía según la zona donde se cultive. En el Sur, bajo estructura de protección, se puede realizar un ciclo solo con una duración que puede abarcar 11 meses, comenzando con el trasplante en agosto o setiembre y finalizando la cosecha en abril o mayo. Pero también se pueden realizar dos ciclos cortos, comenzando con el trasplante en agosto o setiembre, finalizando la cosecha del primer ciclo a fines de enero y volviendo a trasplantar a inicios de febrero para finalizar la cosecha en junio o julio. En el Norte el ciclo más clásico comienza con el trasplante a principios de marzo pudiendo llegar hasta los primeros días de diciembre donde finaliza la cosecha (Dogliotti, 2018). Con estas opciones, el cultivo de tomate puede realizarse dentro de invernadero durante todo el año, con productores que se especializan solapando ciclos de producción.

Durante todo el ciclo de producción existen diferentes plagas pueden afectar el cultivo. Entre ellas, *T. vaporariorum* conocida como la mosca blanca de los invernaderos, que se ve favorecida por las condiciones ambientales que ofrecen los invernaderos y la larga duración del ciclo de producción. Esta plaga puede afectar severamente los cultivos bajo estructuras de protección y cuando el ataque es muy intenso, puede hacer que el cultivo se vuelva inviable económicamente (Bentancourt y Scatoni, 2010).

### 2.2. PRINCIPALES PLAGAS DEL CULTIVO DE TOMATE

Existen un gran número de insectos plaga que pueden afectar el cultivo de tomate, pero algunos adquieren mayor importancia dada la frecuencia de su aparición en el cultivo, su persistencia y los daños que ocasionan. Entre ellos se destacan la polilla del tomate (*Tuta absoluta*), la mosca blanca (*T. vaporariorum*), el trips (*Franklinella occidentalis*), el ácaro del bronceado (*Aculops lycopersici*) y la arañuela roja (*Tetranychus urticae*),

### 2.2.1. *Trialeurodes vaporariorum* (mosca blanca de los invernaderos)

Esta especie de mosca blanca representa una de las principales plagas del mundo (Landa et al., 1994). Es una especie cosmopolita muy polífaga que adquiere especial importancia en cultivos de invernadero (Soto et al., 1999).

#### 2.2.1.1. Clasificación taxonómica

La ubicación taxonómica de *T. vaporariorum* es la siguiente:

Phylum	:	Arthropoda
Clase	:	Insecta
Subclase	:	Pterygota
Orden	:	Hemiptera
Superfamilia	:	Aleyrodoidea
Familia	:	Aleyrodidae
Subfamilia	:	Aleyrodine
Género	:	<i>Trialeurodes</i>
Especie	:	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>

#### 2.2.1.2. Origen y distribución

Su origen geográfico no está definitivamente establecido y aunque se piensa que puede ser Brasil o México solo se puede afirmar que es originaria de América tropical o subtropical (Vet et al., 1980). La especie fue descrita por primera vez en 1856 por Westwood luego de su aparición en Inglaterra, quien supuso que provino de una importación de orquídeas desde México (Van Lenteren et al., 1996).

En la actualidad presenta una amplia distribución encontrándose en los cinco continentes y constituyendo una de las mayores plagas de los cultivos en invernadero del mundo.

#### 2.2.1.3. Daños

Existen diferentes tipos de daños causados por este insecto que se pueden clasificar en directos e indirectos. Los daños directos son provocados por la succión de savia que ejercen tanto ninfas como adultos. Los efectos dependen del tamaño de la población de la plaga pudiendo provocar retraso en el crecimiento, deformación de la hoja y debilitamiento general del cultivo.

El principal daño que ocasiona este aleuródido es indirecto y consiste en la secreción de una sustancia azucarada, producto de su alimentación, cuya acumulación

favorece el desarrollo de hongos del género *Capnodium*, enfermedad que se denomina fumagina. Estos hongos provocan un ennegrecimiento de hojas y frutos que afecta la capacidad fotosintética de la planta y disminuye la calidad comercial de los frutos (Grille, 2011).

Otro de los daños indirectos que ocasiona es la capacidad de transmitir virus. Es vector del virus del “falso amarillamiento de la remolacha” transmitido también a la lechuga y pepino en Holanda y Francia (Dorst et al., 1983) y el TICV (Tomato Infectious Chlorosis Virus) que puede provocar grandes pérdidas en los rendimientos de los cultivos (Liu et al., 2000). En Uruguay se ha identificado recientemente la presencia del virus *Tomato chlorosis Virus* (ToCV) que puede ser transmitido por *T. vaporariorum* (Rubio et al., 2013).

#### 2.2.1.4. Características morfológicas, biología y hábitos

*T. vaporariorum* presenta una metamorfosis de tipo neometabolía cuyo ciclo biológico incluye los estados de huevo, ninfa y adulto. Existen discrepancias sobre el cuarto estadio ninfal, ya que para algunos autores es considerado como pupa. Sin embargo, Nechols y Tauber (1977) indicaron que no puede atribuirse el nombre de pupa verdadera ya que en la primera etapa del estadio el individuo se alimenta.

Huevos: son lisos, piriformes y miden 0,3 mm de longitud. Inicialmente son de color amarillento y se vuelven oscuros cuando se acercan al momento de la eclosión. Permanecen sujetos al tejido de la hoja en forma vertical por medio de un pedicelo corto (Bentancourt y Scatoni, 2010). Son colocados en la cara inferior de las hojas jóvenes con una disposición circular si las hojas son glabras o en forma dispersa si son pubescentes. El período de incubación es muy variable dependiendo de las condiciones climáticas y del hospedero pudiendo considerarse una media entre 5 y 12 días (Castresana, 1989).

Ninfa: este estado consta de cuatro estadios. El primero (N1) es el único móvil por un tiempo menor a 12 horas, luego que encuentra un lugar adecuado para alimentarse se fija por medio de su aparato bucal. Este estadio mide aproximadamente 0,3 mm de longitud, es ovalado y de color verde pálido (Rodríguez, 2003b). El segundo estadio (N2) es sedentario durante todo su desarrollo, es de forma aplanada y transparente. El tercero (N3) es similar al anterior, un poco más opaco y más grueso. El cuarto estadio (N4) pasa por tres fases, una temprana con forma achatada, transparente y opaca donde continúa alimentándose. Una segunda fase de transición donde es más grueso que la anterior, con color blanco-opaco y con setas en todo el cuerpo. Por último, una tercera fase donde no se alimenta, presenta un aspecto amarillo y los ojos rojos. En esta última fase adquiere la denominación de pupa o pupario (Grille, 2011). En esta etapa el tamaño alcanzado es aproximadamente de 0,7 mm de largo y 0,5 mm de ancho (Rodríguez, 2003b). La duración de este estado también es muy variable dependiendo del clima y del hospedero, siendo la media entre 20 y 25 días (Castresana, 1989).

Adulto: para emerger rompen el pupario por una apertura dorsal en forma de “T”. Luego de emerger vuelan hacia las hojas más nuevas de la planta hospedera y se distribuyen en el cultivo en focos, de forma irregular (Rodríguez, 2003b). Son insectos pequeños, con patas, antenas y dos pares de alas bien desarrolladas. Miden aproximadamente 1,2 mm de longitud. Presentan cuerpo de color amarillento con alas transparentes, pero adquieren una coloración blanca por encontrarse recubiertos de un polvillo blanco y sedoso (Bentancourt y Scatoni, 2010). Son activos y viven en el envés de las hojas. La longevidad de los adultos varía en función de la temperatura y del hospedero pudiendo considerarse una longevidad media de 35-45 días mientras que los machos poseen una longevidad algo menor (Castresana, 1989).

La duración total del ciclo varía con la de cada estado de desarrollo en función de la planta hospedera y de la temperatura. En el caso del tomate, con temperaturas comprendidas entre 22°C y 25°C el ciclo completo dura 28 días, a 30°C dura entre 18 y 21 días, mientras que a 12°C el ciclo se extiende a una duración entre 103 y 123 días (Castresana, 1989). Si bien la duración del ciclo disminuye a temperaturas superiores, también se compromete la supervivencia de los adultos. En estudios realizados por Cui et al. (2008) se demostró que exposiciones de una hora a temperaturas de 39°C o superiores disminuyen la supervivencia de adultos de *T. vaporariorum*.

La reproducción puede ser tanto sexual como por partenogénesis arrenotoca, en este último caso producen descendencia haploide masculina (Byrne y Bellows, 1991). Las hembras depositan en promedio 130 huevos durante toda su vida alcanzando un máximo de 400 huevos (Bentancourt y Scatoni, 2010). Esta fecundidad varía en función de la temperatura y la planta hospedera. Según ensayos hechos por Burnett (1949) a 18°C la oviposición fue de 319,5 huevos/hembra, la cual disminuyó a 5,5 huevos/hembra a 33°C y a 0 a 9°C.

Generalmente la oviposición se efectúa en las hojas nuevas de las plantas (Castresana, 1989), lo cual hace que junto con el crecimiento de la planta se genere una estratificación vertical de los estados. La mayor densidad de adultos se encuentra en el tercio superior de la planta, mientras que la mayor densidad de ninfas 3 y 4 se distribuye en el tercio medio (Basso et al., 2001).

La distribución espacial en el invernadero es agregada, con lugares donde se encuentran altas densidades de mosca blanca y otros donde no existen (Castresana, 1989). Estos datos coinciden con los obtenidos por Perrachón (2003) quien encontró que la distribución espacial de pupas de *T. vaporariorum* en invernáculos es conglomerada o de contagio.

*T. vaporariorum* es capaz de sobrevivir el invierno y en algunos estadios soportar fuertes fríos siempre que no se prolonguen un tiempo excesivo. Si bien sus poblaciones se mantienen activas todo el año, en invierno disminuyen, se desarrollan

más lentamente y aumenta la mortalidad de los primeros estadios ninfales y adultos (Castresana, 1989).

#### 2.1.1.5. Métodos de control

La mosca blanca de los invernaderos posee una serie de características que dificultan su control. Posee un ciclo de vida corto, un alto potencial reproductivo, amplio rango de plantas hospederas, hábito de protegerse en el envés de las hojas y capacidad de desarrollar poblaciones resistentes (Estay, citado por Soto et al., 1999).

Entre los métodos de control se encuentran los culturales o uso de prácticas agronómicas (rotaciones, fechas de siembra, destrucción de restos de cultivo), químicos (insecticidas, repelentes, etc.) genéticos (liberación de insectos estériles, cultivares resistentes) y biológicos (Rodríguez, 2005).

El método de control tradicionalmente utilizado ha sido el control químico mediante insecticidas de síntesis. En los últimos años este método se ha vuelto menos efectivo haciendo que en muchos cultivos se deban realizar hasta dos aplicaciones de insecticidas por semana. Como consecuencia aparecen poblaciones resistentes y se producen impactos ambientales negativos causando problemas y preocupación para la población (Landa y Osborne, 1992). Rodríguez y Del Pozo (2003a) demostraron que *T. vaporariorum* presentó niveles altos de resistencia a organofosforados y medios a piretroides. Muchos otros trabajos también documentan la resistencia desarrollada por *T. vaporariorum* (Bi y Toscano 2007, Gorman et al. 2007, Karatolos et al. 2010, 2012)

En el mismo sentido crecen las exigencias comerciales para disminuir el límite de residuos de insecticidas en los productos, sobre todo en el mercado internacional. De igual forma existe una presión cada vez mayor por parte de los consumidores por este motivo.

