

82
2ej.

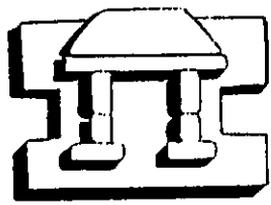


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

SELECCION DE *Beauveria bassiana* (BALS) VUILLEMIN,
PATOGENO SOBRE LA MOSCA BLANCA *Trialeurodes*
vaporariorum WESTWOOD (HOMOPTERA:
ALEYRODIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
MARIA CONSTANTINA NICOLAS NICOLAS



IZTACALA LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEXICO

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

238947



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Patología de Insectos del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados bajo la asesoría de la Dra. Raquel Alatorre Rosas.

Parábola de la Educación

Iba un hombre caminando por el desierto cuando oyó una voz que le dijo:

- Levanta unos guijarros, mételos a tu bolsillo y mañana te sentirás a la vez triste y contento.

Aquel hombre obedeció. Se inclinó, recogió un puñado de guijarros y se los metió en el bolsillo.

A la mañana siguiente, vió que los guijarros se habían convertido en diamantes, rubíes y esmeraldas.

Y se sintió feliz y triste.

Feliz, por haber recogido los guijarros, triste, por no haber recogido más.

Lo mismo ocurre con la educación.

William Cunningham

Quien una idea no entiende
la contradice u objeta
pero aquel que la comprenda
la completa.

EL PRESENTE TRABAJO ESTA DEDICADO A:

Mis padres, Alvaro y Constantina, quienes con sus sabios consejos, amor, comprensión y apoyo infinito, he podido realizar una de mis metas. ¡ Mil gracias !

Mis hermanos, Alfredo, Adriana, Alvaro, Jorge y Guillermo, por ser la familia que son y por su cariño.

Mi sobina Irina a quien quiero mucho.

Mis amigos Andrea, Rocio, Sofia, Alberto y Anita, por su amistad, confianza y apoyo.

AGRADECIMIENTOS.

A la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, en especial a mis profesores; quienes contribuyeron en mi formación profesional.

Muy especialmente a la Dra. Raquel Alatorre Rosas por su dirección, apoyo y confianza en la presente investigación.

Al Biol. Ariel W. Guzmán Franco, por su apoyo, enseñanzas, consejos y amistad durante el desarrollo de esta investigación.

A mis sinodales; Biol. Sergio Stanford C., Biol. Marcela P. Ibarra G., Biol. Ana Lilia Muñoz V. y M. en C. Angel Durán D., por las sugerencias hechas al revisar este trabajo.

A Carmen, Mario, Daniel, Claudia y Natalia por la amistad y el apoyo que me brindaron en el laboratorio de Patología de Insectos.

Y a todas las personas que de alguna manera me brindaron su ayuda, Gracias.

CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS.....	ix
INDICE DE CUADROS.....	x
RESUMEN.....	xi
1.INTRODUCCION.....	1
2.OBJETIVOS Y JUSTIFICACION.....	3
3. REVISION DE LITERATURA.....	4
3.1 La mosca blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood).....	4
3.2 Ubicación taxonómica.....	5
3.2.1 Descripción de la mosca blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood).....	5
3.2.2 Biología y ciclo de vida.....	7
3.2.3 Daños.....	8
3.2.4 Distribución e importancia económica.....	9
3.3 Control de <i>T. vaporariorum</i>	10
3.3.1 Control químico de <i>Trialeurodes vaporariorom</i>	10
3.3.2 Control biológico de <i>T.vaporariorum</i>	11
3.4 Hongos Entomopatógenos.....	12

3.5 Hongos asociados a <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	12
3.6 El hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	
(Balsamo) Vuillemin.....	13
3.6.1 Clasificación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i>	13
3.6.2 Características biológicas de <i>Beauveria bassiana</i>	15
3.6.3 Mecanismos de penetración de los hongos.....	15
3.6.4 Patogenicidad de <i>B. bassiana</i>	19
3.6.5 Hospederos de <i>Beauveria bassiana</i>	19
3.6.6 Condiciones climáticas favorables para el desarrollo de <i>B. bassiana</i>	21
3.7 Bioensayo con entomopatógenos.....	21
4. MATERIALES Y METODOS.....	24
4.1 Obtención y cría de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> bajo condiciones de invernadero.....	24
4.2 Origen de las cepas del hongo.....	25
4.2.1 Propagación de las cepas de <i>Beauveria</i>	25
4.2.2 Concentración de conidios en suspensión.....	26
4.3 Susceptibilidad de <i>T. vaporariorum</i> a <i>B. bassiana</i>	27
4.3.1 Pruebas de patogenicidad.....	27
4.4 Bioensayo.....	28

4.4.1 Determinación de la concentración letal media (CL ₅₀).....	28
4.4.2 Análisis estadísticos.....	29
5. RESULTADOS Y DISCUSION.....	30
5.1 Cría de la mosca blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	30
5.2 Susceptibilidad de <i>T. vaporariorum</i> a <i>B. bassiana</i>	30
5.2.1 Patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> sobre <i>Trialeurodes</i> <i>vaporariorum</i>	30
5.2.2 Diferencias en mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> después de ser tratada con <i>B. bassiana</i>	31
5.2.3 Concentración letal media (CL ₅₀).....	34
6. CONCLUSIONES.....	44
7. BIBLIOGRAFIA.....	45
8. APENDICE.....	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>T. vaporariorum</i> (Westwood).....	6
Figura 2. Representación esquemática del proceso de infección de <i>B. bassiana</i> en una sección de la cutícula del insecto.....	17
Figura 3. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada sobre el 4to. estadio ninfal de <i>T. vaporariorum</i> causada por las siete cepas más patogénicas de <i>B. bassiana</i>	33
Figura 4. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al 6to. día después de la aplicación de <i>B. bassiana</i> a una concentración de 1×10^8 con/ml. sobre el 4to. estadio ninfal de <i>T. vaporariorum</i>	35
Figura 5. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al 4to. día después de la aplicación de <i>B. bassiana</i> (1×10^8 con/ml.) sobre el 4to. estadio ninfal de <i>T. vaporariorum</i>	38
Figura 6. Líneas de respuesta concentración - mortalidad observadas con cuatro cepas de <i>B. bassiana</i> sobre el 4to. estadio ninfal de <i>T. vaporariorum</i>	42
Figura 7. Líneas de respuesta concentración - mortalidad observadas con tres cepas de <i>B. bassiana</i> sobre el 4to. estadio ninfal de <i>T. vaporariorum</i>	43

INDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Registro de hongos entomopatógenos asociados a <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	13
Cuadro 2. Insectos de importancia económica susceptibles al ataque de <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin.....	20
Cuadro 3. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada del 4to. estadio ninfal de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> después de la aplicación de catorce cepas de <i>B. bassiana</i>	32
Cuadro 4. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al sexto día después de la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> sobre el 4to. estadio ninfal de <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	34
Cuadro 5. Porcentajes promedio de la mortalidad de <i>T. vaporariorum</i> tratada con diferentes concentraciones de <i>Beauveria bassiana</i> , al cuarto día de evaluación.....	36
Cuadro 6. Porcentajes promedio de la mortalidad del 4to. estadio ninfal de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> al cuarto día después de la aplicación de <i>B. bassiana</i> a una concentración de 1×10^8 con/ml.....	38
Cuadro 7. Análisis Probit de los datos de los bioensayos con diferentes cepas de <i>Beauveria bassiana</i> contra ninfas del 4to. estadio de <i>T. vaporariorum</i>	41

RESUMEN

La mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), es considerada como una de las principales plagas de diversos cultivos agrícolas; su manejo ha sido difícil con los insecticidas convencionales, es por ello necesario buscar alternativas de control, entre estas destaca el uso de hongos entomopatógenos. En el presente trabajo se determinó la patogenicidad y virulencia del hongo *Beauveria bassiana* mediante bioensayos. Para las pruebas de patogenicidad se aplicó una suspensión de 1×10^8 con/ml., por aspersión, sobre los diferentes lotes de insectos. Después de 6 días los mayores porcentajes de mortalidad se obtuvieron con las cepas **BbCO** con un 95.23%, **BbN** con un 88.55%, **BbUAT02** con 82.43%, **BbUAT18** con 79.35%, **Bb9** con 78.46%, **BbGC** con 76.19% y la **Bb16** con 65.15%, siendo estas las de mayor patogenicidad de un total de 14 cepas de *B. bassiana*. Los bioensayos sirvieron para obtener la concentración letal media (CL_{50}) de las cepas más patógenas. Los valores de las CL_{50} 's para las cepas **BbGC** con 7.78×10^6 con/ml., **BbCO** con 9.11×10^6 con/ml., y la **BbN** con 1.36×10^7 con/ml., resultaron ser estadísticamente iguales y por lo tanto las más virulentas en comparación con las cepas **BbUAT18** con 1.64×10^7 con/ml., **Bb16** con 5.02×10^7 con/ml., **BbUAT02** con 1.1×10^8 con/ml. y la cepa **Bb9** con 1.96×10^8 con/ml., siendo estas menos virulentas. Las diferencias en las respuestas en las pruebas de patogenicidad y virulencia (bioensayo) nos determina que no todas las cepas de *Beauveria* tuvieron la capacidad de infectar a este estado biológico en la misma proporción, y que esta diferencia puede deberse en parte, a la interferencia dependiente del hospedero sobre el cuál se alimenta el insecto, ya que se obtuvieron mayores porcentajes de mortalidad con las cepas **BbGC**, **BbCO**, **BbN**, **BbUAT18**, **Bb16** y **Bb9** al 4to. día utilizando como planta hospedera al jitomate en comparación con el frijol. De manera concluyente las cepas **BbGC**, **BbCO** y **BbN**, se consideran como agentes potenciales para el manejo de *T. vaporariorum*. Sin embargo, se hace necesario realizar pruebas sobre los diferentes estados de desarrollo, así como pruebas en campo, para la optimización en el uso de estas.

1. INTRODUCCION

A partir de la década de los 80's, la mosquita blanca se ha transformado en una plaga importante a nivel mundial, atacando diversos cultivos agrícolas.

La acción succionadora de la mosquita blanca, su papel como vector de enfermedades virosas y el hecho de que las excreciones del insecto ricas en sustancias nutritivas, propicien la proliferación de hongos conocidos como fumagina, hacen que esta plaga ocasione grandes pérdidas económicas a la agricultura nacional y mundial. Aunado a esto, el uso indiscriminado de insecticidas convencionales ha provocado la selección de genes de resistencia a los químicos lo que dificulta aún más su combate (Mier *et al.*, 1991). Por ello es necesario realizar estudios sobre alternativas efectivas de manejo y que no ejerzan presión en la población plaga evitando la selección de resistencia y evitar además la contaminación del ambiente.

Los insectos son susceptibles a un amplio espectro de enfermedades, estas pueden ser muy importantes como reguladores naturales, o bien por su explotación como organismos causantes de enfermedades ó agentes de "control microbiano".

El control microbiano se refiere al desarrollo de técnicas de control que involucren a un microorganismo o parte de él, y que cause alguna enfermedad infecciosa. Los entomopatógenos, junto con los depredadores y parasitoides; forman parte de los factores biológicos que regulan las poblaciones insectiles en la naturaleza (Alatorre, 1994).

Para puntualizar la importancia de los entomopatógenos en el control de plagas es importante señalar que de las más de 1000 especies de entomopatógenos conocidos (bacterias, virus, hongos, nematodos, y protozoarios.) menos del 10% han sido producidos en forma masiva y menos del 1% han sido comercializados. Entre estos entomopatógenos, los hongos son particularmente importantes en el control de insectos chupadores, puesto que no existe forma de

que ingieran otros microorganismos y por su modo de acción a través de la cutícula que favorece la infección (Roberts, 1989).

La mayoría de las micosis de insectos son causadas por Hyphomycetes (Deuteromycotina) y por los hongos Entomophthorales. Entre los primeros podemos citar a *Beauveria bassiana*, sin duda uno de los entomopatógenos más estudiados y con un amplio rango de hospederos de diferentes ordenes, incluyendo al orden Homoptera.

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin, 1911; conocido como la muscardina blanca, gracias a su amplio rango de hospederos y su alta patogenicidad, es considerado como un importante agente fungal para el control de plagas de insectos (Feng et al., 1990).

Así, en los últimos años se ha despertado el interés por utilizar este hongo, en el manejo de diversas plagas, desarrollando tecnologías económicas para producirlo masivamente y realizando pruebas para demostrar su patogenicidad a diversos hospederos, entre ellos la mosca blanca.

2. OBJETIVO Y JUSTIFICACION

2.1 OBJETIVOS:

Determinar la virulencia en laboratorio mediante la técnica de bioensayo de varias cepas de *Beauveria bassiana* sobre ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae).

1) Seleccionar de catorce cepas de *B. bassiana* las más patógenas sobre el cuarto estadio ninfal de *T. vaporariorum* con base en pruebas de patogenicidad.

2) Determinar la Concentración letal media (CL_{50}) de las cepas más patógenas sobre el cuarto estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

3) Seleccionar las cepas más agresivas de *B. bassiana* para ser recomendadas como agentes potenciales para el manejo de *T. vaporariorum*.

2.2 JUSTIFICACION

T. vaporariorum es un insecto de importancia económica, que puede ser controlado de manera biológica, mediante el uso de hongos entomopatógenos; la selección de cepas agresivas resulta importante para ser recomendadas como agentes potenciales para el manejo de *Trialeurodes*.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1 LA MOSCA BLANCA *Trialeurodes vaporariorum* (WESTWOOD)

A nivel mundial se mencionan 126 géneros de mosquita blanca y un total de 1100 a 1200 especies, aunque el número real, pudiera ser mayor (Bink-Moenen y Mound, 1990). La mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae), se considera como un complejo de plagas polífagas que atacan diversos cultivos agrícolas de importancia económica como hortalizas, frutales, ornamentales e industriales. Sin embargo; a pesar del gran número de especies de mosquita blanca, sólo *Bemisia tabaci* Gennadius, *T. vaporariorum* (Westwood) y *T. abutilonea* Hold, son reconocidas como transmisoras de virus fitopatógenos (Ortega, 1992).

Cave (1994) y Hall (1982) mencionan que, las especies de mosquitas blancas *B. tabaci* Gennadius, *B. argentifolii* Bellows y Perring y *T. vaporariorum* (Westwood) representan un serio problema entomológico en diversos cultivos como tomate, cucurbitáceas, soya, algodón, ajonjolí y ornamentales entre otros. Para su combate se han utilizado principalmente insecticidas los cuales lejos de solucionar el problema lo han agravado, por lo que la única alternativa viable de reducir las poblaciones de mosquitas blancas es a través del control integrado utilizando el control biológico como parte central de esta estrategia.

Actualmente, en México, las especies *T. vaporariorum* Westwood (1856), *Bemisia argentifolii* Bellows y Perring (1994), *Dialeurodes citri* Ashmead (1885), *T. abutilonea* Holdeman (1829), *Aleurocanthus woglumi* Ashby (1915), *Aleurothrixus floccosus* Mastell y *Bemisia tabaci* Gennadius se consideran las de mayor importancia (Bellows et al., 1994; Ortega, 1992; Aguirre y Soria, 1993).

3.2 UBICACION TAXONOMICA

Trialeurodes vaporariorum es un artrópodo de la Clase Insecta y del orden Homoptera, pertenece a la familia Aleyrodidae que incluye dos subfamilias, Aleurodicinae, endémica de Centro y Sudamérica, y Aleyrodinae, a la cual pertenece *T. vaporariorum*, cuyos miembros son en general más pequeños que los anteriores y por lo tanto su venación es más reducida; Aleyrodinae es mayor en términos del número de especies y también esta más ampliamente distribuida (Byrne y Bellows, 1991).

3.2.1 Descripción de la mosca blanca *T. vaporariorum* (Westwood)

Trialeurodes presenta diferentes fases de desarrollo, huevecillo, cuatro estadios ninfales y el adulto. Los huevecillos en forma de huso son depositados en el envés de las hojas jóvenes. El primer estadio ninfal es oval de color verde pálido, con patas bien desarrolladas y antenas, caracterizándose por ser móvil. El segundo y tercer estadio ninfal son aplanados en forma de escamas, y generalmente transparentes con patas y antenas no funcionales. El cuarto estadio ninfal, también llamado pupa, está dividido en tres formas morfológicas distintas: la primera es aplanada y translúcida, la siguiente es engrosada, opaca y con procesos cerosos dorsales y laterales en forma de espinas, la tercera es similar a la anterior excepto que presenta los ojos rojos. El desarrollo a adulto es claramente visible y el cuerpo comienza a incrementarse, tornándose a un color amarillo. La mosca blanca adulta emerge del cuarto estadio ninfal por medio de una ruptura del exoesqueleto (Fig. 1) (Osborne y Landa, 1992; Gerling, 1992). La mayor emergencia de los adultos ocurre en las mañanas y su longevidad varía de 4 hasta 50 días, tiempo que depende principalmente de la temperatura (Burnett, 1949).

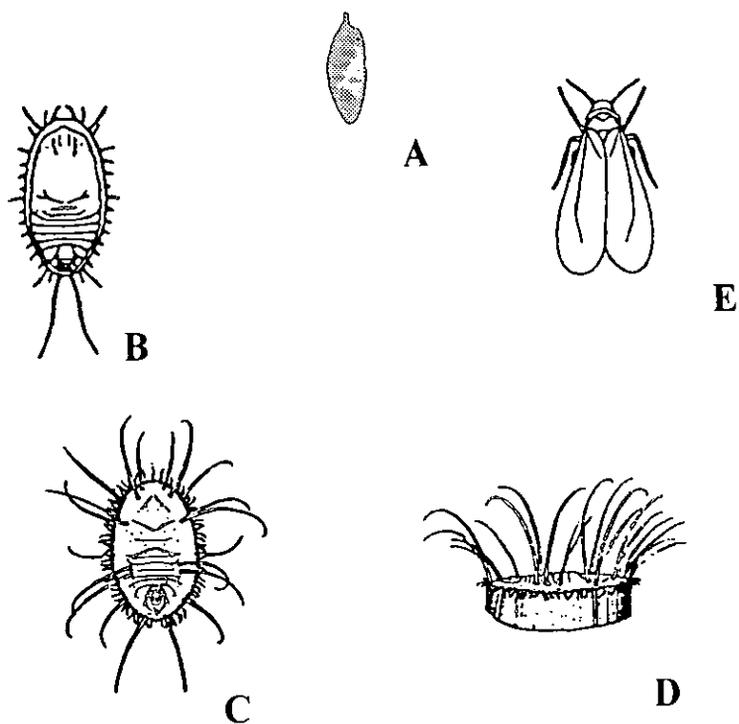


Figura 1. *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). (A, huevecillo; B, estadio ninfal; C, vista dorsal de la pupa; D, vista lateral de la pupa; E, adulto). (Tomado de Zimmerman, 1948).

3.2.2 Biología y ciclo de vida

El ciclo biológico de *Trialeurodes* varía de acuerdo a la temperatura en que se desarrolle, a mayores temperaturas el tiempo requerido para su desarrollo es menor.

Se menciona que a 20°C el ciclo toma 34.7 días, mientras que a 30°C el tiempo se reduce a 16.6 días. A estas mismas temperaturas la incubación del huevo toma 11.5 y 5.4 días a 20 y 30°C respectivamente (Butler, 1982 citado en Ortega, 1992). Los huevecillos son ovipositados en el envés de las hojas y tienen la coloración amarillo verdoso que cambia a negrozco 24 horas más tarde, son puestos en círculos o en pequeños grupos de 3 a 6 huevecillos (Sifuentes, 1953).

Cada estadio ninfal tiene una duración que varía de 5 a 6 días para el primero, 2 a 4 días para el segundo y de 4 a 6 días para el tercero. La fase de pupa toma aproximadamente de 6 a 10 horas. Cuando la temperatura fluctúa entre los 20 y 28°C, el periodo de la ninfa incluyendo la pupa es de 10 a 14 días (Ortíz, 1988 citado en Ortega, op. cit.).

Las ninfas del primer estadio se caracterizan por tener patas y antenas funcionales, una vez que estas emergen se dirigen activamente hacia una vena disponible en la hoja (la rapidez de este evento es dependiente de la temperatura), donde se fija e insertan sus piezas bucales alimentándose de savia y permaneciendo sésiles hasta su edad adulta, excepto en los breves periodos durante la muda (Byrne y Bellows, 1991). Así mismo, estos autores señalan que las ninfas poseen aberturas respiratorias en la pared ventral del cuerpo las cuales se comunican con los espiráculos y ayudan a la conducción del aire, además, mencionan que estas aberturas se desarrollaron probablemente debido a la forma aplanada de las ninfas y a la posición bien adherida sobre la superficie de la hoja. La mortalidad en la etapa de ninfa depende en parte a factores nutricionales (Byrne y Bellows, op. cit.), la temperatura, estructuras de la superficie foliar, parasitación y depredación (Burnett, 1949; Byrne y Bellows, op. cit.).

Durante el invierno los adultos permanecen inactivos en el envés de las hojas y sólo cuando la temperatura asciende se vuelven activos. Presentan de once a doce generaciones al año

y en condiciones de cautiverio, una hembra puede depositar hasta 300 huevecillos en toda su vida (Butler, 1982 citado en Ortega, 1992; Osborne y Landa, 1992).

Recién emergidos, los adultos de ambos sexos tienen las alas claras y son sexualmente inmaduros, durante las 24 horas siguientes maduran y su cuerpo se cubre con cera, migran hacia las hojas superiores más suculentas donde se alimentan, copulan y ovipositan (Las, 1979). Su reproducción es de tipo partenogenética arrenotóca esto es, los huevecillos no fecundados producen machos haploides y los fertilizados dan lugar a hembras diploides (Schrader, 1920).

3.2.3 Daños

Alrededor del 10% del total del área agrícola de México se destina a la producción de especies hortícolas. Entre éstas son de primera importancia chile, papa, melón, sandía, calabaza, cebolla, pepino, jitomate y ajo (Ortega, op. cit.).

Son varios los problemas entomológicos asociados a estos cultivos, pero destacan las mosquitas blancas como una de las plagas principales, no sólo por su daño directo como chupadores, sino además, por el daño indirecto que ocasionan. Las ninfas y los adultos, provocan daños directos debido a la succión de nutrimentos de la planta a través de su aparato bucal. Esta actividad produce el amarillamiento de la planta hospedera, la cual detiene su crecimiento e incluso puede llegar a morir cuando la población del insecto es muy alta; así mismo la excreción de mielecilla que cae sobre las hojas y frutos, favorece el desarrollo de fumagina la cual ocasiona interferencia con la fotosíntesis, con la consecuente reducción del vigor de la planta, puesto que cubre casi por completo el follaje, reduciendo así, la calidad de las partes cosechables disponibles para la comercialización. Finalmente estos insectos son vectores de virus fitopatógenos; por ejemplo: el chino del tomate, amarillamiento de la venación del pepino, enchinamiento de la hoja de la calabaza, mosaico común del frijol, achaparramiento de la papa y otros; mismos que pueden causar pérdidas considerables (Byrne y Bellows, 1991).

3.2.4 Distribución e importancia económica

Rusell en 1963 reporta a *T. vaporariorum* como una plaga abundante y destructiva en invernaderos y en climas cálidos, y tiene conocimiento de su presencia en 80 localidades a nivel mundial distribuidas entre Canadá, E.U.A., México, Centroamérica, Sudamérica, Europa, Africa y Asia.

En países como Bélgica, Hawaii, Israel, la India, Brasil, España, Japón, parte de E.U.A. y Sudamérica la mosquita blanca es una plaga importante, principalmente en cultivos de hortalizas y ornamentales. En 1981 en Arizona y el Sur de California debido al ataque de *Bemisia tabaci*, cultivos de algodón y hortalizas resultaron con graves pérdidas económicas, y aunque no tan severo el problema continúa (Prabhaker *et al.*, 1992).

En México la mosquita blanca afecta cultivos de gran importancia económica, como algodón, soya, frijol, tomate rojo, chile, papa y diversas hortalizas, así como plantas de ornato como la nochebuena (García, 1981; Mier *et al.*, 1991; Romero, 1995).

Mc Gregor (1983) menciona como hospederas de *Trialeurodes vaporariorum* a la calabaza, chayote, chile, frijol, jitomate, melón, papa, papayo, pepino y tomate de cáscara.

La mosquita blanca ha causado bajas considerables en la producción de tomate rojo en el estado de Morelos, correspondientes a las cosechas de 1960; en 1980 y 1986 se registraron pérdidas de 51.0% y 71.7%, respectivamente (Mier *et al.*, op. cit.).

En México se reporta a la mosquita blanca en el Bajío, en los cultivos de algodón y melón; en Veracruz se observa en calabaza, calabacita, melón, sandía, pepino, espinaca, acelga y frijol ejotero. En regiones como Baja California Sur; el Valle del Yaqui y la Costa de Hermosillo, Son.; Apatzingán, Mich.; Tapachula, Chis.; el sur de Tamaulipas y partes de Durango y Coahuila es común encontrar además de *Trialeurodes* otras especies como *B. tabaci*, transmisora de enfermedades. La mosquita blanca es también considerada como una plaga importante del melón en Michoacán, Oaxaca, Coahuila y otras zonas meloneras del país (Ortega, 1992).

3.3 CONTROL DE *T. vaporariorum*

El gran número de hospederas de la mosquita blanca, su gran capacidad polífaga, la presencia continua de todos los estados de desarrollo en una infestación, el uso de insecticidas como los piretroides que prácticamente eliminan las poblaciones de depredadores y parasitoides, y la selección de individuos resistentes, principalmente, han hecho de la mosquita blanca un insecto difícil de controlar, contra el cual se han aplicado todo tipo de insecticidas, e implementado diversas medidas de control.

3.3.1 Control químico de *Trialeurodes vaporariorum*

El control de plagas en la agricultura moderna es una parte integral de los cultivos, dentro del cual el uso de insecticidas es práctica común, pero las limitaciones y riesgos que ofrece son cada vez mayores debido a las restricciones impuestas por los países importadores en cuanto a límites de residualidad y por otra parte al incremento de la contaminación ambiental y pérdida de fauna benéfica.

El empleo de sustancias químicas para el control de la mosquita blanca se ha considerado hasta hoy el método más efectivo para mantener las poblaciones a niveles bajos. Desafortunadamente cada día se van reduciendo el número de insecticidas capaces de ejercer un control satisfactorio a causa de la falta de especificidad del producto o del desarrollo de poblaciones resistentes.

De acuerdo al historial de aplicación química contra la mosquita blanca, los primeros tóxicos usados fueron cianuro de sodio y el cianuro de calcio (Weigwl, 1925). Posteriormente, Holdway (1945) reportó como efectivos al DDT a dosis del 20% y la emulsión de aceite blanco comercial, Wilson (1946 citado en Ortega, 1992) utilizó aspersiones de DDT al 0.1% y encontró que el insecticida fué efectivo contra todos los estados inmaduros de este insecto. Duarte (1956) menciona que la mosquita blanca era susceptible a los insecticidas organoclorados y

organofosforados, por lo que se recomendaba hacer espolvoreos con una mezcla de insecticidas DDT al 10% y con paratión metílico al 2%.