La necesidad de lograr un mejor manejo y la serie de problemas que trae aparejado el control químico han impulsado fuertemente el desarrollo de agentes de control biológico para su uso dentro de programas de Manejo Integrado de Plagas (Inglis et al., 2001).

### 2.3. CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico consiste en el manejo de organismos vivos para reducir la población de otro que ocasiona daños al hombre (plaga). Una de las definiciones de control biológico más aceptadas fue la que dio DeBach (1964): “*la acción de los parasitoides, depredadores o patógenos para mantener la densidad de la población de un organismo plaga a un promedio más bajo del que ocurriría en su ausencia*”.

Existen diferentes estrategias de control biológico referidas a la modalidad con la que se utilice o se estimule al agente de control biológico (ACB). Las estrategias más comunes son: de conservación, clásico, aumentativo, de inoculación e inundativo (Cotes, 2018). En este trabajo se estudiará el empleo del control biológico inundativo. Esta estrategia, consiste en la liberación o aplicación de agentes de control biológico en grandes cantidades para disminuir los individuos plaga rápidamente. Busca controlar una proporción importante de la plaga con los organismos liberados y no con su progenie. En este caso es esperable que la población del agente de control biológico disminuya significativamente con el tiempo (Eilenberg et al., 2001). Luego de un tiempo posterior a la aplicación, si la población plaga aumenta se realiza una nueva aplicación del agente de control biológico (Cotes, 2018).

El empleo de ACB es una herramienta interesante ya que además de disminuir los efectos de las plagas, reduce los impactos negativos sobre el ambiente. *B. bassiana* es un hongo entomopatógeno que se destaca por su efectividad en el control de moscas blancas, siendo uno de los entomopatógenos más estudiados con este objetivo (Rodríguez y Del Pozo, 2003a).

En los países más desarrollados, se han puesto en práctica Programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) donde el control de *T. vaporariorum* está basado en el control biológico, en los que el uso de parasitoides como *Encarsia spp* y hongos entomopatógenos constituyen el elemento más notable (Rodríguez, 2003b).

El uso de microorganismos para el control biológico de moscas blancas ha tenido éxito, especialmente para el control de la especie *T. vaporariorum* y la perspectiva de utilización de hongos entomopatógenos es prometedora (Landa y Osborne 1992, Estrada y Pavón 2012). Las condiciones que ofrecen los cultivos de invernadero, con temperaturas más estables, alta humedad relativa y radiación solar reducida son una excelente oportunidad para el control de plagas con hongos entomopatógenos (Van Lenteren y Woets, citados por Landa y Osborne, 1992).

#### 2.4. *Beauveria bassiana*

Los hongos son los patógenos de insectos que más frecuentemente se han aislado, incluyendo los géneros *Verticillium*, *Aschersonia*, *Paecilomyces* y *Beauveria* (Landa et al. 1994, Meekes et al. 2001). Dentro de las especies más estudiadas por su efectividad en el control de moscas blancas se destacan *B. bassiana*, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith (Rodríguez y Del Pozo, 2003a).

*B. bassiana* es una de las especies entomopatógenas más estudiadas en distintos países. Se han utilizado formulaciones biológicas de esta especie originarias de EE.UU, China y la ex URSS para el control de diversas especies plaga (Lecuona et al., 1996).

Este entomopatógeno crece naturalmente en suelos de todo el mundo y actúa como patógeno de diversas especies de insectos causando la enfermedad de la muscardina blanca (Alice et al., 2014).

#### 2.4.1. Historia

Agostino Bassi fue el primero en describir el género *Beauveria* en 1835 como agente causal del mal del segno, también conocido en Italia como calcinaccio o cannellino y como muscardino blanco en Francia. La denominación como causal del mal del segno deriva de que fue el responsable de la devastadora epidemia que diezmo las poblaciones de larvas de gusanos de seda, y por ello se desarrollaron diversos estudios en este ámbito. Posteriormente Balsamo-Crivelli propuso su clasificación taxonómica y lo denominó *Botrytis bassiana* en honor a Bassi. El género *Beauveria*, en cambio, no fue descrito formalmente hasta 1912 por Vuillemin (Méndez, 2008).

#### 2.4.2. Clasificación taxonómica

Inicialmente se pensó que *B. bassiana* pertenecía a la clase Deuteromycetes porque se desconocía su fase sexual. Pero estudios posteriores realizados por Li et al. (2001) sugieren que existen conexiones entre telomorfos vinculadas al entomopatógeno confirmando que presenta reproducción sexual. Según este trabajo el telomorfo de *B. bassiana* es *Cordyceps bassiana* y se logró la conidiación del microciclo entre ambas especies. Hallazgos posteriores realizados por Rehner y Buckley (2005) agruparon estas dos especies dentro del mismo grupo filogenético confirmando que *Cordyceps bassiana* es la etapa sexual de *B. bassiana*.

La clasificación taxonómica de *B. bassiana* más reciente es la siguiente (Gandarilla, 2012):

Reino	:	Fungi
Filum	:	Ascomycota
Sub-filum	:	Pezizomycotina
Clase	:	Sordariomycetes
Subclase	:	Hypocreomycetidae
Orden	:	Hypocreales
Familia	:	Cordyceps
Género	:	<i>Cordyceps</i>
Especie	:	<i>Beauveria bassiana</i>

#### 2.4.3. Descripción del entomopatógeno

Al igual que los demás hongos entomopatógenos es un organismo eucariótico heterótrofo que parasita otros insectos, mediante mecanismos químicos y físicos de infección.

*B. bassiana* conforma una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo de los artrópodos muertos. Presenta hifas septadas y forma colonias blancas que se tornan amarillentas u ocasionalmente rojizas. Las células conidiógenas se sostienen sobre hifas vegetativas y poseen una parte basal globosa a forma de matraz y un raquis de hasta 20  $\mu\text{m}$  de largo, en su mayoría formando un zigzag. Los conidios son hialinos, globosos a ampliamente elipsoidales (Zimmermann, 2007).

#### 2.4.4. Utilización en el control de plagas

Desde las primeras descripciones del género *Beauveria*, *B. bassiana* se ha utilizado como agente de control biológico para combatir insectos plaga. En 1977 en la Unión Soviética se produjeron 22 toneladas del producto Boverin a base de *B. bassiana* utilizadas en miles de hectáreas, principalmente contra el escarabajo de la patata de Colorado (*Leptinotarsa decemlineata*). A finales de las décadas de los setenta, *B. bassiana* se produjo y se usó ampliamente en China contra diversos insectos plaga en arroz y té. Actualmente se utiliza en numerosos países bajo diferentes formulaciones comerciales. Algunos ejemplos son: Bio-Power en India, BotaniGard ES en Estados Unidos, Naturalist en Italia, Trichobass-L en España y Ostrin en Francia entre otros (Zimmermann, 2007).

#### 2.4.5. Modo de acción y ciclo de vida

*Bauveria bassiana* tiene un modo de crecimiento dimórfico. En ausencia del insecto hospedero pasa por un ciclo de vida vegetativo cumpliendo las etapas de germinación, crecimiento filamentosos y formación de sympoduloconidia. Con la presencia de un hospedero, cambia al ciclo de vida patógeno (Wan, 2003).

Según Zimmermann (2007) el ciclo patogénico consta de los siguientes pasos: comenzando con la adhesión que se realiza gracias a fuerzas hidrófobas de los conidios y de las superficies cuticulares, luego comienza la germinación que es altamente dependiente de factores ambientales como temperatura y humedad, así como también de sustancias antimicrobianas presentes en la superficie del hospedero. Por lo general, la germinación de los conidios de *B. bassiana* comienza después de 10 horas aproximadamente y se completa en gran parte en 20 horas a 20 y 25°C. Luego se da la penetración que generalmente ocurre en las zonas más delgadas y no esclerotizadas de la cutícula, como las articulaciones entre segmentos o piezas bucales. Esta etapa se cumple en dos procesos, uno físico debido a la presión ejercida por las hifas para romper las membranas de la cutícula, y otro químico debido a la secreción de enzimas como proteasas, quitinasas y lipasas que degradan las capas de la cutícula del hospedero. Posteriormente ocurre la infección, proceso durante el cual *B. bassiana* secreta sustancias proteolíticas y toxinas mientras que el hospedero produce reacciones de defensa como compuestos antifúngicos. Si esta etapa es superada se produce la colonización donde el hongo produce cuerpos hifales similares a células de levadura que

se distribuyen en la hemolinfa del hospedero invadiendo todos los tejidos. Posteriormente el hongo agota todos los nutrientes en la hemolinfa y se produce la muerte del insecto finalizando el ciclo patogénico. La duración de estas etapas varía según el hospedero, la temperatura y la virulencia del entomopatógeno, pero a modo de referencia en áfidos puede durar 3 o 4 días. Finalmente, luego de la muerte del hospedero, con condiciones húmedas, comienza la fase saprófita donde el hongo emerge del cadáver y produce conidios en la superficie del mismo que pueden ser diseminadas por otros insectos, por el viento o agua de lluvia (Zimmermann, 2007).

Frente a condiciones adversas el hongo puede sobrevivir en el suelo en períodos con baja densidad del hospedador, López et al. (1995) demostraron que *B. bassiana* sobrevivió luego de 218 días en suelo no estéril. Gottwald y Tedders (1984) sostienen que está bien adaptado para la supervivencia del suelo, ya sea como conidios o micelios saprófitos. Sin embargo, otros autores como Wartenberg y Freund, citados por Zimmermann (2007) señalan que microorganismos antibióticos del suelo pueden suprimir la germinación de los conidios del entomopatógeno y concluyen que es un saprófito débil.

#### 2.4.6. Distribución y hospederos

*B. bassiana* se ha encontrado infectando insectos tanto en zonas templadas como tropicales en todo el mundo. Es la especie con la distribución más amplia del género. Sus hábitats se han descrito en suelos alpinos, tierras pantanosas, turbas, suelos de tipo sabana, suelos desérticos, suelos cultivados, arenas y dunas, en vegetaciones de bosques y en agua corriente (Zimmermann, 2007).

*B. bassiana* es el hongo entomopatógeno que presenta el rango de hospederos más amplio (Vestergaard et al., 2003). Ha sido aislado de una amplia variedad de insectos en todo el mundo. Li, citado por Zimmermann (2007) enumeró 707 especies de insectos hospederos de *B. bassiana*, incluyendo 15 órdenes, 149 familias y 521 géneros. También enlistó 13 especies de Acarina distribuidos en 7 géneros y 6 familias. Los órdenes de insectos donde *B. bassiana* ha sido catalogado como patógeno son: Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattodea y Embioptera. Por su parte Goettel et al. (1990) describieron el siguiente rango de hospederos para *B. bassiana*: Gastropoda, Acari, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Blattaria, Thysanoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera y Lepidoptera.