Aunque se pueden enumerar varios factores como los responsables del aumento en la densidad poblacional de las mosquitas blancas, dicha situación es asociada a la aplicación indiscriminada de insecticidas, lo cual por un lado favoreció la aparición de poblaciones resistentes y por el otro disminuyó las poblaciones de sus enemigos naturales (Prabhaker *et al.*, 1985 y Prabhaker *et al.*, 1992).

Según Dittrich y Ernest (1990), las dificultades para controlar a *Trialeurodes* por medio de insecticidas radican básicamente en su corto ciclo de vida, su amplia gama de hospederos y su gran capacidad para desarrollar resistencia a los insecticidas a tal grado que se observa que su control en invernaderos es difícil porque ningún insecticida de los usados parece ser efectivo. Por lo anterior, se hace necesario buscar otras alternativas para combatir eficientemente a esta plaga.

3.3.2 Control biológico de *T. vaporariorum*

Los parasitoides, depredadores y patógenos son enemigos naturales de las moscas blancas.

Los depredadores se ubican principalmente en 4 ordenes de insectos: Heteroptera, Neuroptera, Diptera y Coleoptera; además, de los ácaros depredadores. Sin embargo, el uso de estos no ha sido completamente satisfactorio para el control de las moscas blancas, y el posible uso de estos está siendo investigado (Gerling, 1992).

Se conoce un número considerable de parasitoides que atacan a *B. tabaci*, *B. argentifolii* y a *T. vaporariorum*. La mayoría de ellos pertenecen a la familia Aphelinidae, aunque también hay registros de especies de Scelionidae, Ceraphronidae, Encyrtidae y Platygasteridae (Arredondo y Mellín, 1995).

Dentro de los patógenos se pueden encontrar diferentes grupos de microorganismos. Sin embargo, los patógenos reportados para la familia Aleyrodidae han sido hongos, ya que solamente estos son capaces de infectar a los insectos chupadores a través de la penetración de la cutícula (Fransen, 1990).

En general los agentes biológicos como son los hongos entomopatógenos, parasitoides y depredadores ejercen un control natural en muchos casos muy efectivo, es por ello que se ha puesto atención en su uso para el control de la mosquita blanca dentro de un programa de manejo integrado (Sohm, 1979).

3.4 HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Dentro de los hongos entomopatógenos se han identificado más de 40 géneros, aunque, el conocimiento sobre su actividad patogénica y potencialidad como agentes microbianos está limitado sólo a unos pocos géneros: *Aschersonia* (Sphaeropsidales), *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium* y *Verticillium* (Hyphomycetes: Moniliales). Durante los últimos 20 años, los hongos que han sido objeto de fuerte investigación, pertenecen a la clase Zygomycetes e Hyphomycetes, al grado de que los hongos *Aschersonia aleyrodis*, *Beauveria bassiana*, *Hirsutella thompsonii*, *Metarhizium anisopliae* y *Verticillium lecanii*, han sido producidos a gran escala y formulados como micoinsecticidas (Maniana, 1991).

3.5 HONGOS ASOCIADOS A *Trialeurodes vaporariorum*

Los hongos patógenos asociados a la familia Aleyrodidae se encuentran dentro de los Deuteromycetes, Zygomycetes, Orden Entomophthorales y Ascomycetes (Carruthers, 1993), destacando los géneros: *Entomophthora*, *Aschersonia*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Sporothrix*,

Trichotecium, *Aegerita*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Erynia* y *Verticillium* (Fransen, 1990; Osborne y Landa, 1992)(Cuadro I).

Cuadro I. Registro de hongos entomopatógenos asociados a *Trialeurodes vaporariorum*

ESPECIE FUNGAL	REFERENCIA
<i>Acremonium sp.</i>	Riba y Entcheva, 1984.
<i>Aschersonia aleyrodis</i>	Spasova <i>et al.</i> , 1980; Ramakers y Samson, 1984; Fransen, 1987.
<i>Aschersonia flava</i>	Spasova <i>et al.</i> , 1980.
<i>Aschersonia goldiana</i>	Berger, 1921.
<i>Aschersonia papillata</i>	Fang <i>et al.</i> , 1983.
<i>Aschersonia placentu</i>	Spasova <i>et al.</i> , 1980.
<i>Aschersonia sp.</i>	Spasova <i>et al.</i> , 1980.
<i>Aphanocladiwn album</i>	Entcheva, 1979.
<i>Beauveria bassiana</i>	Borisov y Vinokurova, 1983; Treifi, 1984.
<i>Fusarium verticillioides</i>	Riba y Entcheva, 1984.
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Borisov y Vinokurova, 1983.
<i>Paecilomyces fumosoroseus var. beijingensis</i>	Fang <i>et al.</i> , 1985; Fang <i>et al.</i> , 1986.
<i>Trichothecium roseum</i>	Riba y Entcheva, 1984.
<i>Verticillium fusisporum</i>	Ekbohm y Ahman, 1980.
<i>Verticillium lecanii</i>	Hussey, 1958; Hall, 1982; Sohm, 1979.

Tomado de Gerling (1990).

3.6 EL HONGO ENTOMOPATOGENO *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN, 1911

3.6.1 Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*

La mayoría de las especies de hongos entomopatógenos se clasifican dentro de los Hyphomycetes, Zygomycetes y Ascomycetes. *Beauveria*, según Tanadá y Kaya (1993), se encuentra clasificada como sigue:

DIVISION: Eumycota

SUBDIVISION: Deuteromycotina

CLASE: Deuteromycetes (= Hyphomycetes)

ORDEN: Moniliales

FAMILIA: Moniliaceae

GENERO: *Beauveria*

ESPECIE: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill., 1911

De acuerdo con Beham y Miranda (1953), este hongo, fue descrito originalmente por Agostino Bassi quien demostró que la enfermedad llamada "muscardina blanca" era ocasionada por este patógeno, más tarde Balsamo Crivelli en 1935, ubicó al hongo en el género *Botrytis*, nombrándolo *Botrytis bassiana*. Posteriormente algunos investigadores observaron que el hongo presentaba características diferentes a *Botrytis*, estableciendo nuevas especies.

Vuillemin (1912 citado por Beham y Miranda, op. cit.) describe al nuevo género de *Beauveria*, caracterizándolo por el tipo de conidióforo. Los esporangios filamentosos forman prolongaciones y la disposición de las esporas esta dada por un arreglo en zig - zag, lo que hace que *Botrytis bassiana* cambie a *Beauveria bassiana* (Beham y Miranda, op. cit.).

Beauverie (1914 citado en Beham y Miranda op. cit.) concluye que *Beauveria* tiene 4 especies las cuales son listadas de la siguiente manera:

- 1) *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 1911
- 2) *Beauveria effusa* (Beauverie) Vuillemin 1911
- 3) *Beauveria densa* (Link) Picard 1914
- 4) *Beauveria globulifera* (Spegazzini) Picard 1914

3.6.2 Características biológicas de *Beauveria bassiana*

Macroscópicamente *Beauveria* se caracteriza por un crecimiento blanco algodonoso o harinoso que a veces llega a envolver completamente al insecto. Microscópicamente, este hongo presenta conidióforos simples, dilatados en la base, con un raquis alargado, agrupados irregularmente o dispuestos en racimos verticilados. Los conidios son hialinos, globosos o subglobosos (1.0 a 1.7 x 1.2 a 2.5 μ m) y se producen sobre esterigmas colocados en forma alternada (Beham y Miranda, 1953).

Las colonias de este hongo alcanzan de 0.6 a 2.3 cm de diámetro en ocho días a 20°C y son de apariencia polvosa, debido a la presencia de conidios. El crecimiento inicial es de color blanco, pero después puede cambiar a amarillento o rosado (Tanadá y Kaya, 1993).

3.6.3 Mecanismos de penetración de los hongos

La National Academic of Sciences (NAS, 1980) menciona que existen varias formas por medio de las cuales una espora o conidio puede entrar al cuerpo de un insecto. Las principales vías de invasión son la oral; el microorganismo entra al insecto junto con el alimento. Por infección via el sistema respiratorio, a través de las tráqueas, por el tracto digestivo o bien por penetración a través del integumento externo, siendo esta la ruta más común de invasión que utilizan los hongos (Sohm, 1979; Allee *et al.*, 1990; NAS, 1980).

En el mecanismo de penetración, via el integumento, de la mayoría de los hongos entomopatógenos se inicia con la germinación de los conidios sobre la superficie de la cutícula del hospedero emitiendo un tubo germinativo; el cual penetra al insecto mediante mecanismos físicos y enzimáticos (Fig. 2) (Ferron, 1978; Osborne y Landa, 1992). Se han descrito formas apresoriales que facilitan el proceso de penetración de los hongos. Químicamente los hongos sintetizan enzimas extracelulares, que les permiten degradar la cutícula; las más importantes son

del grupo de las proteasas, lipasas, quitinasas y amilasas (Ferron y Robert, 1975; Roberts, 1981; y Fransen, 1990).

En aquellos lugares en donde las esporas germinan, la cutícula varía de un color amarillento a un color pardo oscuro ó necrosado. Estas áreas aumentan de tamaño a medida que la infección progresa (Yendol y Paschke, 1965).

Cuando los hongos han logrado llegar al hemocele del insecto, se dividen en cuerpos hifales (blastosporas). En ese momento se presenta un fenómeno de defensa por parte del insecto, lo que constituye una reacción hemocítica. Los granulocitos y los plasmocitos se concentran y envuelven a cada uno de los cuerpos hifales, formando un pseudotejido llamado granuloma (Hajek y St. Leger, 1994).

Una vez que el hongo invade el hemocele, el hospedero puede ser aniquilado por la combinación de daños mecánicos producidos por el crecimiento del hongo, agotamiento de nutrimentos o por toxemia. La importancia relativa de estos mecanismos varía con los aislamientos del hongo y del hospedero (Hajek y St. Leger, op. cit.).

En muchos casos, algunos hongos entomopatógenos, tales como, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Verticillium lecanii* producen sustancias tóxicas o micotoxinas que en ocasiones tienen la capacidad de acelerar la muerte del insecto antes de que este haya sido totalmente colonizado por el hongo. Dichas toxinas no son más que metabolitos secundarios producidos por el hongo que incluyen un gran número de compuestos tóxicos para los insectos (Roberts, op. cit.).

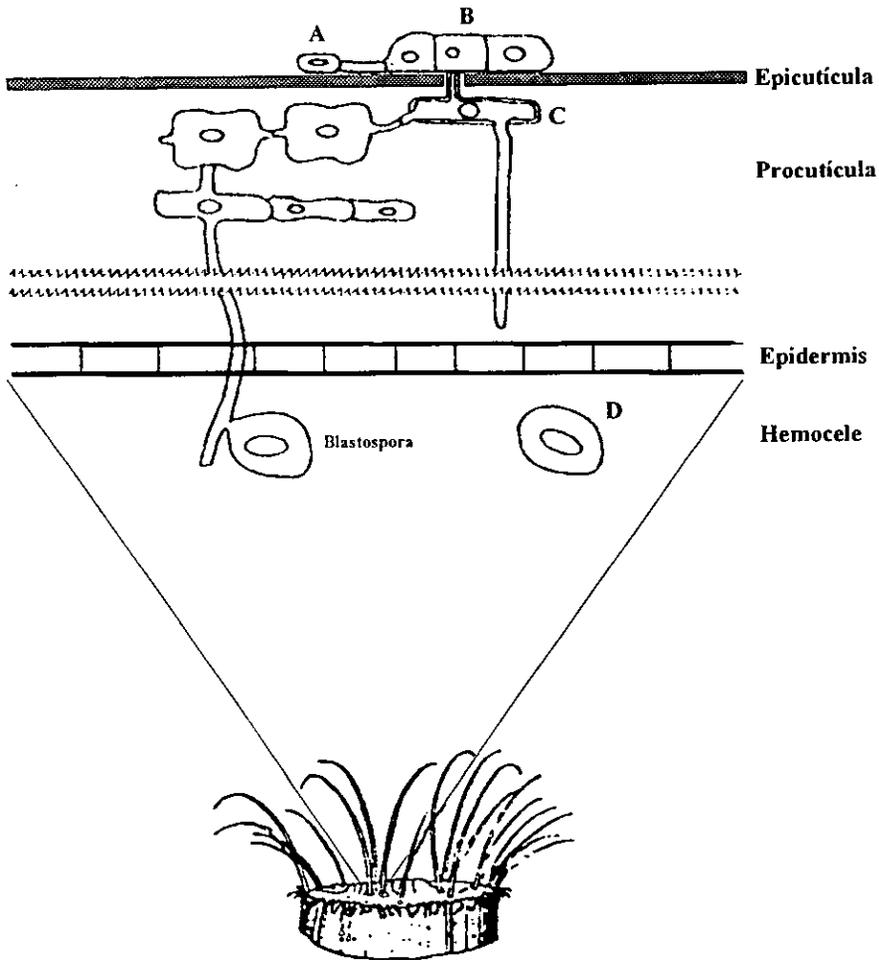


Figura 2. Representación esquemática del proceso de infección de *B. bassiana* en una sección de la cutícula del insecto. (A, conidio; B, apresorio; C, penetración y D, invasión) (Modificado de Hajek y St. Leger, 1994).