Sin embargo, aunque el rango de hospederos de una especie entomopatógena puede ser muy amplio, cada aislamiento de la misma especie tiene rangos de hospederos más restringidos (Goettel et al. 1990, Vestergaard et al. 2003). Por lo tanto, es necesario probar cada aislado específico para evaluar su virulencia sobre la especie objetivo.

#### 2.4.6.1. Efecto sobre *Trialeurodes vaporariorum*

*B. bassiana* es una de las especies de entomopatógenos más estudiados por su eficacia sobre moscas blancas (Rodríguez y Del Pozo, 2003a). Existen diversos trabajos que demuestran su potencial eficacia sobre la especie *T. vaporariorum* (Sánchez et al. 2010, Kim et al. 2013, Quintero 2015, Oreste et al. 2015).

#### 2.4.6.2. Efecto sobre organismos no objetivo

Diferentes estudios sobre la prevalencia natural de *B. bassiana* han demostrado que este hongo ocurre ampliamente en el suelo, aire e insectos. Esto implica que ha existido una convivencia evolutiva duradera con otros microorganismos con diferentes formas de interacción (Zimmermann, 2007). Desde el punto de vista de seguridad es importante evaluar si el organismo usado en control biológico pueda alterar o desplazar poblaciones de organismos no objetivo. Si bien esta especie tiene un amplio rango de hospederos es importante tener en cuenta que el rango de hospederos de cada cepa es mucho más estrecho que el de la especie (Vestergaard et al., 2003).

Wang et al. (2004) realizaron un estudio donde encontraron que cepas de *B. bassiana* liberadas en un ambiente del Sureste de China posteriormente se encontraron en bajas frecuencias, demostrando así que las cepas exóticas no tuvieron un rendimiento agresivo en el área liberada y no provocó desplazamiento de cepas nativas, probablemente explicado por el efecto negativo de factores climáticos sobre el inóculo exótico. De todas formas, este estudio mostró también que las cepas exóticas eran capaces de persistir en el ambiente e infestar organismos no objetivo.

En abejas y otros polinizadores no se han reportado epizootias naturales causadas por hongos entomopatógenos, indicando que estos insectos tengan bajo riesgo en una aplicación de *B. bassiana* en el campo, debiendo tener precaución si la exposición es directa a colonias de polinizadores (Goettel et al., 1990).

Goettel et al. (1990) concluyeron que los efectos de *B. bassiana* y otros hongos entomopatógenos representan un riesgo mínimo para organismos no objetivo señalando que los efectos más perjudiciales ocurren sobre predadores y parasitoides debido al agotamiento de sus presas y hospederos. Por su parte Vestergaard et al. (2003) indican que *B. bassiana* ha cumplido los requisitos de registro en varios países y ha sido ampliamente utilizado durante las últimas dos décadas sin provocar efectos perjudiciales aparentes en el medio ambiente o en los aplicadores. También concluye que a pesar de que posee un amplio rango de hospederos, el uso de *B. bassiana* es posible con un mínimo impacto en los organismos no blanco, especialmente si se analizan factores espaciotemporales y de selección de aislados.

### 2.4.7. Efecto de factores ambientales

El desarrollo y propagación de microorganismos en los diferentes hábitats es fuertemente afectado por factores ambientales, entre los que se destacan la temperatura, humedad y radiación solar (Zimmermann, 2007).

#### 2.4.7.1. Temperatura

La temperatura puede influir en la germinación, crecimiento y viabilidad del hongo entomopatógeno, como también en el hospedero y en el ambiente donde se desarrolla. Temperaturas elevadas pueden inactivar un entomopatógeno antes de la penetración en el hospedero, así como también reducir o acelerar el crecimiento dentro del insecto. Mientras que las bajas temperaturas reducen o detienen la germinación y crecimiento afectando la infección (Zimmermann, 2007).

Varios trabajos informan que la temperatura óptima de *B. bassiana* se encuentra entre 23-28°C, con un mínimo entre 5-8°C y un máximo entre 30-38°C dependiendo del aislamiento (Fargues et al. 1977, Roberts y Campbell 1977, Quesada-Moraga et al. 2006, Godoy et al. 2007). En este sentido Berlanga y Hernández (2002) demostraron que la mayor germinación de conidios de esta especie es a 27°C, demorando 20 horas en que germinen el 100% de las esporas. En el mismo trabajo indican que la mayor velocidad de crecimiento del micelio ocurre entre 24 y 27°. Finalmente, la esporulación ocurre más rápidamente a 28,5 y 31,7°C (Ortiz et al., 2011a). Por su parte Walstad et al. (1970) demostraron que el punto de muerte térmica de las esporas es de 50°C durante 10 minutos y que ambos extremos de temperatura retrasan el tiempo requerido para la esporulación del entomopatógeno, aumentando de 5 a 15 días a 10°C y a 8 días a 35°C (Walstad et al., 1970).

#### 2.4.7.2. Humedad

La humedad es uno de los factores más importantes que afectan la supervivencia y efectividad de hongos entomopatógenos. Tanto la germinación de esporas como la conidiogénesis del hongo luego de la muerte del insecto hospedero, requieren valores elevados de humedad relativa. En conjunción con la temperatura, la humedad también influye sobre la viabilidad y persistencia de las esporas (Zimmermann, 2007).

Varios trabajos señalan que para el desarrollo de *B. bassiana* son favorables valores de humedad relativa (HR) por encima de 90%, siendo el óptimo 100% donde demora 4 días en desarrollar las esporas (Walstad et al., 1970). Al estudiar la germinación de las esporas, se encontró que 100% de humedad relativa es la mejor condición y por debajo de 90% disminuye la germinación (Walstad et al. 1970, Roberts y Campbell 1977).

### 2.4.7.3. Radiación solar

La radiación solar UV es uno de los parámetros climáticos más perjudiciales para los conidios de hongos. En función de su longitud de onda se puede dividir en tres tipos de los cuales solo dos alcanzan la superficie terrestre, la UV-B (entre 285-315 nm) y UV-A (entre 315-400 nm, Fernández, 2017). Los conidios son eliminados tanto por UV-A como por UV-B. Además de matar los conidios, las exposiciones subletales a la radiación solar retrasan la germinación y reducen la virulencia de los entomopatógenos (Braga et al., 2015).

Krieg et al., citados por Zimmermann (2007) realizaron experimentos de laboratorio bajo luz solar simulada sobre *B. bassiana*, encontrando que luego de 31 minutos aproximadamente de exposición a UV-A y UV-B se inactivaron el 99% de los conidios. Por su parte encontraron que luego de exponer las esporas de un aislamiento de *B. bassiana* a 60 minutos de luz UV-B, la germinación se redujo de 89,4% a 2,8%.

Varios trabajos donde se realizaron experimentos de laboratorio exponiendo a *B. bassiana* bajo luz solar simulada demostraron que se inactivan los conidios y se reduce la germinación (Krieg et al., citados por Zimmermann 2007, Edgington et al. 2000). Fernández et al. (2007) encontraron que la exposición de 2 horas a radiación UV-B ( $978 \text{ mW m}^{-2}$ ) produjo retrasos en la germinación, provocando que inmediatamente no germine ningún conidio, luego de 12 horas posteriores a la exposición solo germinen el 9,5% y a las 48 horas germinen el 30% de los conidios de *B. bassiana*.

Otro factor a tener en cuenta es el ambiente del invernadero, donde la mayoría de éstas estructuras presentan protección contra la radiación UV disminuyendo el efecto negativo de este factor ambiental sobre el entomopatógeno. En un trabajo realizado por Inglis et al. (1997) se observaron que saltamontes rociados con *B. bassiana* en jaulas dentro del invernadero presentaron niveles de mortalidad significativos en contraste con saltamontes bajo las mismas condiciones, pero en jaulas en parcelas de campo adyacentes, donde no se observó mortalidad. Los investigadores indican que en las jaulas del invernadero se redujeron sustancialmente los niveles radiación solar (74%), factor que podría explicar la mayor mortalidad de saltamontes.

Si bien la radiación solar es perjudicial para la mayoría de los microorganismos, existen diferencias de susceptibilidad dentro y entre las especies de entomopatógenos y la selección de aislados más resistentes puede ser una estrategia exitosa (Fargues et al., 1996). Fernández et al. (2007) estudiaron la respuesta de diferentes aislados de *B. bassiana* a la radiación UV-B encontrando una alta variabilidad entre los diferentes aislados en la tolerancia a dicha radiación, con respuestas cercanas a cero hasta aislados que presentaron casi el 80% de tolerancia.

#### 2.4.7.4. Condiciones ambientales para la producción comercial y conservación

Existen numerosos estudios sobre las diferentes formas de formulaciones comerciales de entomopatógenos. En el caso de *B. bassiana*, las formulaciones más comúnmente utilizadas son sólidas. Para este tipo de producción se han establecido condiciones de humedad y temperaturas de la sala de incubación. Freng et al. (1994) en su revisión indican que las condiciones adecuadas para la incubación de este hongo son  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 10 días y humedad relativa mayor a 90% durante los primeros 3 o 4 días y después puede reducirse a menos de 75%. Mientras tanto, para la conservación las condiciones que aumentan la longevidad de las esporas son, bajas temperaturas, exclusión de luz y bajos valores de HR. Por ejemplo, en condiciones de oscuridad a  $8^\circ\text{C}$  y 0% de HR las esporas del entomopatógeno seguían siendo viables después de 635 días, mientras que a  $25^\circ$  y 75,8% de HR la viabilidad de las esporas se reduce entre 28 y 56 días (Clerk y Madelin, 1965).

#### 2.4.8. Compatibilidad con fitosanitarios

Para incluir el uso de *B. bassiana* dentro de un programa de manejo integrado de plagas es necesario conocer la compatibilidad de este entomopatógeno con diferentes productos fitosanitarios para que puedan usarse en conjunto.

La compatibilidad con agroquímicos ha sido evaluada en diferentes ensayos. Por ejemplo, Todorova et al. (1998) realizaron pruebas *in vitro* encontrando que fungicidas como el clorotalonil, mancozeb, maneb, metalayl+mancozeb, tiofanato-metilo y zineb no son compatibles con el aislamiento de *B. bassiana* probado, ya que afectaron significativamente el crecimiento micelial y la esporulación. Por su parte, Castellanos et al. (2011) también evaluaron la compatibilidad del entomopatógeno *in vitro* con los fungicidas tebuconazol, difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin, folpet, óxido cuproso y zineb, resultando todos tóxicos para *B. bassiana* ya que provocaron inhibición en el crecimiento micelial. Rajanikanth et al. (2010) evaluaron el efecto *in vitro* de 4 insecticidas sobre 6 aislamientos de *B. bassiana*, donde concluyeron que ni el imidacloprid ni el spinosad produjeron inhibición del crecimiento ni de la esporulación. Por otro lado, el Indoxacarb provocó inhibición de la esporulación en un porcentaje menor al 4% lo que no provocaría la incompatibilidad entre los dos productos. En contraste este ensayo mostró al clorpirifos como altamente incompatible con todas las cepas inhibiendo la esporulación y viabilidad. En otro estudio realizado por Faturohman et al. (2017) se probó la compatibilidad de *B. bassiana* con 5 insecticidas: cipermetrina, deltametrina, imidacloprid, clorpirifos y tiodicarb. Todos afectaron la germinación conidial del hongo, pero la deltametrina y el imidacloprid fueron los que causaron menor inhibición de la germinación, así como el imidacloprid causó la menor reducción en el crecimiento micelial y en la producción de conidios.

Estos trabajos muestran las diferencias de compatibilidad que puede tener *B. bassiana* frente a diferentes productos químicos, aspecto que es necesario tener en cuenta cuando se diseña una estrategia de manejo integrado de plagas evitando los más inhibitorios o utilizándolos en los momentos donde el agente de control biológico tiene un efecto menor.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se instaló en un invernadero de la Unidad de Entomología de la Facultad de Agronomía en el departamento de Montevideo, Uruguay. Tuvo una duración de 57 días, desde el 7 de febrero al 3 de abril de 2018. El invernadero utilizado, de estructura de aluminio y techo de polietileno, tiene un área de 14 m<sup>2</sup> con un ancho de 2,5 m y un largo de 5,6 m, rodeado por una malla anti áfidos de 50 mesh.

La evaluación se realizó sobre plantas de tomate, durante las etapas de crecimiento vegetativo y reproductivo. La variedad utilizada fue Valouro, perteneciente a la semillera Rijk Zwaan de Holanda. Los individuos de *T. vaporariorum* utilizados, se obtuvieron colectando adultos en hojas de tomate de un cultivo comercial sin historia de aplicación de ACB. El predio está ubicado en la zona de Canelón Chico cuyas coordenadas son latitud -34.695480° y longitud -56.170559°.

El entomopatógeno evaluado fue la cepa BeA perteneciente a la especie *B. bassiana*. Fue seleccionada de una colección de aislados de *Beauveria sp.* pertenecientes a una colección de microorganismos del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía.<sup>1</sup> Para el ensayo se utilizó la dilución donde se logra una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios.mL<sup>-1</sup>.

El experimento se conformó por 8 parcelas, cada parcela consistió en dos plantas de tomate. Las plantas fueron trasplantadas el 7 de febrero con 15 cm de altura en macetas de 4 L con sustrato orgánico. Cada unidad experimental fue de 1,5 m<sup>3</sup> aislada con malla anti áfido de 50 mesh (ver figura 1). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 2 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento (ver anexo 1).

---

<sup>1</sup> Hernández, L. 2018. Aislamiento e identificación del hongo entomopatógeno cepa bea para su registro por sociedad de fomento “Los Arenales” como agente de control biológico de *Trialeurodes vaporariorum* (sin publicar).



Figura 1. Unidades experimentales delimitadas por malla anti áfido

En todas las parcelas se realizaron dos liberaciones de adultos de mosca blanca, la primera a los 9 días posterior al trasplante (DPT) y la segunda a los 15 DPT. Para ello, en el laboratorio de Entomología, se contaron y colocaron 50 moscas blancas en placas de Petri que posteriormente se liberaron dentro de las jaulas. En total, se liberaron 100 adultos por jaula.



Figura 2. Liberación de adultos de *T. vaporariorum* en las unidades experimentales

Los tratamientos evaluados fueron: tratamiento testigo (T) que consistió en la aplicación de agua destilada, y el tratamiento con el ACB (BeA), donde al agua destilada se le agregó  $2 \text{ g.l}^{-1}$  de “Bauveria Arenales”. Se realizaron siete aplicaciones, a los 3, 12, 19, 26, 33 y 40 días posteriores a la primera liberación (DPL). Estas aplicaciones se realizaron al atardecer mediante un equipo de pulverización manual, y con el gasto del mismo volumen de agua destilada en cada jaula.

Se evaluó número de adultos y ninfas de *T. vaporariorum*. Para el conteo de adultos se tomaron las tres hojas superiores totalmente desplegadas de cada planta y para el conteo de ninfas se seleccionaron tres hojas del tercio medio de cada planta. Se realizaron siete conteos de adultos y ninfas previo a las aplicaciones de tratamientos, a los 5, 12, 19, 26, 33, 40 y 47 DPL. En cada monitoreo se comenzó por las jaulas que recibían el tratamiento testigo para evitar la contaminación con el ACB. Luego con los datos obtenidos de los monitoreos se construyeron las gráficas de evolución poblacional de ninfas y adultos de *T. vaporariorum*. Posteriormente se calculó la proporción ninfas/adultos para cada tratamiento y se construyó el gráfico de esta relación.

Finalmente, se calculó la eficacia de control utilizando la fórmula de Abbott (1925):

$$\text{Eficacia} = (X-Y)/X \times 100$$

dónde:

Y es el número de individuos en lote tratado.

X es el número de individuos en lote testigo.

Paralelamente al desarrollo del ensayo, el día 19 de febrero (3 DPL), a partir de la primera aplicación de tratamientos se comenzó a registrar la temperatura y humedad del invernadero mediante un sensor HOBO (H8 RH/Temp Loggers, Onset Computer Company, Bourne, MA, EEUU) colocado a 1m de altura en unas de las jaulas del medio.

No se realizó ninguna aplicación de productos fitosanitarios además de *B. bassiana*, ni se fertilizó durante el desarrollo del cultivo.

El análisis estadístico elegido para analizar las variables número de ninfas y número de adultos fue modelo lineal generalizado mixto (MLGM) asumiendo que la distribución de ambas variables aleatorias es binomial negativa. Para la comparación de medias se usó la prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) ( $\alpha=0,01$ ).

Para la variable proporción de ninfas por adulto el modelo utilizado fue el mismo, pero con distribución gamma y prueba de comparaciones LSD Fisher con p-valor ajustado por sidak. Para este análisis se utilizó el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2018) con la interfaz R.

$$\text{El modelo utilizado fue: } \text{Ln}(\mu_{ij}) = \beta_0 + \tau_i + f_j + (\tau \times f)_{ij}$$

Donde  $\text{Ln}(\mu_{ij})$  es el logaritmo neperiano de la media del i-ésimo tratamiento y la j-ésima fecha de la variable de respuesta,  $\tau_i$  representa el efecto del i-ésimo tratamiento,  $f_j$  es el efecto de la j-ésima fecha, efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y la j-ésima fecha.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. EVOLUCIÓN POBLACIONAL Y EFICACIA DE CONTROL

El cuadro 1 muestra los resultados de la prueba de comparación de medias de los dos tratamientos luego de realizado el análisis estadístico para el número de adultos por jaula y para el número de ninfas por jaula.

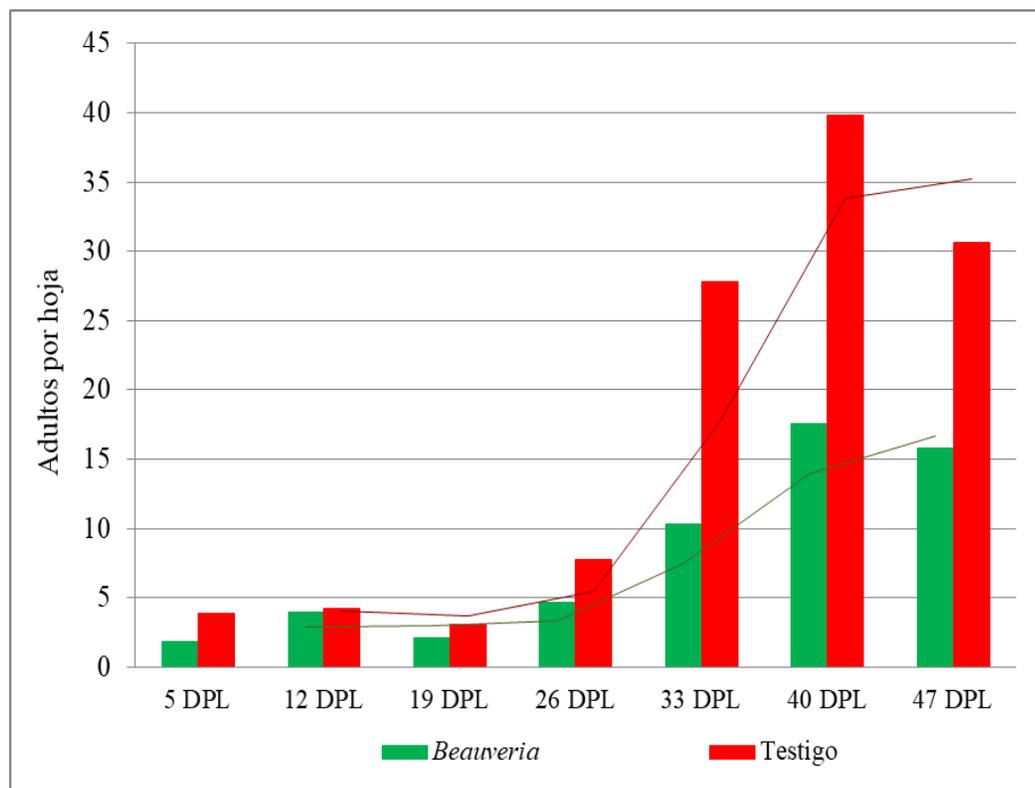
Cuadro 1. Comparación del número promedio de ninfas y adultos de *T. vaporariorum* de todas las fechas para los dos tratamientos

Tratamiento	Media de ninfas/jaula	Media de adultos/jaula
<i>B. bassiana</i> (BeA)	353,45 a	34,48 a
Testigo	614,61 b	62,55 b

Para cada columna, letras diferentes indican diferencias entre medias ( $p < 0,01$ ).

Las medias del tratamiento con el ACB fueron significativamente menores que las medias del tratamiento testigo, tanto para ninfas como para adultos. En ambos casos la diferencia es significativa, siendo los valores del tratamiento testigo cercanos al doble de los valores del tratamiento con *B. bassiana*, resultados que concuerdan con los obtenidos por González (2011) quien estudió el porcentaje de control de *B. bassiana* sobre la mosca blanca *Bemisia tabaci*.

A continuación, se presenta la figura 3 que muestra la gráfica de la evolución del número de adultos, donde se observan los valores promedio de adultos de mosca blanca por hoja según las diferentes fechas de monitoreo.