Los ciclodepsipeptidos, dextruxinas por ejemplo, son producidos por aislamientos de *Metarhizium anisopliae* en cantidades que se correlacionan con la toxicosis y virulencia diferencial de los aislamientos contra algunos insectos. Las dextruxinas afectan varios organelos (por ejemplo, mitocondrias, retículo endoplásmico y membrana nuclear, paralizando las células y causando disfunción del intestino medio, túbulos de Malpighio, hemocitos y tejido muscular (Hajek y St. Leger, 1994).

Otras toxinas incluyen a los ciclodepsipeptidos, beauvericina producidos por *V. lecanii*; *B. bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*, (Ferron, 1978) y bassianolide (*B. bassiana*); las cuales pueden paralizar las células hospederas (Hajek y St. Leger, op. cit.).

Tanadá y Kaya (1993) mencionan que tanto el micelio de *V. lecanii* como el de *B. bassiana* producen la toxina basianolide que causa alteración en el núcleo de las células y puede funcionar como un antibiótico al igual que beauvericina al prevenir el desarrollo de bacterias, lo que hace que exista una momificación del insecto hospedero parasitado.

Después de la muerte del insecto, el hongo invade los diferentes tejidos, las hifas parecen tener preferencia por el tejido adiposo, pero también invaden el sistema muscular y nervioso (Yendol y Paschke 1965; Fransen, 1990). En el caso de ninfas de *Trialeurodes* infectadas por *Aschersonia aleyrodis*, estas son reconocidas por su color naranja brillante; mientras que las ninfas infectadas por *V. lecanii* se tornan de un color verde transparente y amarillo a blanco opaco ya que el interior del cuerpo del hospedero se empieza a invadir de un micelio blanco. En el caso de *Beauveria* las ninfas pueden presentar una pigmentación de color rosa o púrpura, dada por la secreción de los pigmentos oosporeína, bassianina o tenellina (Lezama, 1993; Ferron, op. cit.; Fransen, op. cit.). Finalmente el micelio emerge del tegumento y si la humedad ambiental es adecuada (70 a 100% H.R.); el hongo esporula en la superficie del cadáver (Lezama, op. cit.).

3.6.4 Patogenicidad de *B. bassiana*

Patogenicidad es la capacidad de causar enfermedad o daño sobre su insecto hospedero; mientras que **virulencia** es el grado de patogenicidad de las cepas hacia el hospedero específico, expresado en relación inversa a la dosis del patógeno requerida para causar daño determinado y **agresividad** es una función inversa del tiempo requerido por un patógeno para causar el daño, es decir, cuanto menor sea la dosis requerida de un patógeno para causar daño definido, por ejemplo matar a la mitad de la población, haciendo referencia a una dosis letal media ó concentración letal media, (DL_{50} ó CL_{50}), mayor será la virulencia del organismo estudiado y a mayor tiempo de muerte, menor será su agresividad (Rosas, 1994).

La mayoría de los hongos asociados a insectos, son patógenos facultativos capaces de desarrollarse dentro del cuerpo del insecto hospedero. Algunos son patógenos virulentos que matan al insecto en pocos días, otros producen una infección crónica y prolongada. Entre especies es posible encontrar diferencias en virulencia como en patogenicidad entre aislamientos o cepas (Ferron, 1978). La patogenicidad de un hongo puede estar asociada con la producción de enzimas y micotoxinas durante el curso de la infección en un insecto (Ferron, op. cit.), o de la especie de insecto hospedero.

3.6.5 Hospederos de *Beauveria bassiana*

Este hongo tiene un amplio rango de insectos hospederos. DeBach (1987) reporta 175 especies en Norteamérica que son susceptibles al ataque de *Beauveria bassiana*. El rango de insectos de importancia agrícola abarca ordenes como Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera, Isoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Thysanoptera y Orthoptera entre otras (Cuadro 2) (Rombach et al., 1986; Ferron y Robert, 1975; Woods y Grula, 1984; Marcandier y Kachatourians, 1987 y De la Rosa, 1993).

Hay muchos casos en los cuales *Beauveria* ha sido satisfactoriamente usado como agente microbial para el control de plagas. Recientemente *B. bassiana* fue aplicado a algunos homópteros plaga así como *Nilaparvata lugens* Stål y los estados inmaduros de la mosca blanca del invernadero, *T. vaporariorum* (Westwood) (Feng y Jonhson, 1990).

Cuadro 2. Insectos de importancia económica susceptibles al ataque de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

INSECTOS	REFERENCIAS
<i>Acanthoscellides obtectus</i>	Ferron y Robert, 1975
<i>Anthonomus grandis</i>	Frank y Slosser, 1990
<i>Epitrix</i> sp	Rojas, 1982
<i>Hyphotenemus hampei</i>	Bridge <i>et al.</i> , 1990
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Dilberk, 1988
<i>Coptotermes formosanus</i>	Lai <i>et al.</i> , 1982
<i>Cydia pomonella</i>	De Bach, 1987
<i>Dendrolimus punctatus</i>	Russey y Thinsley, 1981
<i>Diatrea saccharalis</i>	Leucona y Alves, 1988
<i>Elasmopalpus lignosellus</i>	Mc Dowell <i>et al.</i> , 1990
<i>Ostrinia furnacalis</i>	Riba, 1984
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Russey y Thinsley, 1981
<i>Melanoplus bivittatus</i>	Gardner y Storey, 1985
<i>Melanoplus sanguipes</i>	Moore y Erlandson, 1988
	Bidochka y Khachatourians, 1991
	Marcandier y Khachatourians, 1987
	Mirianpuri y Khachatourians, 1993
	Moore y Erlandson, 1988
	Vincent <i>et al.</i> , 1993
<i>Schitocerca gregaria</i>	St Leger <i>et al.</i> , 1986
<i>Solenopsis invicta</i> B. y	Scienbeneicher <i>et al.</i> , 1992
<i>Solenopsis saevissima</i> Fr.S.	
<i>Musca domestica</i>	Barson <i>et al.</i> , 1994
<i>Aphis gossypii</i>	Pavlylushin y Krasavina, 1987
<i>Liriomyza trifolii</i>	Bordat <i>et al.</i> , 1988
<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Dilberk, 1988; Treifi, 1984
<i>Blissus leucopterus</i>	De Bach, 1987
<i>Thrips palmi</i>	Saito, 1991
<i>Thrips tabaci</i>	Gillespie, 1986

Tomado de Alfaro, 1995.

3.6.6 Condiciones climáticas favorables para el desarrollo de *B. bassiana*

El rango óptimo para la infección, crecimiento y desarrollo de muchos hongos entomopatógenos se encuentra entre 10 y 30°C. Las temperaturas de 10 a 30°C por menos de 30 días no afectan la estabilidad de muchos entomopatógenos, por otra parte, se pueden tener efectos desfavorables a temperaturas menores de 10°C o mayores que 30°C. En general el crecimiento y germinación sobre medios artificiales ocurren a temperaturas alrededor de 25°C para *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* (Fransen, 1990; Ferron, 1978).

La germinación de las esporas ocurre sobre la superficie de la cutícula y esta relacionada con los factores macro y microclimáticos, especialmente temperatura y humedad. En *Beauveria* el desarrollo óptimo se realiza a temperaturas entre 23 y 25°C (Ferron, 1981).

Walstad *et al.*, (1970), mencionan que los hongos *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, requieren humedades relativas cercanas al 92% y temperaturas entre los 15 y 35°C para la germinación de las esporas, el desarrollo micelial y la esporulación. La temperatura letal para las esporas de ambas especies es cercana a los 50°C, también, establecen que las esporas almacenadas a 8°C permanecen viables mínimo un año, mientras que a 21°C las esporas de *Beauveria* y *Metarhizium* sobreviven poco tiempo de 0.5 y 2.5 meses respectivamente.

3.7 BIOENSAYO CON ENTOMOPATOGENOS

Para determinar las propiedades de un material o sustancia con base a la respuesta biológica que producen se utiliza el método de bioensayo. Es decir, el bioensayo toma a los organismos vivos como aparatos de medición, y establece el parámetro biológico que se utilizará (mortalidad, longevidad, fertilidad, crecimiento, etc.). El bioensayo constituye una herramienta fundamental para la evaluación de los niveles de resistencia o susceptibilidad a los plaguicidas.

El bioensayo con entomopatógenos se basa en la hipótesis farmacológica, la cual establece que un individuo manifestará el efecto medido, al administrarle una dosis determinada del fármaco en prueba, que dicha dosificación variará de un individuo a otro; y que el efecto sobre una población de individuos mostrará límites mínimos y máximos de dosificación. En otras palabras el efecto de una dosis solo podrá ser válido si se mide sobre una población homogénea. La dosificación mostrará un umbral en el que la dosis mínima de ese umbral causará el efecto deseado a un mínimo de la población probada, mientras que la dosis máxima de ese umbral causará el efecto esperado a un máximo de la población.

Un problema que con frecuencia se presenta es la mortalidad en el testigo, lo cual nos indica que existe un factor externo que causa mortalidad en los organismos del testigo y por lo tanto está afectando a los individuos tratados lo que representa un problema para reconocer si la mortalidad se debe al estímulo aplicado o a un factor externo. Esto se puede eliminar por medio de la fórmula de Abbott (Abbot, 1925) y el resultado de esta expresión matemática nos refleja únicamente la mortalidad causada por el estímulo que uno aplicó.

$$\% \text{ Mort. Corregida} = \frac{\% \text{ Mort. tratamiento} - \% \text{ Mort. testigo}}{100 - \% \text{ Mort. testigo}} \times 100.$$

El tamaño de muestra a emplear es otro aspecto que no ha sido tratado con frecuencia, pero esto se rige con la premisa de que se requiere optimizar los recursos económicos y materiales. El método a emplear, para el bioensayo y el tiempo de exposición dependerá del insecto y sobre su respuesta, es recomendable probar un mínimo de cinco diluciones, las cuales deberán ser seleccionadas de tal manera que la Concentración letal media (CL_{50}) deberá caer en la mitad del rango. La combinación de características del bioensayo deberán proporcionar un método capaz de detectar pequeñas variaciones en susceptibilidad, ser reproducible, fácil de realizar y requerir materiales y reactivos baratos y fáciles de conseguir (Vázquez, 1993).

El efecto de los hongos sobre los insectos y ácaros susceptibles sólo podrá ser medido cuantitativamente mediante bioensayo; por razones estadísticas, el principal objetivo de éste es determinar el estímulo necesario para obtener una respuesta del 50% de los organismos de prueba (DL_{50} , CL_{50} , TL_{50} , etc.) que refleja dentro de ciertos niveles de probabilidad, el nivel de virulencia y agresividad de la preparación fúngica probada. El efecto se mide en términos de mortalidad, como si fuera un insecticida químico. De forma tradicional el bioensayo, a través del análisis probit relaciona las variables mediante la técnica de máxima verosimilitud por pruebas de bondad de ajuste consecutivas, en vez de utilizar la técnica de mínimos cuadrados, propia de un análisis de regresión normal. Esto es por el hecho de trabajar con unidades discretas (muerto, no muerto), en vez de continuas. Así mismo la técnica de máxima verosimilitud asegura la obtención de estimadores consistentes (CL_{50}), y que no está propensa a sesgos y sobre todo es eficiente en muestras grandes y pequeñas. Así para establecer la relación dosis - mortalidad, el análisis probit es el más utilizado.

4. MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Patología de Insectos del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Estado de México.

4.1 OBTENCION Y CRIA DE *Trialeurodes vaporariorum* BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Para realizar este trabajo se partió de un pie de cría que se tiene en condiciones de invernadero de *T. vaporariorum*. La cría se realizó en diferentes jaulas, elaboradas de malla fina y alambre. Para propagar a los insectos se usaron plantas de frijol, jitomate, y girasol. Así mismo, se tuvo un espacio para plantas infestadas de mosca blanca y otro de planta libre de moscas blancas.

La colonia de la mosquita blanca se mantuvo con siembras semanales de plantas de jitomate que en su oportunidad se infestaron. Para realizar las siembras se utilizó suelo esterilizado con bromuro de metilo con el fin de evitar contaminación de las plantas causados por microorganismos del suelo. Las plantas se mantuvieron con humedad constante; además de que se conservaron libres de malezas realizándose deshierbes manuales.

Para la obtención de ninfas del cuarto estadio se seleccionaron plantas de frijol o de jitomate, según se requirió, las cuales fueron introducidas dentro de las jaulas de cría para que se realizará la oviposición durante un periodo de 48 horas, posteriormente se sacaron de las jaulas de cría y se colocaron dentro de las jaulas ocupadas para plantas infestadas, se calculó el tiempo necesario para obtener el estadio ninfal deseado, en base al conocimiento del ciclo biológico de *Trialeurodes*.

4.2 ORIGEN DE LAS CEPAS DEL HONGO

Se utilizaron un total de 14 cepas del hongo *B. bassiana*, que se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Patología de Insectos del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados.

4.2.1 Propagación de las cepas de *Beauveria*

Para iniciar el trabajo, se sembraron todas las cepas en el medio de cultivo Agar - dextrosa - sabouraud (ADS), tomándose 65 gr. del medio ADS por litro de agua destilada; se adicionaron 0.65 gr. de extracto de levadura (1%) y 0.875 gr. del antibiótico tetraciclina, con la finalidad de uniformizar el sustrato de crecimiento y evitar contaminaciones de agentes bacteriales no deseados en la producción.

Del medio de cultivo ya preparado se depositaron con la ayuda de una pipeta 10 ml a cada tubo de ensaye de 22 x 175 mm tapándolos con algodón lo más apretado posible y se esterilizaron a 120°C durante 15 min (15 lb/pulgs). Después de la esterilización de los tubos estos se colocaron sobre una regla de madera con un ancho de 0.5 cm. para darles una inclinación de tal forma que el medio se solidificara en forma de cuña, dejándolos 2 días en reposo para eliminar la humedad del interior y para corroborar la esterilidad del cultivo.