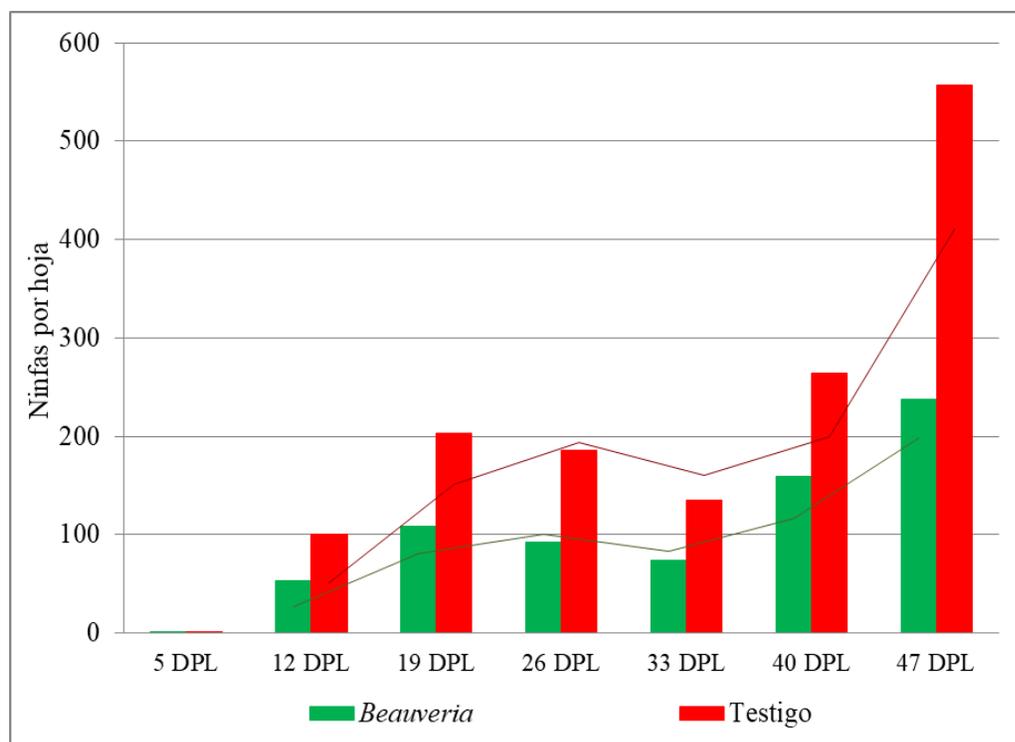


Tratamiento testigo (barras en rojo) y tratamiento con el agente de control biológico “*Beauveria Arenales*” (barras en verde). Líneas de tendencia para el tratamiento testigo (línea roja) y para el tratamiento “*Beauveria Arenales*” (línea verde).

Figura 3. Evolución del número de adultos de *T. vaporariorum* en las diferentes fechas de monitoreo

Se observa que el número de individuos fue superior en el tratamiento testigo en comparación con el número de adultos para el tratamiento con *Beauveria*. Las diferencias se incrementaron a partir de la tercera semana, cuando comienzan a emerger los adultos *T. vaporariorum* correspondientes a la primera generación. A partir de esta etapa, la población en las jaulas testigo aumentó exponencialmente, mientras que el control efectuado por el ACB no permitió un incremento poblacional tan pronunciado en las jaulas inoculadas. Luego de 40 DPL se observa una disminución de individuos para ambos tratamientos, esto se puede explicar debido a que comienzan a morir los adultos de la primera generación.

De igual forma se construyó la gráfica de evolución del número de ninfas (figura 4) que muestra los valores promedio del número de ninfas por hoja en las diferentes fechas de monitoreo.

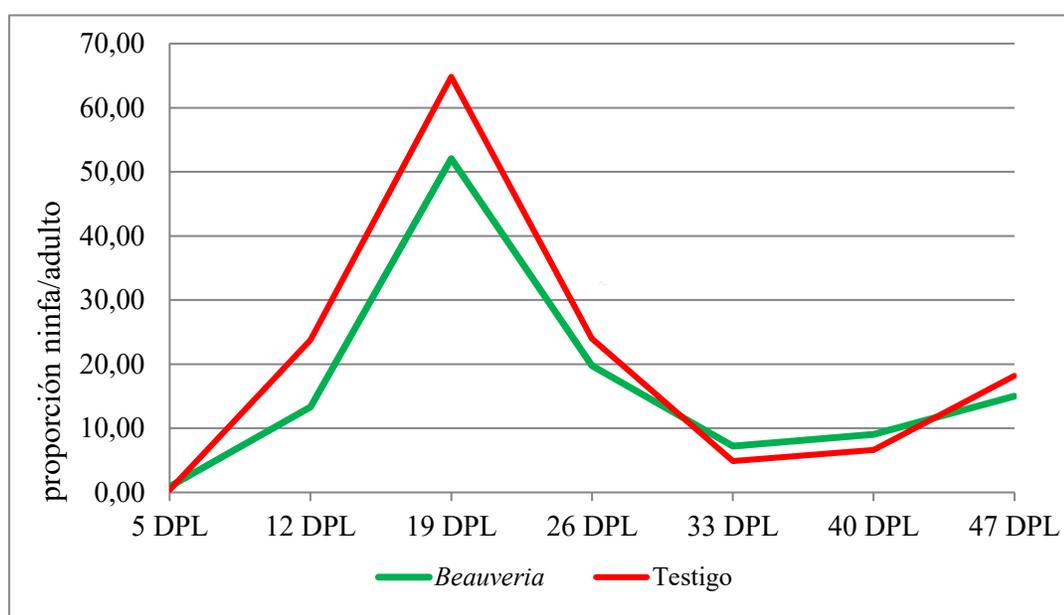


Tratamiento testigo (barras en rojo) Tratamiento con el agente de control biológico “Bauveria Arenales” (barras en verde). Líneas de tendencia para el tratamiento testigo (línea roja) y para el tratamiento “Beauveria Arenales” (línea verde).

Figura 4. Evolución del número de ninfas de *T. vaporariorum* en las diferentes fechas de monitoreo

La cantidad de ninfas fue superior en el tratamiento testigo superando las 550 por hoja en el último monitoreo mientras que en el tratamiento con *Beauveria*, en el mismo momento no alcanzaron las 250 ninfas promedio por hoja. Las diferencias entre la cantidad de ninfas entre los tratamientos se evidenciaron desde el inicio pudiendo explicarse por la menor oviposición producto de la acción del entomopatógeno sobre los adultos liberados. Estas diferencias se incrementan a partir los 40 DPL. En este momento se diferencian más porque empiezan a observarse ninfas de la segunda generación, provenientes de la oviposición de adultos de la primera generación. En las plantas inoculadas disminuyó la cantidad de adultos de la primera generación lo que generó menor oviposición y resultó en menor emergencia de ninfas de la segunda

generación, proceso que no ocurrió en las jaulas testigo. Si bien, la menor oviposición debida a un menor número de adultos por la mortalidad ocasionada por el entomopatógeno podría explicar la diferencia de ninfas entre los dos tratamientos, la acción del ACB podría causar mortalidad de ninfas y constituir otro efecto que explique estos resultados. Este posible efecto se analizó comparando la proporción ninfa/adulto entre tratamientos. Si bien factores como la humedad relativa y la temperatura pueden interferir en la tasa de oviposición y en la emergencia de ninfas haciendo variar esta relación, ambos tratamientos se evaluaron simultáneamente, por lo que se asume que el efecto de estos factores fue similar en ambos tratamientos.



Tratamiento Testigo (línea roja) y tratamiento con *B. bassiana* (línea verde).

Figura 5. Relación ninfa/adulto en las diferentes fechas de monitoreo

Como se observa en la figura 5 la proporción ninfas/adulto fue mayor en el tratamiento testigo en las primeras 4 fechas, lo que podría estar explicando un posible efecto de la *B. bassiana* sobre las ninfas. Pero a partir de ese momento la proporción pasa a ser mayor en el tratamiento con el entomopatógeno, demostrando que la cantidad de ninfas por adulto tiene una evolución variable en el correr del ensayo. Estos resultados no permiten afirmar que existe efecto sobre ninfas por parte del ACB ya que se esperaría una menor proporción en el tratamiento con *B. bassiana* durante todo el ensayo.

Cuadro 2. Comparación del número promedio de la proporción ninfas/adultos de *T. vaporariorum* de todas las fechas para los dos tratamientos

Tratamiento	Media de ninfas/adulto
<i>B. bassiana</i> (BeA)	11,75 a
Testigo	11,18 a

Para cada columna, letras diferentes indican diferencias entre medias ( $p < 0,05$ ).

Al analizar esta relación estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos, lo que vuelve a indicar que la proporción no es menor para el tratamiento con el ACB y no existiría mortalidad de ninfas.

De todos modos, esta evaluación no permite descartar que *B. bassiana* cause mortalidad sobre ninfas dado que la proporción ninfa/adulto puede verse afectada por la mortalidad de adultos causada en el tratamiento con el entomopatógeno. Es decir, hay una cantidad de ninfas generadas a partir de la oviposición de adultos que estaban muertos en el momento del muestreo, afectando así la proporción ninfa/adulto. Otro factor que altera la proporción es el efecto que puede estar causando el ACB sobre la actividad de adultos que todavía no murieron, pudiendo provocar una reducción en la tasa de oviposición del individuo (Torrado et al., 2006). Estos efectos sobre la proporción ninfa/adulto no pueden ser desestimados en este ensayo, siendo necesario para poder estudiar esta mortalidad realizar nuevos trabajos con un diseño diferente que permita medir directamente esta variable. En este sentido, existen numerosos estudios donde se evaluó la mortalidad sobre ninfas. Rodríguez y Del Pozo (2003a) en su trabajo sumergieron hojas de tomate con ninfas de *T. vaporariorum* en una suspensión con *B. bassiana* y observaron una mortalidad de 91%. Por otra parte, Malekan et al. (2015) en su estudio sobre *T. vaporariorum*, luego de asperjar suspensiones con diferentes concentraciones de *B. bassiana* sobre hojas de tomate con ninfas, obtuvieron porcentajes de mortalidad de 63,74 % y 71,68% sobre estadios ninfales jóvenes y viejos respectivamente. Resultados que son similares a los obtenidos por Quesada-Moraga et al. (2006), Sánchez et al. (2010), Quintero (2015), Oreste et al. (2015).

Finalmente se aplicó la fórmula de Abbott para los conteos de ninfas y adultos, lo que determinó una eficacia de control de 48% en el control de adultos y un 57% en el de ninfas.

Estos resultados corroboran los obtenidos por Kim et al. (2013) quienes obtuvieron una mortalidad de 45,3% de adultos de *T. vaporariorum* en experimento similar, usando *B. bassiana*, con la misma concentración, en un invernadero, sobre plantas de tomate. Los valores obtenidos también concuerdan con los planteados por Quintero (2015) y con estudios realizados con el mismo entomopatógeno sobre otros insectos (Sosa y Moscardy 1998, Cárdenas et al. 2007).

Sin embargo, otros estudios realizados bajo condiciones controladas de humedad y temperatura obtuvieron niveles de eficacia superiores, entre el 70-90% sobre ninfas (Sánchez et al. 2010, Ortiz et al. 2011b, Oreste et al. 2015). Esto sugiere que lograr un mejor control del ambiente en las que se desarrolla el cultivo puede aumentar significativamente la eficacia de *B. bassiana*.

Por su parte Quesada-Moraga et al. (2006), evaluaron la efectividad de 25 aislamientos nativos de *B. bassiana* sobre *T. vaporariorum* a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en condiciones de laboratorio. Observaron que todos los aislamientos fueron patogénicos con tasas de mortalidad que variaron entre 3 y 85%.

#### 4.2. CONDICIONES AMBIENTALES REGISTRADAS DURANTE EL ENSAYO

Los datos de temperatura y humedad relevados en el tiempo en que se desarrolló el experimento, se presentan en las figuras 5 y 6 respectivamente.

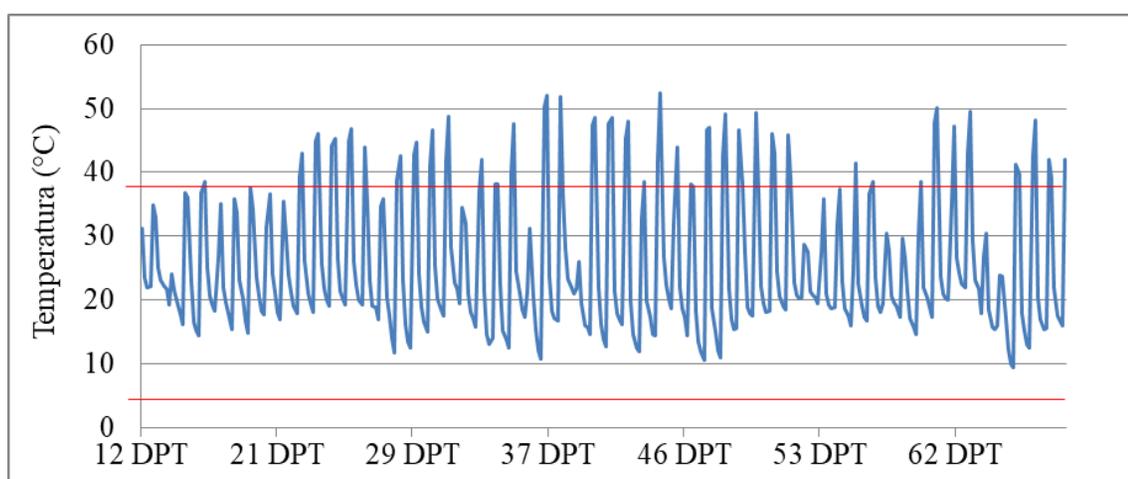


Figura 6. Variación de la temperatura dentro del invernadero durante el ensayo

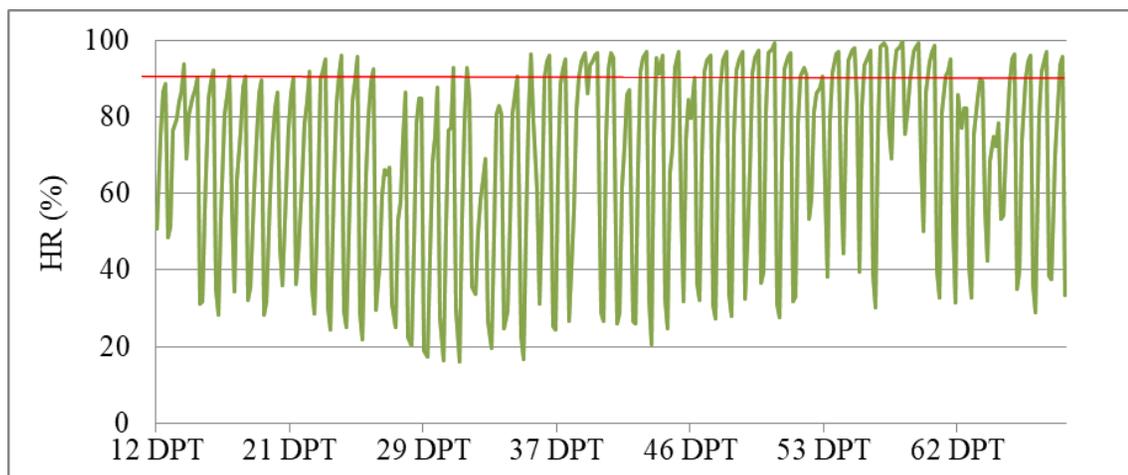


Figura 7. Variación de la humedad relativa dentro del invernadero durante el ensayo

Como indican varios trabajos, el rango de temperatura para el desarrollo de *B. bassiana* es entre 5 y 38°C con un óptimo entre 23 y 28°C, dependiendo del aislamiento (Fargues et al. 1977, Roberts y Campbell 1977, Quesada-Moraga et al. 2006, Godoy et al. 2007). Sin embargo, durante el desarrollo del ensayo la temperatura superó los 38°C en varias ocasiones y entre las 11:00 y las 19:00 fue superior a 25°C la mayor parte de los días.

La humedad relativa promedio fue de 69% y en la figura 4 se puede observar como la misma disminuyó por debajo de 90 % la mayor parte del tiempo del experimento, valor por debajo del cual se inhibe la germinación (Walstad et al. 1970, Roberts y Campbell 1977). De igual forma la baja humedad relativa registrada pudo afectar la diseminación del ACB, dado que bajos valores disminuyen la formación, viabilidad y persistencia de las esporas (Zimmermann, 2007).

A pesar de que las condiciones ambientales para el desarrollo del entomopatógeno fueron adversas durante la mayor parte del tiempo, se logró una eficacia de control elevada. Resultado que posiblemente se explique debido a que el ACB fue aplicado semanalmente. En relación a esto, Kim et al. (2013) demostraron que a mayor cantidad de aplicaciones aumenta la eficacia de control. En su trabajo también encontraron que las condiciones ambientales influyen notoriamente en el porcentaje de control. Lograron una mortalidad de 84,6 % en condiciones de temperatura y humedad controlada, mientras que en el ensayo de campo (sin ambiente controlado) el valor de mortalidad máxima que obtuvieron fue 45,3%.

Si bien este ensayo fue realizado en febrero para lograr una adecuada instalación y proliferación de *T. vaporariorum*, no fueron los meses propicios para el desarrollo de *B. bassiana*. Posiblemente si el ensayo se hubiese realizado en los meses posteriores, la eficacia del entomopatógeno aumentaría, teniendo en cuenta que por lo

general son meses menos cálidos y con mayor humedad. Del mismo modo podría pensarse que la aplicación de este ACB a inicios de primavera, cuando la mosca blanca empieza a desarrollarse y aumentar sus poblaciones, aumentaría el efecto del hongo logrando un mayor control.

Otro factor que puede incrementar el porcentaje de control, es la concentración del ACB. Según Malekan et al. (2013), Quintero (2015) la mortalidad de *T. vaporariorum* varía a diferentes concentraciones de *B. bassiana*. En sus trabajos demostraron que aumentar la concentración de  $1 \times 10^3$  a  $1 \times 10^6$  y de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  aumenta la mortalidad.

#### 4.3. DETERMINACIÓN DE ESTADOS A EVALUAR

Los resultados de eficacia de control obtenidos para ninfas y adultos resultaron similares. En este sentido, podría pensarse que en evaluaciones que no sean con fines de investigación como programas de monitoreo de plagas, podría evaluarse un solo estado. Existen varios trabajos que miden esta variable sobre uno de los dos. En el caso de ensayos con condiciones controladas se mide por lo general el efecto sobre ninfas (Rodríguez y Del Pozo 2003a, Sánchez et al. 2010, Ortiz et al. 2011b, Oreste et al. 2015), mientras que en ensayos de campo se mide sobre adultos (González 2011, Kim et al. 2013).

#### 4.4. PERSPECTIVAS

Teniendo en cuenta que el uso de la cepa BeA es una herramienta eficaz en el control de *Trialeurodes vaporariorum*, podría ser interesante seleccionar nuevos aislamientos, a partir de la aplicación de la cepa BeA, que tengan mejor adaptabilidad en condiciones de temperaturas altas y baja humedad relativa donde la mosca blanca se desarrolla fácilmente.

Otro aspecto interesante a estudiar para optimizar el uso de este ACB es evaluar las condiciones de aplicación más adecuadas. En este sentido podrían probarse la combinación con diferentes adherentes.

Si bien los resultados obtenidos muestran que la cepa BeA representa una herramienta promisorio para el control de mosca blanca en sistemas productivos, se observó una sobrevivencia de individuos de *T. vaporariorum* en el tratamiento con *B. bassiana*, que posiblemente se incrementen en siguientes generaciones. Se podría analizar la combinación de esta estrategia con otras como la aplicación de fitosanitarios u otros organismos de control biológico. En estos casos sería importante evaluar la compatibilidad y si existe un aumento de la eficacia de control.

Finalmente es necesario estudiar el efecto que puede tener este aislamiento sobre organismos no objetivo.

## 5. CONCLUSIONES

La cepa BeA perteneciente a la especie *B. bassiana* es eficaz en el control de *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate protegido aún con condiciones ambientales desfavorables. Su inclusión en programas de manejo integrado de plagas permite aumentar el control sobre mosca blanca y disminuir la aplicación constante de insecticidas.

## 6. RESUMEN

El tomate representa uno de los principales cultivos hortícolas dentro de la producción nacional. Se realiza en su mayoría dentro de invernaderos donde la mosca blanca (*T. vaporariorum*) es una de las principales plagas. Actualmente la estrategia utilizada para combatirla se basa en el control químico. Las características del insecto favorecen el desarrollo de resistencia a insecticidas haciéndolos cada vez menos eficaces. En esta coyuntura el control biológico representa una alternativa prometedora. Los hongos entomopatógenos han sido los organismos más aislados de moscas blancas y particularmente la especie *B. bassiana* es una de las más estudiadas para combatirla. Este trabajo planteó evaluar la eficacia de una formulación comercial de la cepa BeA perteneciente a *B. bassiana*. Se realizó un ensayo de campo, durante 57 días, dentro de un invernadero con ocho unidades experimentales (jaulas) y dos plantas de tomate por unidad. En cada jaula se liberaron cien adultos de *T. vaporariorum* colectados de un predio comercial sin antecedentes de uso de control biológico. Se rociaron semanalmente cuatro unidades experimentales con una suspensión de cepa BeA (tratamiento) y las otras cuatro con agua destilada (testigo). El ensayo demostró que el producto en estudio posee una eficacia de control de 48% en adultos y 57% en ninfas. Se registró una elevada eficacia a pesar de que las condiciones ambientales no fueron propicias para BeA (alta temperatura y baja humedad relativa). Posiblemente este efecto se haya contrarrestado con las aplicaciones frecuentes y el uso de altas concentraciones. Estos resultados posicionan al producto como potencial agente de control biológico para incorporar dentro del manejo integrado de plagas en sistemas productivos. Esta herramienta puede contribuir a lograr un control más eficaz de la mosca blanca de los invernaderos con menor impacto negativo en el ambiente.

Palabras clave: *Trialeurodes vaporariorum*; Mosca blanca; Entomopatógenos; *Beauveria bassiana*; BeA.

## 7. SUMMARY

Tomato is one of the main horticultural crops in national production. It is mostly carried out in greenhouses in which white fly (*T. vaporariorum*) is one of the main pests. Chemical control is currently the most used strategy. The insect's own characteristics have led to the appearance of resistance to insecticides, making them less efficient. In this context, biological control represents a promising alternative. White fly isolated antagonists have generally been entomopathogenic fungi, and particularly *Beauveria bassiana* is one of the most studied species to combat it. The aim of this work was to evaluate the efficiency of a commercial formulation of a *B. bassiana* strain called BeA. A field trial was carried out during 57 days in a greenhouse with eight experimental units (cages) and two tomato plants per unit. In each cage one hundred adults of *T. vaporariorum* collected from a commercial farm with no history of biological control were released. Weekly four experimental units were sprayed with a suspension of BeA strain (treatment) and the other four were sprayed with distilled water (control). Results showed that the studied BeA strain had a control efficiency of 48% in adults and 57% in nymphs. High efficiency was recorded despite the fact that the environmental conditions were not favorable for BeA (high temperature and low relative humidity). This effect was possibly counteracted by frequent applications and the use of high concentration of the product. These results make the product a potential biological control agent to incorporate into integrated pest management of productive systems. This tool can contribute to more effective control of whitefly of greenhouses, with less negative impact on the environment.