De la misma forma se procedió al llenado de las cajas de petri, con la variante de que se esterilizaron independientemente las cajas y el medio, y luego se realizó el vaciado del medio a las cajas, dentro de una campana de flujo laminar, posterior al enfriamiento y prueba de esterilidad se tomó con una asa bacteriológica pequeñas porciones del hongo depositándolo en varios puntos.

Posteriormente se incubaron en una cámara bajo condiciones controladas de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 70% durante quince días para permitir el crecimiento y esporulación del hongo.

4.2.2 Concentración de conidios en suspensión

La concentración de los hongos bajo estudio se determinó mediante un hematocitómetro y la ayuda de un microscopio compuesto. Para la obtención de la concentración requerida se preparo una suspensión madre, para lo cual se tomaron 0.1 gr de esporas que se diluyeron en 10 ml de agua destilada estéril con dispersante adherente al 1%, y manteniéndose en agitación constante en una plancha magnética, hasta la obtención de una suspensión sin esporas agregadas.

Posteriormente se hicieron los conteos de esporas, para esto se seleccionaron las diluciones de 0.1 ó 0.01% (según lo permitieron las concentraciones aparentes de los conidios) de las diferentes cepas de hongos. Una vez seleccionada la dilución se realizaron de 5 a 10 conteos (dependiendo de la homogeneidad de los datos), obteniendo un promedio que se utilizó para calcular las concentraciones de conidios presentes por ml. mediante la fórmula propuesta por Lipa y Slizynsky (1973):

$$C = \frac{(\text{Promedio de conidios}) \cdot (4 \times 10^6) \cdot (\text{FD})}{80}$$

donde:

C = concentración expresada en conidios/mililitro

promedio * = promedio del número de conidios contados en varias alicuotas, (de 5 a 10)

FD = Factor de dilución utilizado; en este caso de 100

$\frac{(4 \times 10^6)}{80}$ = constante de la fórmula para convertir conidios/mm² a conidio/ml

A partir de las concentraciones conocidas por ml., se calcularon las concentraciones deseadas para las pruebas de patogenicidad y los bioensayos.

Para las pruebas de patogenicidad se utilizó una concentración de 1×10^8 con/ml; mientras que para los bioensayos se prepararon entre 6 a 9 concentraciones diferentes. Realizándose los cálculos mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración} = \frac{(\text{Cantidad deseada en ml.}) (\text{Concentración deseada})}{\text{Concentración presente en la solución madre}}$$

4.3 SUSCEPTIBILIDAD DE *T. vaporariorum* A *B. bassiana*

4.3.1 Pruebas de patogenicidad

Se realizaron pruebas de patogenicidad en laboratorio de 14 cepas de *B. bassiana* sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum*, utilizándose una concentración de 1×10^8 con/ml de *B. bassiana* aplicados por medio de aspersión.

Para esto se colocaron hojas de frijol con un número de 125 a 150 ninfas del 4to. estadio de *T. vaporariorum* en cámaras húmedas, que consisten de una caja de petri en cuya base se coloca un papel filtro (No. 4) y sobre este se pone el foliolo de frijol con las ninfas de mosquita blanca; cada foliolo se mantiene vivo poniéndole en la base una borla de algodón humedecido. A cada hoja se le asperjaron 2 ml. de la concentración establecida, realizándose las observaciones al 1er., 2do., 3er., 4to., 5to., y 6to. día después del tratamiento, registrándose el tiempo necesario para la aparición de signos, como es el cambio de color, falta de formación de cera ó deformación de los individuos. Se realizaron de 3 a 6 repeticiones por cepa probada. Cada repetición se llevó acabo en un día diferente para evitar mortalidad en los individuos por errores en la manipulación.

De estas pruebas se seleccionaron las cepas más patógenas para evaluar el grado de virulencia de éstas sobre el 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes* y de esta forma determinar la CL_{50} para cada cepa.

4.4 BIOENSAYO

4.4.1 Determinación de la Concentración letal media (CL_{50})

Para determinar la concentración letal media (CL_{50}) se prepararon diferentes diluciones a partir de una solución madre; con el fin de determinar la concentración máxima cuyo efecto se refleje en una mortalidad del 0% o un valor cercano a este y la concentración mínima capaz de matar al 100% de individuos bajo tratamiento; y así encontrar el intervalo de respuesta biológica (RB). Se probaron las siguientes concentraciones: 1.0%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, 0.03125% y 0.015625%, y a cada una de estas concentraciones porcentuales le corresponde una concentración conidial diferente a cada cepa (Apéndice A). Se manejaron de 6 a 9 concentraciones más el testigo. Se prepararon 10 ml. de solución, para cada concentración, con agua destilada estéril más dispersante adherente al 1% con el fin de obtener una mejor homogeneización de los conidios en suspensión, además de una mejor adherencia y dispersión de las gotas sobre las ninfas de *Trialeurodes*.

En los bioensayos se utilizaron folíolos de jitomate, dado que el frijol ya no se pudo seguir utilizando como planta hospedera, debido a que se presentó el problema de la "cenicilla", ocasionada por el hongo fitopatógeno, *Oidium sp.* Un folíolo de jitomate con un número de 25 ninfas del 4to. estadio de *T. vaporariorum*, constituyó una repetición. La aplicación de las concentraciones se llevó a cabo por medio de aspersión manual aplicándose 2 ml. por hoja; cada folíolo se colocó en una caja de petri con papel absorbente y algodón previamente humedecido en la base del peciolo, funcionando como una cámara húmeda para favorecer el proceso de infección de los hongos. Se realizaron tres repeticiones por concentración. Cada repetición se llevó a cabo en un día diferente pero a la misma hora. Se utilizó un testigo para cada serie de concentraciones

de una cepa por día, al cual sólo se le aplicó el agua destilada estéril más dispersante adherente al 1%.

4.4.2 Análisis estadísticos

Los resultados de patogenicidad se analizaron mediante un Análisis de varianza, y para establecer las diferencias significativas entre las diferentes cepas se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey, (Alfa = 0.05).

En cuanto a los resultados obtenidos de los bioensayos estos se analizaron mediante el programa de computo Análisis PC.PROBIT. Este programa sirvió para estimar la concentración letal media (CL_{50}) mediante la transformación de los datos de mortalidad a unidades probabilísticas (Apéndice B).

Posteriormente con la ayuda del programa de computo SAS, se realizó un análisis de varianza con las CL_{50} de las diferentes cepas probadas sobre el 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes*, para establecer diferencias entre ellas y por medio de la prueba de comparación de medias de Tukey (Alfa = 0.05), se determinaron diferencias significativas.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 CRIA DE LA MOSCA BLANCA *Trialeurodes vaporariorum*

Para que la cría prospere se requieren de condiciones controladas principalmente de temperatura, de 20 a 30°C y condiciones de higiene, evitando la presencia de organismos que puedan afectar a la población de *Trialeurodes* como es el caso de parasitoides, ácaros o patógenos.

En condiciones de invernadero al igual que en condiciones naturales, la densidad poblacional de *Trialeurodes vaporariorum* tiende a bajar durante el verano e invierno, debido a las condiciones climáticas que imperan en estas épocas, como lo son las lluvias que trae como consecuencia altas humedades y bajas temperaturas, afectando a la población de mosquita, por lo cual es necesario, mantener un control estricto de las condiciones de cría.

El ciclo de vida *T. vaporariorum*, huevo - adulto, ocurre a una temperatura de 20 a 25°C en un período de 38 a 40 días. La eclosión de los huevecillos se da entre los 7 y 8 días, después de ocurrida la oviposición; el desarrollo del primero al cuarto estadio ninfal toma aproximadamente 25 días, mientras que la emergencia de los adultos sucede a los seis y siete días a partir del 4to. estadio ninfal.

5.2 SUSCEPTIBILIDAD DE *T. vaporariorum* A *B. bassiana*

5.2.1 Patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Trialeurodes vaporariorum*

En las pruebas en que el 4to. estadio ninfal estuvo en contacto con el hongo *B. bassiana*, se observó que un gran número de ninfas tratadas mostraba a los 3 o 4 días, la presencia del hongo en su superficie, es decir estaban micosadas. En algunos tratamientos el número de

individuos afectados fue incrementando paulatinamente. Del tercero al sexto día, la mortalidad fue más notable (Cuadro 3). Posterior al sexto día los individuos no infectados empezaban a emerger como adultos, por lo que este día se seleccionó como período límite para realizar las observaciones, sobre la actividad patogénica de las cepas.

Las ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* infectadas con la cepa **BbGC**; desarrollaron una pigmentación rosada, lo cual indica que esta produce el pigmento oosporeína. En el resto de las cepas probadas, la momificación y presencia de micelio sobre las ninfas constituyeron los síntomas evidentes de que la infección había tenido lugar.

5.2.2 Diferencias en mortalidad de *T. vaporariorum* después de ser tratadas con *B. bassiana*

Considerando el tiempo en que ocurrió la mortalidad de las ninfas, es evidente que la cepa **BbCO** tiene características que reflejan su mayor potencialidad como agente microbiano. Esta cepa a los tres días infectó más del 80% de ninfas tratadas, y a partir del cuarto día el porcentaje de mortalidad fue el más alto en comparación con el resto de las cepas probadas (Cuadro 3; Fig. 3). La cepa **BbN** al igual que la cepa **BbCO** causó alta mortalidad sobre el 4to. estadio ninfal, la cual se manifestó desde el cuarto día después del tratamiento. Las cepas **BbUAT02** y **BbUAT18** a las 72 horas fueron de dos a tres y media veces menos patogénicas que la **BbCO**.

De esta manera se observa claramente que no todas las cepas de *Beauveria bassiana* tienen la capacidad de infectar a este insecto con la misma agresividad. Es importante resaltar que las cepas más patogénicas son aislamientos obtenidos de broca del café (**BbCO**), de mosquita blanca (**BbN**), de chapulín (**BbUAT02** y **BbUAT18**) y de gallina ciega (**BbGC**), esto permite resaltar la importancia que tiene la selección de cepas.

De acuerdo al análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de los porcentajes de mortalidad, mediante la prueba de Tukey (Alfa = 0.05), las cepas **BbCO**, **BbN**, **BbUAT02**, **BbUAT18**, **Bb9**, y **BbGC** (Cuadro 4; Fig.4), son estadísticamente iguales, además de

que fueron las que provocaron los porcentajes de mortalidad más altos, mientras que la cepa **Bb1** presentó el valor más bajo de mortalidad (19.70%). Sin embargo las cepas que resultaron ser más patógenas, a partir del 3er. día, sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum* fueron la **BbCO** y la **BbN** (Fig. 3).

Las cepas que rebasaron el 60% de mortalidad, (Cuadro 4), fueron consideradas como las más agresivas de *B. bassiana* y fueron seleccionadas para compararse mediante bioensayos y determinar su virulencia en base a su CL_{50} .

Cuadro 3. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada del 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes vaporariorum* después de la aplicación de catorce cepas de *Beauveria bassiana*.

CEPAS	Porcentaje de mortalidad en diferentes días después de la aplicación de <i>B. bassiana</i> .					
	1	2	3	4	5	6
BbCO	0	0	81.02	95.23	95.23	95.23
BbN	0	0	74.56	88.55	88.55	88.55
BbUAT02	0	0	32.48	57.91	75.70	82.43
BbUAT18	0	0	21.51	61.10	69.17	79.35
Bb9	0	1.98	10.54	17.81	32.41	78.46
BbGC	0	0	6.95	26.56	65.81	76.19
Bb16	0	0	28.21	47.55	61.43	65.15
Bb5	0	0	2.26	12.26	38.22	50.70
Bb24	0	0	0	8.42	35.76	50.46
Bb6	0	0	0	21.20	39.00	50.38
Bb17	0	2.25	14.88	26.16	38.24	49.88
Bb8	0	0	0	18.67	34.35	37.05
Bb10	0	0	0	4.06	19.34	29.25
Bb1	0	0	0	9.11	14.47	19.70

n = no. de repeticiones

n = 3 a 6

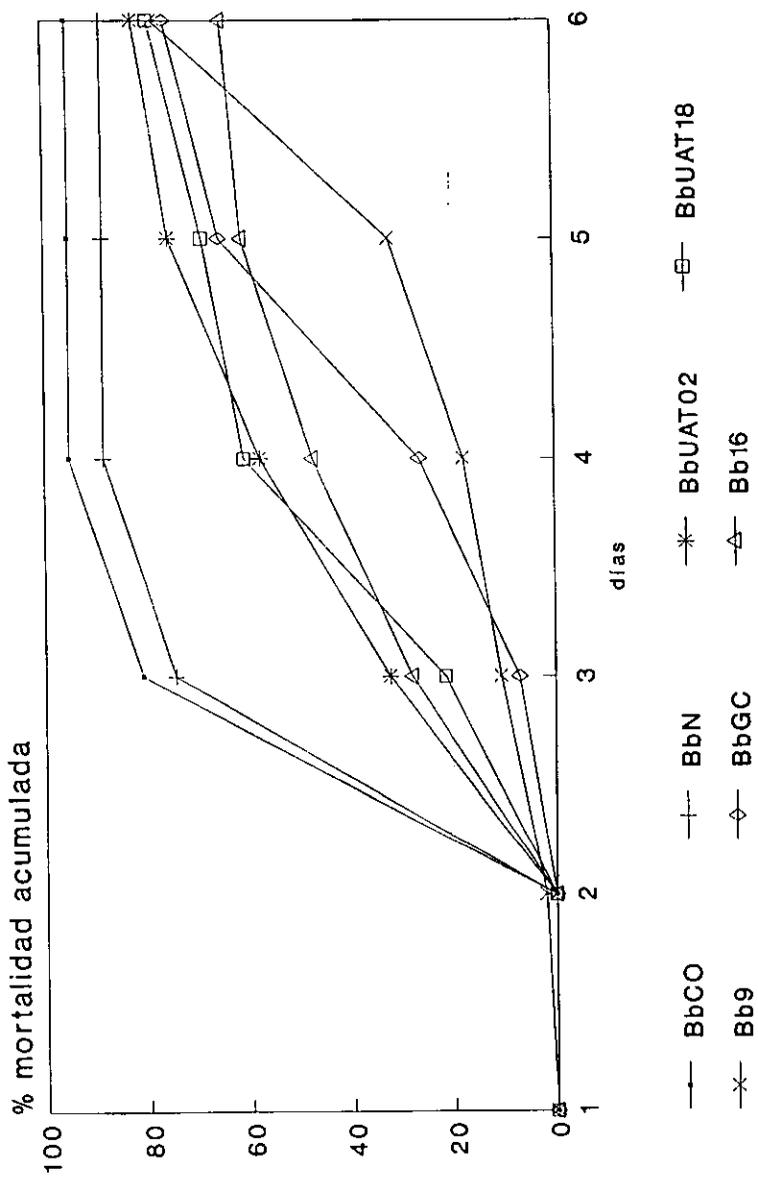


Fig.3. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum* causada por las siete cepas más patogénicas de *B. bassiana*.