Key words: *Trialeurodes vaporariorum*; White fly; Entomopathogens; *Beauveria bassiana*; BeA.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18(2):265 - 267.
2. Abidin, A. F.; Ekowati, N.; Ratnaningtyas, N. I. 2017. Insecticide compatibility to the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Scripta Biologica*. 4(4):273 - 279.
3. Alice J.; Sujeetha R. P.; Sahayaraj K. 2014. Role of Entomopathogenic fungus in pest management. In: Sahayaraj, K. ed. Basic and applied aspects of biopesticides. Dordrecht, Springer. pp. 31 - 46
4. Basso, C.; Franco, J.; Grille, G.; Pascal, C. 2001. Distribución espacial de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en plantas de tomate. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 27:475 - 487.
5. Bentancourt, C. M.; Scatoni, I. B. 2010. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. 3a. ed. rev. y ampl. Montevideo, Hemisferio Sur. 582 p.
6. Berlanga, A.; Hernández, V. 2002. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*. *Manejo Integrado de Plagas*. no. 63:51 - 33.
7. Bi, J. L.; Toscano, N. C. 2007. Current status of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, susceptibility to neonicotinoid and conventional insecticides on strawberries in southern California. *Pest Management Science* 63(8):747-752.
8. Braga, G.; Rangel, D.; Fenández, É.; Flint, S.; Roberts, D. 2015. Molecular and physiological effects of environmental UV radiation on fungal conidia. *Current Genetics*. 61(3):405 - 425.
9. Burnett, T. 1949. The effect of temperature on an insect host-parasite population. *Ecology*. 30:113 - 134.
10. Byrne, D.; Bellows, T. 1991. Whitefly Biology. *Annual Review of Entomology*. 36(1):431-457.
11. Cárdenas, Á.; Villalba, D.; Montoya, Bustillo, Á.; E. Góngora, C. 2007. Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Cenicafé*. 58(4):293-303.

12. Castellanos, L.; Muiño, B. L.; Lorenzo, M. E.; Rodríguez, A.; Gómez, M. 2011. Efecto in vitro de siete fungicidas químicos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. Fitosanidad. 15(1):31 - 38.
13. Castresana, J. 1989. La mosca blanca de los invernaderos. Horticultura. 44:48 - 59.
14. Castro, M.; Martínez, J.; Dotor, M. 2016. Evaluación del efecto regulador de *Chrysoperla externa* sobre mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en tomate. Revista de Ciencias Agrícolas. 33(2):43-54.
15. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. 2018. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* Y *Metarhizium anisopliae* con *Chrysoperla externa* depredador de *Trialeurodes vaporariorum*. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences. 35(1):38-48.
16. Clerk, G.; Madelin, M. 1965. The longevity of conidia of three insect-parasitizing hyphomycetes. Transactions of the British Mycological Society. 48(2):193 - 209.
17. Cotes, A. 2018. Introducción: el concepto de control biológico y sus premisas fundamentales. In: Cotes, A. M. ed. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros. Mosquera, Agrosavia. pp. 40 - 54.
18. Cui, X.; Wan, F.; Xie, M.; Liu, T. 2008. Effects of heat shock on survival and reproduction of two whitefly species, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* Biotyp B. Journal of Insect Science. 8 (24):1 - 10.
19. DeBach, P. 1964. Biological control of insect pests and weeds. New York, Reinhold. 844 p.
20. Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. 2018. InfoStat versión 2018. (en línea). Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba. FCA. Grupo InfoStat. s.p. Consultado 22 jun. 2018. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
21. Dogliotti, S. 2018. Teórico manejo de los cultivos de tomate y morrón. (en línea). Montevideo, Facultad de Agronomía. 45 p. Consultado 09 dic. 2016. Disponible en [http://agros.fagro.edu.uy/moodle/pluginfile.php/24599/mod\\_resource/content/1/Manejo%20de%20los%20cultivos%20de%20Tomate%20y%20Morr%C3%B3n.pdf](http://agros.fagro.edu.uy/moodle/pluginfile.php/24599/mod_resource/content/1/Manejo%20de%20los%20cultivos%20de%20Tomate%20y%20Morr%C3%B3n.pdf)

22. Dorst, H. J., Van Huijberts, N.; Bos, L. 1983. Yellow of glasshouse vegetables transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. Netherlands Journal of Pathology. 89:347 - 386.
23. Edgington, S.; Segura, H.; De La Rosa, W.; Williams, T. 2000. Photoprotection of *Beauveria bassiana*: Testing simple formulations for control of the coffee berry borer. International Journal of Pest Management. 46(3):169-176.
24. Eilenberg, J.; Hajek, A.; Lomer, C. 2001. Suggestion for unifying the terminology in biological control. BioControl. 46(4):387 - 400.
25. Estrada, M.; Pavón, J. 2012. Uso de hongos entomopatógenos para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en diferentes especies de plantas hospederas bajo condiciones de invernadero. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agrarian. Facultad de Agronomía. 31 p.
26. Fargues, J.; Goettel, S.; Smits, N.; Quedraogo, A.; Rougier, M. 1977. Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. Mycología. 89(3):383 - 392.
27. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Vidal, C.; Lacey L. A.; Lomer, C. J.; Rougier, M. 1996. Variability in susceptibility to simulated sunlight of conidia among isolates of entomopathogenic Hyphomycetes. Mycopathologia. 135(3):171 - 181.
28. Faturohman, A; Ekowati, N.; Ina, N. 2017. Insecticide Compatibility to the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Scripta Biologica. 4(4):273 – 279.
29. Fernández, É.; Rangel, D.; Morales, Á.; Bittencourt, V.; Roberts, D. 2007. Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. Isolates. Journal of Invertebrate Pathology. 96(3):237 - 243.
30. Fernández, M. 2017. Diversidad, dinámica poblacional y ecología de hongos entomopatógenos del suelo y filoplano de sistemas agroforestales mediterráneos y efecto de la radiación uv-b sobre su virulencia. Tesis Dra. Ingeniera de Montes. Córdoba, Argentina. Universidad de Córdoba. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. 77 p.
31. Freng, M. G.; Poprawski, T. J.; Khachatourians, G. G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology. 4(1):3 - 34.

32. \_\_\_\_\_.; Chen, B.; Ying, S. 2004. Trials of *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* and imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera : Aleyrodidae) on greenhouse grown lettuce. *Biocontrol Science and Technology*. 14(6):37 - 41.
33. Gandarilla, F. 2012. Evaluación de aislados nativos de hongos entomopatógenos de zonas citrícolas sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Dra. en Ciencias con Especialidad en Biotecnología. Ciudad Universitaria, México. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. 155 p.
34. Godoy, J. C.; Valera R. E.; Guédez, C.; Cañizalez, L. M.; Castillo, C. 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia*. 24(3):415 - 425.
35. Goettel, M. S.; Poprawski, J. D.; Vandenberg, Z.; Li, Z.; Roberts D. W. 1990. Safety to non target invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M.; Lacey, L.; Davison, E. W. eds. *Safety of microbial insecticides*. Cambridge, CRC. pp. 209 - 231.
36. González, A. O. 2011. Evaluación de entomopatógenos para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci* genn.) en tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.). Tesis Ing. Agr. Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 51 p.
37. Gorman, K.; Devine, G.; Bennison, J.; Coussons, P.; Punchard, N.; Denholm, I.; 2007. Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science*. 63(6):555 - 558.
38. Gottwald, T. R.; Tedders, W. L. 1984. Colonization, Transmission, and Longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hypomycetes) on Pecan Weevil Larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the Soil. *Environmental Entomology*. 13(2):557 - 560.
39. Grille, G. 2011. Preferencia y desarrollo de *Encarsia formosa* y *Encarsia lycopersici* (Hymenoptera, Aphelinidae) con relación a los instares ninfales de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera, Aleyrodidae). Tesis Maestría en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 59 p.
40. Inglis, G. D.; Johnson, D. L.; Goettel, M. S. 1997. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes):

Sympodulosporae) of grasshoppers under field conditions. *Environmental Entomology*. 26(2):400 - 409.

41. \_\_\_\_\_.; Goettel, M. S.; Butt, T. M.; Strasser H. 2001. Use of Hyphomycetous fungi for managing insect pest. *In*: Butt, T. M.; Jackson, C.; Magan, N. eds. *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. Wallingford, CABI. pp. 23 - 69.
42. Karatolos, N.; Denholm, I.; Williamson, M.; Nauen, R.; Gorman, K. 2010. Incidence and characterisation of resistance to neonicotinoid insecticides and pymetrozine in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science*. 66(12):1304 - 1307.
43. \_\_\_\_\_.; Gorman, K.; Williamson, M. S.; Denholm, I. 2012. Mutations in the sodium channel associated with pyrethroid resistance in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. *Pest Management Science*. 68(6):834 - 838.
44. Kim, C. S.; Lee, J. B.; Kim, B. S.; Nam, Y. H.; Shin, K. S.; Kim, J. W.; Kim, J.E.; Kwon, G. S. 2013. A technique for the prevention of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) using the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* M130. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24(1):1 - 7.
45. Landa, Z.; Osborne, L. S. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *The Florida Entomologist*. 75(4):456 - 471.
46. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Lopez, F.; Eyal, J. 1994. Standard in vivo bioassay to assess Entomogenous fungi on whiteflies. *Biological Control*. 4:341 - 350.
47. Lecuona, R; Papierok, B.; Riba, G. 1996. Hongos entomopat6genos. *In*: Lecuona, R. ed. *Microorganismos pat6genos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. Buenos Aires, Mariano. pp. 35 - 60.
48. Li, Z.; Li, C.; Huang, B.; Fan, M. 2001. Discovery and demonstration of the teleomorph of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus. *Chinese Science Bulletin*. 46(9):751 - 753.
49. Liu, H.-Y.; Wisler, G. C.; Duffus, J. E. 2000. Particle lengths of whitefly-transmitted crinivirus. *Plant Diseases*. 84(7):803 - 805.