Cuadro 4. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al 6to. día después de la aplicación de *Beauveria bassiana* sobre el 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes vaporariorum*.

CEPAS	% MORTALIDAD AL 6to. DÍA DESPUES DE LA APLICACION
BbCO	95.23 a
BbN	88.55 a
BbUAT02	82.43 a b
BbUAT18	79.35 a b
Bb9	78.46 a b
BbGC	76.19 a b
Bb16	65.15 b c
Bb5	50.70 b c d
Bb24	50.46 b c d
Bb6	50.38 b c d
Bb17	49.88 b c d
Bb8	37.05 c d e
Bb10	29.25 c d e
Bb1	19.70 e

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes; Tukey. Alfa = 0.05. ANOVA (Apéndice C)

5.2.3 Concentración Letal Media (CL₅₀)

De los resultados obtenidos se observan diferencias en mortalidad entre las siete cepas que se compararon mediante bioensayo (Cuadro 5). Las cepas **BbGC**, **BbCO** y **BbN** a la concentración de 1% (1×10^8 con/ml) alcanzaron un 90.7%, 98.7% y 96% de mortalidad respectivamente; siguiéndoles las cepas **Bb16** y **BbUAT18** con 88% y 85.3% de mortalidad, sin embargo estas requirieron el doble de concentración (2×10^8 con/ml).

Con las cepas restantes fue necesario tener concentraciones más altas para alcanzar mortalidades similares a las mencionadas (Cuadro 5). Las cepas **BbCO**, **BbN** y **BbGC** fueron las que alcanzaron los porcentajes de mortalidad más altos con una concentración de 1×10^8 con/ml. al to. día de evaluación (Cuadro 5) y considerándose como las más agresivas. La mortalidad registrada fue directamente proporcional a la concentración utilizada; en otras palabras a mayor concentración mayor mortalidad.

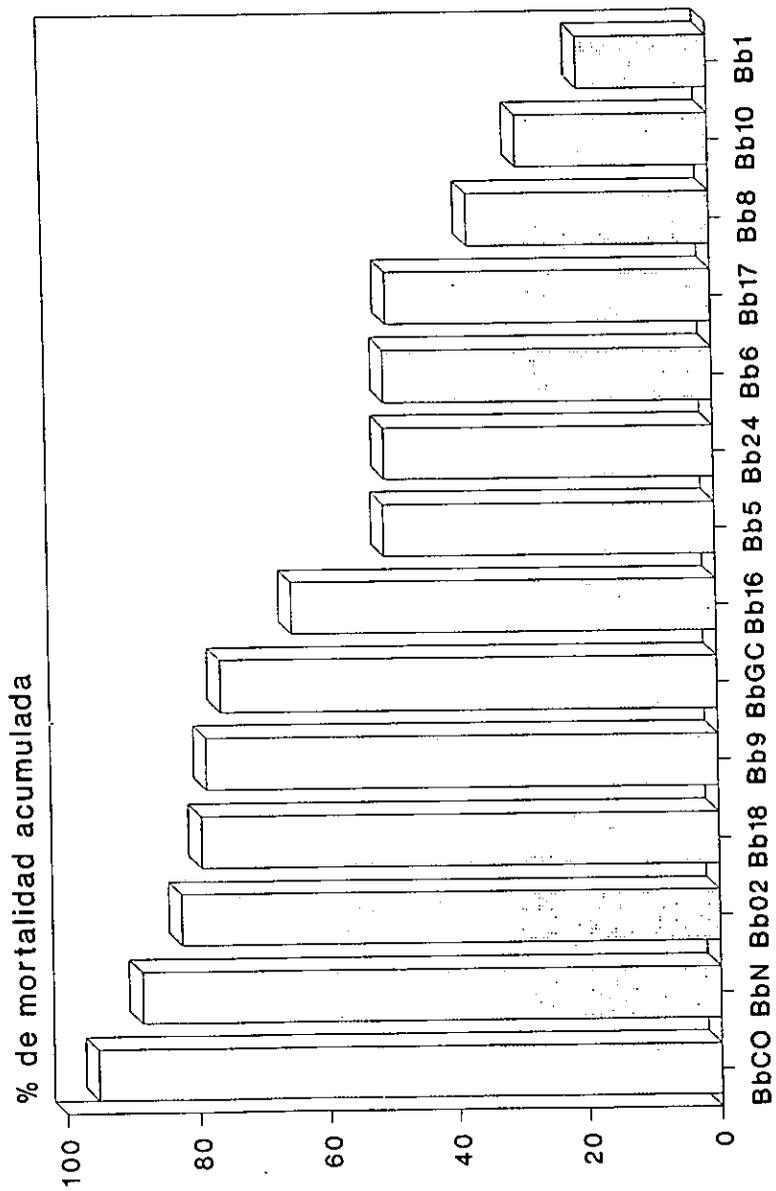


Fig.4. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al 6to. día después de la aplicación de

B. bassiana (1x10⁴ con/ml) sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

Cuadro 5. Porcentajes de la mortalidad de *T. vaporariorum* tratada con diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*, al cuarto día de evaluación.

CEPAS	CONCENTRACION PORCENTUAL	CONCENTRACION Conidios/ml.	PORCENTAJES DE MORTALIDAD
BbGC	1.0	1×10^8	90.7
	0.5	5×10^7	77.3
	0.25	2.5×10^7	61.3
	0.125	1.25×10^7	48.0
	0.0625	6.25×10^6	41.3
	0.03125	3.12×10^6	30.7
	0.01562	1.56×10^6	13.3
	0.00781	7.81×10^5	4.0
BbCO	1.0	1×10^8	98.7
	0.5	5×10^7	90.7
	0.25	2.5×10^7	76.0
	0.125	1.25×10^7	53.3
	0.0625	6.25×10^6	34.7
	0.03125	3.12×10^6	21.3
	0.01562	1.56×10^6	13.3
	0.00781	7.81×10^5	6.7
0.00390	3.90×10^5	2.7	
BbN	1.0	1×10^8	96.0
	0.5	5×10^7	81.3
	0.25	2.5×10^7	61.3
	0.125	1.25×10^7	46.7
	0.0625	6.25×10^6	37.3
	0.03125	3.12×10^6	14.7
	0.01562	1.56×10^6	4.0
	0.00781	7.81×10^5	1.3
BbUAT18	1.0	2×10^8	85.3
	0.5	1×10^8	73.3
	0.25	5×10^7	61.3
	0.125	2.5×10^7	52.0
	0.0625	1.25×10^7	45.3
	0.03125	6.25×10^6	37.3
	0.01562	3.12×10^6	30.7
	0.00781	1.56×10^6	26.0
	0.00390	7.81×10^5	18.0
0.00195	3.90×10^5	8.0	
Bb16	1.0	2×10^8	88.0
	0.5	1×10^8	62.7
	0.25	5×10^7	46.7
	0.125	2.5×10^7	34.7
	0.0625	1.25×10^7	20.0
	0.03125	6.25×10^6	9.3

Continuación Cuadro 5.

CEPAS	CONCENTRACION PORCENTUAL	CONCENTRACION Conidios/ml.	PORCENTAJES DE MORTALIDAD
BbUAT02	1.0	4×10^8	74.7
	0.5	2×10^8	58.7
	0.25	1×10^8	44.0
	0.125	5×10^7	36.0
	0.0625	2.5×10^7	28.0
	0.03125	1.25×10^7	21.3
	0.01562	6.25×10^6	13.3
	0.00781	3.12×10^6	9.3
Bb9	1.0	8×10^8	98.7
	0.5	4×10^8	73.3
	0.25	2×10^8	46.7
	0.125	1×10^8	21.3
	0.0625	5×10^7	12.0
	0.03125	2.5×10^7	4.0

n = 3

Los resultados obtenidos en los bioensayos (utilizando como planta hospedera al jitomate), al 4to. día de evaluación, con las diferentes cepas de *Beauveria bassiana*, mostraron valores más altos de mortalidad que lo observado en las pruebas de patogenicidad, en donde se utilizó como planta hospedera al frijol. En la cepa **BbGC**, por ejemplo, los valores de patogenicidad fueron de 26.56% mientras que en el bioensayo se alcanzó el 90.7% de mortalidad, ambos resultados obtenidos con la misma concentración de conidios (1×10^8 con/ml). De igual manera se obtuvieron porcentajes de mortalidad más altos en los bioensayos con las cepas **BbCO**, **BbN**, **BbUAT18** y **Bb16** (Cuadro 6, Fig. 5). Estas diferencias en resultados se pueden deber a las interferencias provocadas por la planta hospedera utilizada en cada prueba, en base a esta comparación se puede decir que el frijol utilizado en las pruebas de patogenicidad tiene un efecto negativo en el desarrollo de la micosis sobre el insecto infectado, no así el jitomate utilizado en los bioensayos, en donde la infección de las ninfas al 4to. día de evaluación alcanzó altos porcentajes de mortalidad. Estos resultados indican la importancia que tiene la planta hospedera en el desarrollo del insecto y de los microorganismos patógenos (Hajek y St Leger, 1994; Ramoska y Toodd, 1985).

Cuadro 6. Porcentajes promedio de la mortalidad del 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes vaporariorum* al cuarto día después de la aplicación de *Beauveria bassiana* a una concentración de 1×10^8 con/ml.

CEPAS	PATOGENICIDAD P.H. Frijol	BIOENSAYO P.H. Jitomate
BbGC	26.56	90.7
BbCO	95.23	98.7
BbN	88.55	96.0
BbUAT18	61.10	73.3
Bb16	47.55	62.7
BbUAT02	57.91	44.0
Bb9	17.81	21.3

P.H.= Planta hospedera

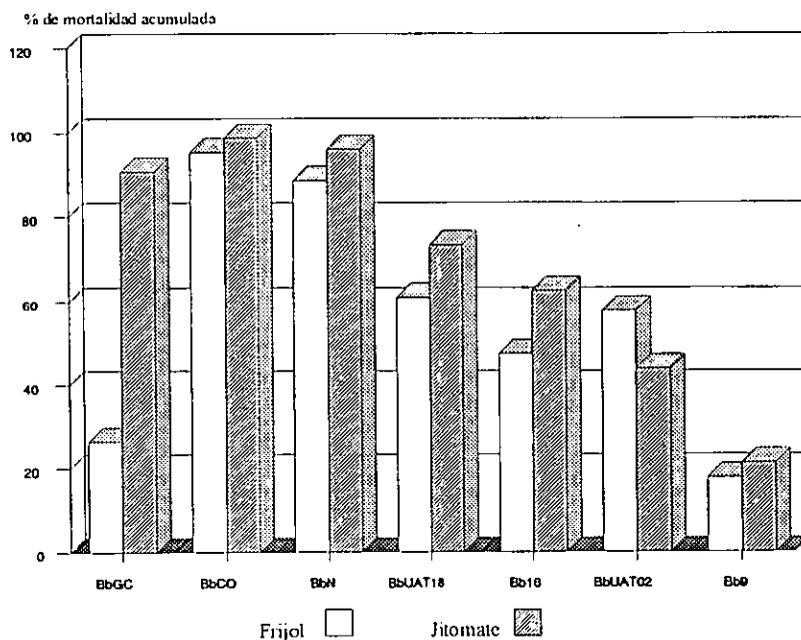


Fig. 5. Porcentaje promedio de la mortalidad acumulada al 4to. día después de la aplicación de *B. bassiana* (1×10^8 con/ml) sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

El análisis Probit realizado con los resultados de los bioensayos de las siete diferentes cepas de *Beauveria bassiana* sobre *Trialeurodes vaporariorum* se muestran en el cuadro 7; en el cual se incluyen los valores de CL_{50} , CL_{95} , (Concentración con/ml), límites fiduciales al 95%, la ecuación de regresión y el valor de la chi - cuadrada.

Las diferentes cepas de *Beauveria bassiana* tienen la capacidad de matar al 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes vaporariorum*. Sin embargo de acuerdo al análisis probit las cepas **BbGC**, **BbCO**, **BbN** y **BbUAT18** fueron las que mostraron valores menores de CL_{50} , además de ser estadísticamente iguales, siendo las más virulentas (Cuadro 7, Fig.6). Sin embargo, la cepa **BbUAT18** muestra un valor bajo de la pendiente (0.81)(Cuadro 7), en comparación con las demás cepas, lo que indica que se utilizó un amplio rango de concentraciones, y además también, representa heterogeneidad en los resultados refiriéndonos al efecto de la cepa, por lo que al menos, biológicamente es diferente en virulencia; ya que mientras mayor sea el valor de la pendiente, mayor será la uniformidad de la respuesta de la población con respecto al hongo aplicado.

Mientras que las cepas **Bb16**, **BbUAT02** y **Bb9** fueron diferentes, presentando CL_{50} 's más altas y reflejándose en una menor virulencia (Cuadro 7, Fig.7).

También se observa que la cepa **BbGC** es 2.1 veces más agresiva que la **BbUAT18**, y 1.75 y 1.17 que la **BbN** y la **BbCO**, lo cual la hace, más virulenta que las cepas antes mencionadas (Fig. 6). Aún cuando el análisis de varianza y una prueba de medias Tukey (Alfa= 0.05) (Apéndice C) muestra que estadísticamente la **BbGC** es igual en virulencia a las cepas antes mencionadas (Cuadro 7).

Esta característica de virulencia parece estar relacionada con la secreción del pigmento oosporeina, ya que los cadáveres mostraron un color rosado; y se podría pensar que la secreción de dicho pigmento le confiere una mayor virulencia a la cepa **BbGC**, que fué la única que manifestó la presencia de dicho pigmento. En un trabajo similar realizado por Feng y Jonhson (1990), ellos obtuvieron que las cepas más patógenas de *Beauveria bassiana* sobre *Diuraphis*

noxia fueron las que presentaban la secreción del pigmento oosporeína, aunque concluyen que la patogenicidad de estas cepas no se puede relacionar con la producción de dicho pigmento ya que su toxicidad es aún desconocida.

De forma general se puede decir que las ninfas del 4to. estadio de *Trialeurodes vaporariorum* mostraron diferencias en la respuesta al ser tratadas con las siete diferentes cepas de *Beauveria bassiana*. La diferencia en la respuesta a cada una de las cepas de *B. bassiana* puede obedecer a factores importantes tales como resistencia de los insectos a la invasión por patógenos, dada por las múltiples barreras fisiológicas que desarrollan los hospederos como defensa a los tóxicos (Hajek y St. Leger, 1994).

Además, Roberts (1989), menciona que los hongos entomopatógenos presentan una diversidad bioquímica con respecto a su hospedero y distribución geográfica, y que la especificidad de los hongos está en función del tipo y concentración de enzimas presentes como proteasas, quitinasas y lipasas. Roberts establece que el hongo produce toxinas que alteran las funciones fisiológicas del organismo y como consecuencia el insecto llega a morir. Es importante mencionar que *B. bassiana* es un entomopatógeno que afecta a insectos de diferentes ordenes en donde la patogenicidad que presentan los diferentes aislamientos, puede estar en relación al insecto hospedero (Fransen, 1990).

Considerando los resultados obtenidos, se hace necesario realizar pruebas de patogenicidad sobre los diferentes estados de desarrollo, de la mosquita blanca, así como utilizar distintas plantas hospederas para determinar su efecto y optimizar el uso de *Beauveria bassiana* en el control de *Trialeurodes vaporariorum*.

Cuadro 7.- Análisis Probit de los datos de los bioensayos con diferentes cepas de *Beauveria bassiana* contra ninfas del 4to. estadio de *Trialeurodes vaporariorum*.

CEPA	CL ₅₀	Con/ml	CL ₉₅	Limites Fiduciales	Ecuación de regresión	X ²
BbGC	0.078	7.78 x 10 ⁶ a	1.4	0.055-0.113	Y=6.482+1.32X	4.2
BbCO	0.091	9.11 x 10 ⁶ a	0.8	0.068-0.370	Y=6.749+1.68X	3.0
BbN	0.136	1.36 x 10 ⁷ a	1.2	0.102-0.185	Y=6.526+1.75X	3.0
BbUAT18	0.041	1.64 x 10 ⁷ a	4.3	0.024-0.071	Y=6.131+0.81X	2.3
Bb16	0.126	5.02 x 10 ⁷ b	0.9	0.094-0.172	Y=6.671+1.85X	4.3
BbUAT02	0.231	1.10 x 10 ⁸ c	31.6	0.139-0.511	Y=5.707+1.02X	2.1
Bb9	0.245	1.96 x 10 ⁸ d	1.1	0.193-0.315	Y=6.559+2.55X	3.3

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes
 Tukey, Alfa=0.05
 n = 3

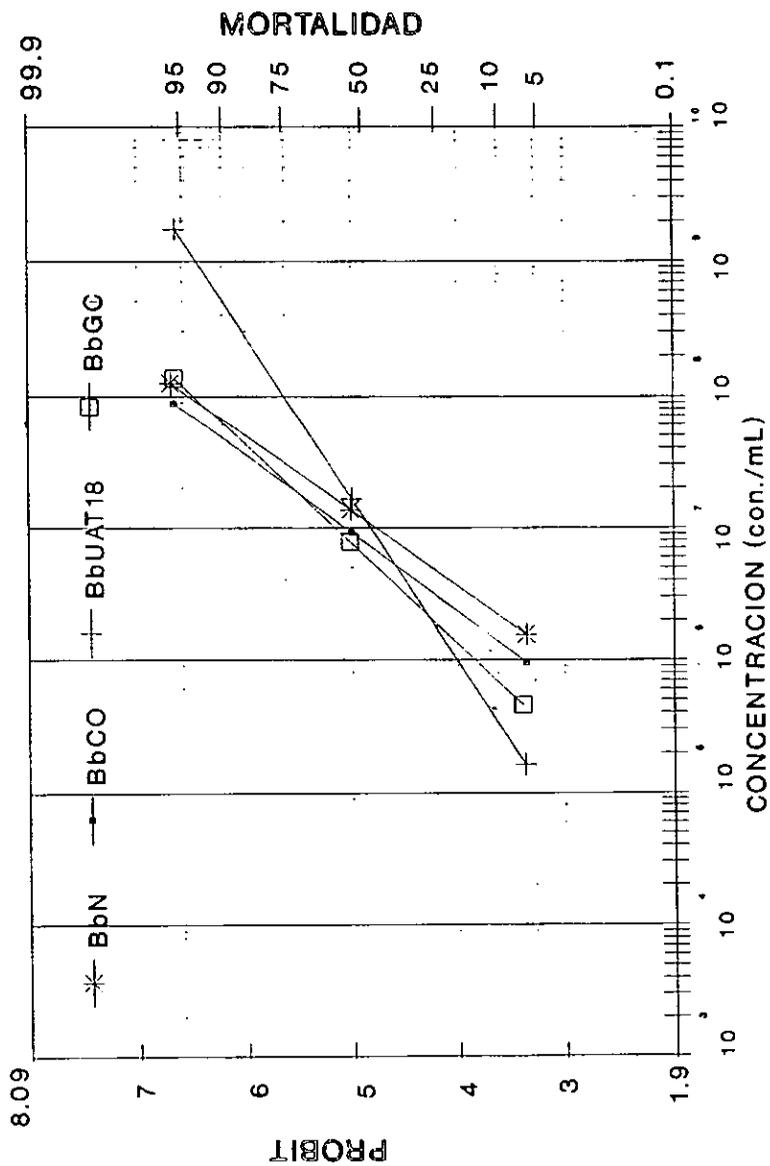


Fig.6. Líneas de respuesta concentración - mortalidad observadas con cuatro cepas de *B. bassiana* sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

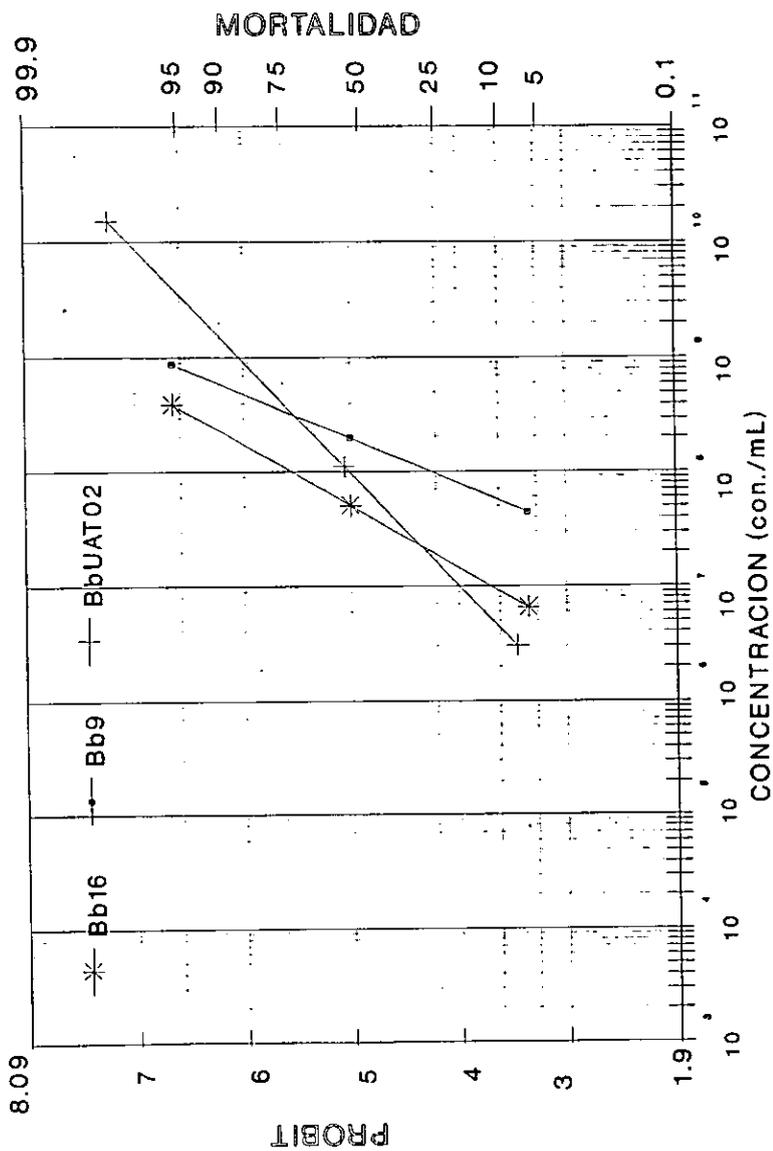


Fig.7. Líneas de respuesta concentración - mortalidad observadas con tres cepas de *B. bassiana* sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

6. CONCLUSIONES

- En condiciones de invernadero la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* a una temperatura de 20 - 25°C requiere de 25 días para completar su desarrollo ninfal del primero al cuarto estadio. Los adultos toman de 6 a 7 días para su desarrollo y emergencia a partir del 4to. estadio ninfal, mientras que la eclosión de los huevecillos se da a los 8 y 9 días de ocurrida la oviposición. Por lo tanto el ciclo de vida de *Trialeurodes vaporariorum* de huevecillo a adulto es de 38 a 40 días.

- Las pruebas de patogenicidad, en plantas de frijol, realizadas sobre el 4to. estadio ninfal de *T. vaporariorum* permitieron seleccionar las cepas de *B. bassiana* que provocaron una mortalidad arriba del 60%; siendo las cepas **BbCO** con 95.23%, **BbN** con 88.55%, **BbUAT02** con 82.43%, **BbUAT18** con 79.35%, **Bb9** con 78.46%, **BbGC** con 76.19% y la **Bb16** con 65.15%, considerándose como las de mayor patogenicidad, al 6to. día de evaluación.

- En los bioensayos, utilizando como planta hospedera al jitomate, los valores de la CL_{50} más bajos correspondieron a las cepas **BbGC** con 7.78×10^6 con/ml, **BbCO** con 9.11×10^6 con/ml, y la cepa **BbN** con 1.36×10^7 con/ml., que resultaron ser estadísticamente iguales y por lo tanto las más virulentas, al 4to. día de evaluación.

- Las diferencias observadas, en las respuestas de patogenicidad y virulencia, a una misma concentración de 1×10^8 con/ml., puede obedecer a interferencias dependientes del hospedero sobre el cuál se alimentó el insecto; ya que se obtuvieron mayores porcentajes de mortalidad con las cepas **BbGC**, **BbCO**, **BbN**, **BbUAT18**, **Bb16** y **Bb9** al cuarto día de evaluación, utilizando como planta hospedera al jitomate en comparación con las pruebas realizadas sobre frijol.

- Y por último no todas las cepas de *Beauveria bassiana* tienen la capacidad de infectar al cuarto estadio ninfal con la misma agresividad; las cepas **BbGC**, **BbCO**, y **BbN** fueron las que presentaron el mayor grado de virulencia, por presentar las CL_{50} 's más bajas, considerándolas como agentes potenciales para el manejo de *T. vaporariorum*.

7. BIBLIOGRAFIA

Abbot W.S., 1925. **A Method of computing the efectivness of an insecticide.** Journal Economic Entomology 18: 265 - 267.

Aguirre U. L.A. y Soria M.J., 1993. **Generalidades sobre mosquitas blancas.** En: Memorias del II Taller sobre Control Biológico de Mosquita Blanca. SARH - CNRDF. Fundación Tecnológica de Sinaloa. pp. 6 - 12.

Alatorre R.R., 1994. **Desarrollo del control biológico.** En: Memorias del V Curso de Control Biológico. Instituto Tecnológico Agropecuario, Oaxaca, Oax. pp. 1 - 5.