50. López, J. C.; Rivera, A.; Bustillo, A.; Chavez, B. 1995. Persistencia de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en el suelo con el transcurso del tiempo. Revista Colombiana de Entomología. 21(4):173 - 176.
51. Malekan, N.; Hatami, B.; Ebadi, R.; Akhavan, A.; Abdul, A.; Radjabi, R. 2013. Effect of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (bals.) and *Lecanicillium muscarium* (petch) on *Trialeurodes vaporariorum* westwood. Indian Journal of Entomology. 75(2):95 - 98.
52. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Radjabi, R. 2015. Evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* on different nymphal stages of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in greenhouse conditions. Biharean Biologist. 9(2):108 - 112.
53. Meekes, E. 2001. Entomopathogenic fungi against whiteflies: tritrophic interactions between *Aschersonia* species, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia argentifolii*, and glasshouse crops. Thesis PhD. Wageningen, The Netherlands. Wageningen Universiteit. 179 p.
54. Méndez, A. 2008. Efecto del hongo *Beauveria bassiana* B. en el control del gorgojo (*Euscepes postfasciatus* F.) del camote (*Ipomoea batata* L.). Tesis Ing. Agr. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. 66 p.
55. MGAP. DIEA; MGAP. DIGEGRA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, UY; Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección General de la Granja, UY). 2017. Encuesta hortícola 2016-2015. (en línea). Montevideo. 15 p. Consultado may. 2018. Disponible en [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/texto\\_publicacion\\_horticolas\\_2015.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/texto_publicacion_horticolas_2015.pdf).
56. Narayanasamy, P. 2013. Biological management of diseases of crops. (en línea). Dordrecht, Springer. 364 p. Consultado 21 may. 2019. Disponible en [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6377-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6377-7_1)
57. Nechols, J. R.; Tauber, M. J. 1977. Age-specific interaction between the greenhouse whitefly and *Encarsia formosa*: Influence of the parasite on host development. Environmental Entomology. 6:207 - 210.
58. Oreste, M.; Bubici, G.; Poliseno, M.; Tarasco, E. 2015. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum*-*Encarsia formosa* system. Journal of Pest Science. 89(1):153-160.

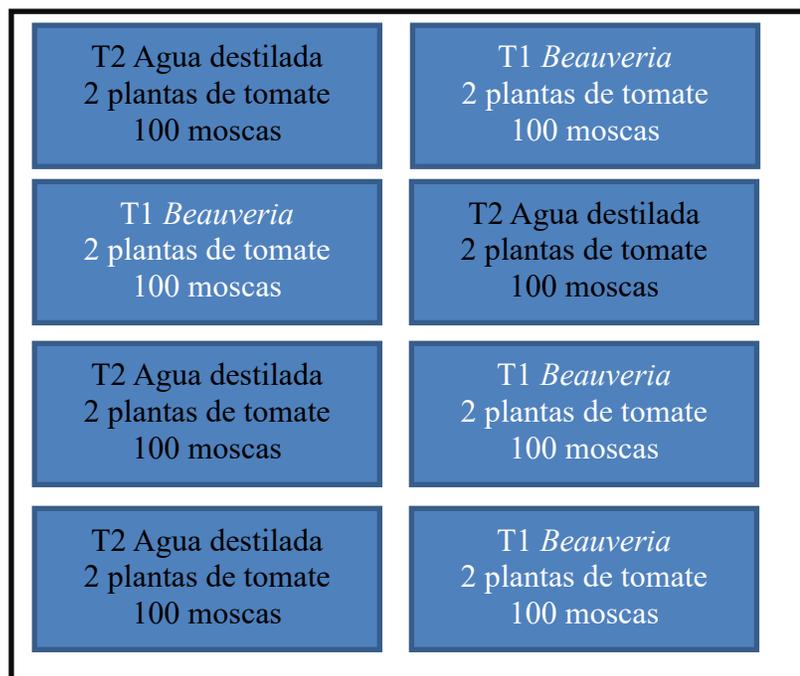
59. Ortiz, M.; Alatorre, R.; Valdivia, R.; Ortiz, A.; Medina, R.; Alejo, G. 2011a. Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Biociencias*. 1(2):42 - 53.
60. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Ortega, L.; Ortiz, A.; Alvarado, S.; Ibarra, L.; Santillan, C. 2011b. Hongos entomopatógenos para el control de mosquitas blancas (*Bemisia tabaci* Gennadius, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring y *Trialeurodes vaporariorum* Westwood). *Naturaleza y Desarrollo*. 9(2):5 - 14.
61. Perrachón, J. P. 2003. Evaluación de dos dosis de *Encarsia formosa* (Gahan) (himenoptera, aphelinidae) y desarrollo de un plan de muestreo secuencial para estimar la densidad de pupas sanas y parasitadas de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (homoptera, aleyrididae), en tomate bajo invernáculo. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 39 p.
62. Quesada-Moraga, E.; Maranhao, E. A. A.; Valverde-García, P.; Santiago-Álvarez, C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control*. 36(3):274 - 287.
63. Quintero, F. 2015. Efectividad de *Beauveria bassiana* sobre mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), a nivel de Invernadero. Tesis Ing. Agr. Parasitólogo. Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 50 p.
64. Rajanikanth, P.; Subbaratnam, G. V; Rahaman, S. J. 2010. Compatibility of insecticides with *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin for use against *Spodoptera litura* Fabricius. *Journal of Biological Control*. 24(3):238 - 243.
65. Rehner, S. A.; Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*. 97(1):84 - 98.
66. Roberts, D. W.; Campbell, A. S. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. *Entomological Society of America*. 10(3):19 - 76.
67. Rodríguez, A.; Del Pozo, E. M. 2003a. Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 29(2):211 - 218.

68. \_\_\_\_\_. 2003b. Una alternativa con hongos entomopatógenos nativos para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (West.), en el cultivo de tomate en invernáculos, en Uruguay. Tesis Dr. en Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. Universidad Agraria de la Habana. Facultad de Agronomía. 104 p.
69. \_\_\_\_\_. 2005. Posibilidades de uso de hongos entomopatógenos nativos para el control de plagas en la agricultura y ganadería en Uruguay. *Agrociencia* (Uruguay). 9 (1-2):357 - 367.
70. Rodríguez, I.; Morales, H.; Cardona, C. 2003. Líneas base, dosis, diagnóstico y medición periódica de resistencia a insecticidas en poblaciones de adultos e inmaduros de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. 29(1):21 - 27.
71. Rubio, L.; Gonzáles, M.; Arruabarrena, A.; Maeso D.; Boiteux, L. 2013. Virus emergentes transmitidos por moscas blancas en cultivos de tomate. In: Jornada de Divulgación (2013, Las Brujas, Canelones). Resultados experimentales en sanidad de tomate y morrón. Montevideo, INIA. pp. 45-49 (Actividades de Difusión no. 723).
72. Sánchez, S.; Lara, J.; Medina, R. 2010. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in saltillo, México, and their virulence towards thrips and whiteflies. *Journal of Insect Science*. 11(1):1 - 10.
73. Sosa, D.; Moscardy, F. 1998. Laboratory and Field Studies on the Infection of Stink Bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, and *Euschistus heros* (Hemiptera : Pentatomidae ) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*. 71(2):115 - 120.
74. Soto, A.; Apablaza, J. Norero, E. P. 1999. Requerimientos térmicos de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) en tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Ciencia e Investigación Agraria* (Chile). 26 (1):37 - 42.
75. Todorova, S. I.; Coderre, D.; Duchesne, R. M.; Côté, J. C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. *Environmental Entomology*. 27(2):427 - 433.
76. Torrado, E.; Montoya, J.; Valencia, E. 2006. Sublethal effects of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) under laboratory conditions. *Mycopathologia*. 162(6):411 - 419.

77. Van Lenteren, J. C.; Van Roemund, H. J. W.; Sutterlin, S. 1996. Biological control of Greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the parasitoid *Encarsia formosa*: how does it work?. *Biological Control*. 6:1 - 10.
78. Vestergaard, S.; Cherry, A.; Keller, S.; Goettel, M. 2003. Safety of hyphomycete fungi as microbial control agents. (en línea) In: Hokkanen, H.; Hajet, A. eds. *Environmental impacts of microbial insecticides: need and methods for risk assessment*. Dordrecht, Springer. v.1, pp. 35 - 62. Consultado 24 may. 2019. Disponible en <https://doi.org/10.1007/978-94-017-1441-9>
79. Vet, L. E. M.; Lenteren, J. C. van; Woets, J. 1980. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). IX – A review of the biological control of the greenhouse whitefly with suggestions for future research. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*. 89:442 - 454.
80. Walstad, J. D.; Anderson, R. F.; Stambaugh W.J. 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 16(2):221 - 226.
81. Wan, H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: insect-cuticle degrading enzymes and development of a new selection marker for fungal transformation. Dissertation der Doktorwürde der Naturwissenschaftlich-Mathematischen. Heidelberg, Germany. Ruprecht Karls Universität. Fakultät für Naturwissenschaften und Mathematik. 137 p.
82. Wang, C.; Fan, M.; Li, Z.; Butt, T. M. 2004. Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in southeast China. *Journal of Applied Microbiology*. 96(4):861 - 870.
83. Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*. 17(6):553 - 596.

## 9. ANEXOS

Anexo 1. Diagrama ilustrativo del ensayo mostrando la distribución de los tratamientos



Anexo 2. Resultados del monitoreo de adultos de *T. vaporariorum* (B = *Beauveria*, testigo)

	<b>jaula</b>	<b>22/2/2018</b>	<b>1/3/2018</b>	<b>8/3/2018</b>	<b>15/3/2018</b>	<b>22/3/2018</b>	<b>29/3/2018</b>	<b>5/4/2018</b>
B	3	15	25	11	68	85	117	98
	5	12	27	11	7	37	79	90
	7	13	19	14	27	74	146	95
	8	5	24	14	10	52	80	96
T	1	15	20	12	41	122	201	212
	2	15	20	17	32	142	211	179
	4	39	27	31	98	292	254	118
	6	24	34	15	15	111	289	226

Anexo 3. Resultados del monitoreo de ninfas de *T. vaporariorum* (B = *Beauveria*, T = testigo)

	<b>jaula</b>	<b>22/2/2018</b>	<b>1/3/2018</b>	<b>8/3/2018</b>	<b>15/3/2018</b>	<b>22/3/2018</b>	<b>29/3/2018</b>	<b>5/4/2018</b>
B	3	2	528	913	568	436	1543	1994
	5	21	188	249	450	455	605	1263
	7	14	312	819	630	390	953	1599
	8	3	238	622	566	504	708	834
T	1	6	667	994	1166	734	1200	2258
	2	12	375	619	678	659	1261	2775
	4	17	801	2044	1564	1046	3108	5379
	6	3	558	1205	1053	805	761	2945

Anexo 4. Cronograma de actividades del ensayo

DPT	DPL	Actividad	Fecha
0		Trasplante de tomate	7/2/18
9	0	Liberación de adultos	16/2/18
12	3	1ª. Pulverización con los tratamientos	19/2/18
15	5	1º. Conteo de ninfas y adultos	22/2/18
15	5	Segunda liberación de adultos	22/2/18
22	12	2º. Conteo de ninfas y adultos	1/3/18
22	12	2ª. Pulverización con los tratamientos	1/3/18
29	19	3º. Conteo de ninfas y adultos	8/3/18
29	19	3ª. Pulverización con los tratamientos	8/3/18
36	26	4º. Conteo de ninfas y adultos	15/3/18
36	26	4ª. Pulverización con los tratamientos	15/3/18
43	33	5º. Conteo de ninfas y adultos	22/3/18
43	33	5ª. Pulverización con los tratamientos	22/3/18
50	40	6º. Conteo de ninfas y adultos	29/3/18
50	40	6ª. Pulverización con los tratamientos	29/3/18
57	47	7º. Conteo de ninfas y adultos	5/4/18

Anexo 5. Adultos de mosca colonizados por la cepa BeA de *B. bassiana*