Alfaro L.A.L., 1995. **Biología de *Sphenarium purpurascens* Charp. (Orthoptera: Acrididae) y patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en laboratorio.** Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. México, 67 pp.

Allee L.L., Goettel M.S., Gol'berg A., Whitney H.S. y Roberts D.W., 1990. **Infection by *Beauveria bassiana* of *Leptinotarsa decemlineata* larvae as a consequence of fecal contamination of the integument following per os inoculation.** Mycopathologia 111: 17 - 24.

Arredondo y Mellin, 1995. **Los parasitoides en el control biológico de mosqita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) en México.** En: Memorias del Simposio sobre Control Biológico de Mosquita Blanca. Tapachula, Chis., CNRCB; SMCB y ECOSUR (Colegio de la Frontera Sur). pp. 4 - 15.

Beham W.R. y Miranda L.J., 1953. **The genus *Beauveria*, Morphological and taxonomical Studies of several species and of two strains isolated from Wharf - piling borers.** Mycología Vol. 45: 727 - 746.

Bellows T.S., Perring T.M., Gill R.J. y Headrick D.H., 1994. **Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae).** Ann. Entomol. Soc. Am. 87(2): 195 - 206.

Bink Moenen R.M. y Mound L.A., 1990. **Whiteflies: Diversity, Biosystematics and Evolutionary patterns.** In: Gerling D. (ed.), Whiteflies their bionomics, pest status and managment. pp. 1 - 12.

Burnett T., 1949. **The effect of temperature on an insect host - parasite population.** Ecology 30 (1): 113 - 134.

Byrne D.N. y Bellows T.S., 1991. **Whitefly biology.** Annual Review Entomology 36: 431 - 457.

Carruthers I.R., 1993. **El uso de hongos como agentes de control biológico de insectos plaga y el impacto de *Paecilomyces fumosoroseus* sobre *Bemisia tabaci*.** En: Memorias del II Taller sobre Control Biológico de Mosquita blanca. SARH - CNRDF. Fundación Tecnológica de Sinaloa. pp. 29 - 36.

Cave R.N., 1994. **¿ Es viable el control biológico de un vector de geminivirus como *Bemisia tabaci* ?** Manejo Integrado de Plagas 43: 18 - 22.

De Bach P., 1987. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas.** C.E.C.S.A. México, D.F. 949 pp.

De la Rosa R.W., 1993. **Manejo del hongo entomopatígeno *Beauveria basiana* (Bals) Vuill. y su efecto sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) y su parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* Betrem.** Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chapingo. México 100 pp.

- Dittrich S.V. y Ernest G.H., 1990. **Chemical control and insecticide resistance of whiteflies.** In: Dan Gerling (ed), *Whiteflies: their Bionomics, pest Status and Management.* Intercept, Andover, U.K. 263 - 285.
- Duarte M., 1956. **Plagas del cultivo del tomate *Lycopersicum esculatum* (Mill) en la región de Culiacán, Sin. México.** Tesis Profesional. Chapingo, México.
- Feng M-G, Johnson J.B. y Kish L.P., 1990. **Virulence of *Verticillium lecanii* and aphid - derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal - infesting aphids (Homoptera: Aphididae).** *Environmental Entomology* 19(3): 815 - 820.
- Feng M-G y Johnson J.B., 1990. **Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae).** *Environmental Entomology* 19(3): 785 - 790.
- Ferron P. y Robert H.P., 1975. **Virulence of entomopathogenic fungi (Fungi Imperfecti) for the adults of *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae).** *Journal Invertebrate Pathology.* 25: 379 - 388.
- Ferron P., 1978. **Biological control of insect pests by entomogeneous fungi.** *Annual Review Entomology* 23: 409 - 442.
- Ferron P., 1981. **Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*.** In: *Microbial control of pest and plant diseases 1970 - 1980.* Burges H.D. (ed.) Academic Press, London. pp. 465 - 482.
- Fransen J.J., 1990. **Natural enemies of whiteflies: Fungi.** In: *Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management.* Ed. Dan Gerling. Great Britain, Atheneum Press. pp. 187 - 205.
- García M.C., 1981. **Lista de Insectos y ácaros perjudiciales a los cultivos de México.** Fitófilo No. 86. DGSV - SARH. 196 pp.

Gerling D., 1990. **Natural enemies of whiteflies: Predators and Parasitoids**. In: Dan Gerling (ed), *Whiteflies their Bionomics, pest Status and Managment*. pp. 187 - 210.

Gerling D., 1992. **Approaches to the biological control of whiteflies**. *Florida Entomologist* 75(4): 446 - 456.

Hajek A.E. y St. Leger R.J., 1994. **Interactions between fungal pathogens and insect hosts**. *Annual Review Entomology* 39: 293 - 322.

Hall R.A., 1982. **Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouses by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii***. *Annals of Applied Biology*. Vol 101, No. 1: 1 - 11.

Holdway F.G., 1945. **Research on data for the control of the agriculture insects in Hawaii**. *Proceedings Hawaii Entomology Society* 12(2): 302 - 308.

Ibarra J.E. y Federici B.A., 1987. **An alternative bioassay employing neonate larvae for determining the toxicity of suspended particles to mosquitoes**. *Journal American Mosquito Control Associate* 3: 187 - 192.

Las A., 1979. **Male courtship persistence in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae)**. *Behaviour* 72: 107 - 125.

Lezama G.R., 1993. **Patogenicidad de hongos (Hyphomycetes) y del nematodo entomopatogeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tesis de Doctorado. Chapingo, México. 153 pp.

Lipa J.J. y Slizynski K., 1973. **Wskazowki metodyczne i terminologia dowyznacznia sredniej dawki swiertelnej (LD₅₀) w patologii owadow i toksykologii**. *Prace Naukowe instytutu ochrony roslin*. Tom. XV. Zeszyt 1. Polonia. 60 - 83.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Maniania N.K., 1991. **Potential of some fungal pathogens for the control of pests in the tropics.** *Insect Science Applic.* (12): 63 - 70.

Marcandier S. y Khachatourians G.G., 1987. **Susceptibility of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Fab)(Orthoptera: Acrididae) to *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin (Hyphomycete); influence of relative humidity.** *Canadian Entomology* 119: 901 - 907.

Mc Gregor R., 1983. **Guía de Insectos nocivos para la agricultura en México.** Por R.M y Odile Gtz., México. México Alhambra Mexicana. 166 pp.

Mier T., Rivera F., Bermudez J.C., Domínguez Y., Benavides C. y Ulloa M., 1991. **Primer reporte en México del aislamiento de *Verticillium lecanii* a partir de la mosquita blanca y pruebas de patogenicidad *In vitro* sobre este insecto.** *Revista Mexicana Micológica* 7: 149 - 156.

National Academic of Sciences, 1980. **Manejo y control de plagas e insectos.** Trad: Modesto Rodríguez de la Torre. Limusa, México. 522 pp.

Ortega Arenas L.D., 1992. **Mosquitas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) vectores de virus en hortalizas.** En: *Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México.* Colegio de Postgraduados, Centro de Entomología y Acarología. Chapingo, México. pp. 20 - 40.

Osborne L.S. y Landa Z., 1992. **Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi.** *Florida Entomologist* 75(4): 456 - 471.

Prabhaker N.; Coudriet L. y Meyerdirk D.F., 1985. **Insecticide resistance in the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae).** *Journal Economic Entomology* 78(4): 748 - 752.

- Prabhaker N.; Toscano N.C.; Perring T.M.; Nuessley G.; Kido K. y Youngman R.R., 1992. **Resistance monitoring of the sweet whitefly (Homoptera: aleyrodidae) in the imperial valley of California.** Journal Economic Entomology 85(4): 1063 - 1068.
- Ramoska W.A. y Tood T., 1985. **Variation in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the Chinch Bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on select host plants.** Enviromental Entomology 14: 146 - 148.
- Roberts D.W., 1981. **Toxins of entomopathogenic fungi.** In: Microbial Control of Pest and Plant diseases. 1970 - 1980. Burges, H.D. (ed). Academic Press, London, New York. 441 - 464.
- Roberts D.W., 1989. **World picture of biological control of insect by fungi.** Memn. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Vol. 84 - 100.
- Rombach M.C.; Aguda R. M.; Shepard B. M. y Roberts D.W., 1986. **Infection on rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* by field application of entomopathogenic hyphomycetes.** Enviromental Entomology 15: 1070.
- Romero M.A., 1995. **FITOFILO Desafios fitosanitarios: Mosquita blanca.** SAGAR, No. 88, Mayo - junio. p. 16.
- Rosas A.J.L., 1994. **Hongos entomopatógenos para el control de plagas insectiles.** En: Memorias del V Curso de ControlBiológico. Instituto Tecnológico Agropecuario. Oaxaca, Oax. pp. 85 - 99.
- Rusell L.M., 1963. **Host and distribution of five species of *Trialeurodes* (Homoptera: Aleyrodidae).** Ann. Entomol. Soc. Am. 5: 149 - 153.
- Schrader F., 1920. **Sex determitation in the whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*).** J. Morph. 54: 267 - 305.

- Sifuentes A.J.A., 1953. **Contribución al estudio de la biología y control de *Trialeurodes vaporariorum* West. en frijol.** Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura Antonio Narro. Coahuila, México.
- Sohm E.B., 1979. **Investigations on the potential of parasitic fungus (*Verticillium lecanii*) for Biological Control of the Green house whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*).** Swedish Journal Agricultural Research 9: 129 - 138.
- Tanada Y. y Kaya H.K. 1993. **Fungal infections.** In: Insect pathology. Tanada Y. and Kaya H.K. (eds). Academic Press, Inc. San Diego, Cal. 3182 - 387.
- Vázquez N.J.M. 1993. **Elaboración de un documento de referencia para el monitoreo de resistencia a plaguicidas en artrópodos mediante bioensayo.** Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México, México. 187 pp.
- Walstad J.D., Anderson R.F. y Stambaugh W.J., 1970. **Effects of enviromental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*).** Journal of Invertebrate Pathology 16: 221 - 226.
- Weigwl C.A., 1925. **Futher data on the use of calcium cyanide as a greenhouse fumigant.** J. Economic Entomology 18: 137 - 141.
- Woods D.S. y Grula A.E., 1984. **Utilizable surface nutrients on *Heliothis zea* available for grow on *Beauveria bassiana*.** Journal Invertebrate Pathology (43): 259 - 269.
- Yendol W.G. y Paschke J.D., 1965. **Pathology of an Entomophthora infection in the eastern subterranean termite *Reticulitermes flaviceps* (Kollar).** Journal Invertebrate Pathology 7: 414 - 442.
- Zimmerman E.C., 1948. **Homoptera: Sternorhyncha.** Insects of Hawaii. Vol. 5. p.48.

8. APENDICE A

CONCENTRACIONES PORCENTUALES Y CONIDIALES CORRESPONDIENTES A 7
CEPAS DE *Beauveria bassiana*.

CEPAS	CONCENTRACION PORCENTUAL (%)	CONCENTRACION CONIDIAL (Con/ml)
BbGC	1.0	1×10^8
	0.5	5×10^7
	0.25	2.5×10^7
	0.125	1.25×10^7
	0.0625	6.25×10^6
	0.03125	3.12×10^6
	0.01562	1.56×10^6
	0.00781	7.81×10^5
BbCO	1.0	1×10^8
	0.5	5×10^7
	0.25	2.5×10^7
	0.125	1.25×10^7
	0.0625	6.25×10^6
	0.03125	3.12×10^6
	0.01562	1.56×10^6
	0.00781	7.81×10^5
BbN	1.0	1×10^8
	0.5	5×10^7
	0.25	2.5×10^7
	0.125	1.25×10^7
	0.0625	6.25×10^6
	0.03125	3.12×10^6
	0.01562	1.56×10^6
	0.00781	7.81×10^5
BbUAT18	1.0	2×10^8
	0.5	1×10^8
	0.25	5×10^7
	0.125	2.5×10^7
	0.0625	1.25×10^7
	0.03125	6.25×10^6
	0.01562	3.12×10^6
	0.00781	1.56×10^6
	0.00390	7.81×10^5
0.00195	3.90×10^5	

CEPAS	CONCENTRACION PORCENTUAL (%)	CONCENTRACION CONIDIAL (Con/ml)
Bb16	1.0	2×10^8
	0.5	1×10^8
	0.25	5×10^7
	0.125	2.5×10^7
	0.0625	1.25×10^7
	0.03125	6.25×10^6
BbUAT02	1.0	4×10^8
	0.5	2×10^8
	0.25	1×10^8
	0.125	5×10^7
	0.0625	2.5×10^7
	0.03125	1.25×10^7
	0.01562	6.25×10^6
0.00781	3.12×10^6	
Bb9	1.0	8×10^8
	0.5	4×10^8
	0.25	2×10^8
	0.125	1×10^8
	0.0625	5×10^7
	0.03125	2.5×10^7

APENDICE B

ANALISIS PROBIT

La relación dosis - respuesta esta constituida por dos componentes: el estímulo y el sujeto. Los datos que resultan de un bioensayo son: dosis empleada, número de individuos tratados y número de individuos que responden al tratamiento. Si se gráfica la proporción de organismos que responden contra la dosis con que fueron tratados se obtiene una curva que generalmente presenta una forma sigmoideal, la cual, es difícil de comparar e interpretar, por lo que se debe de transformar para poder ajustar a un modelo lineal. Es necesario usar el logaritmo de la dosis y cambiar el porcentaje de mortalidad a unidades probit (Finney, 1971 citado en Vázquez, 1993).

Existen tablas que permiten hacer directamente dichas transformaciones y un programa PC. PROBIT, que facilita el procesamiento de los datos. Mediante este proceso se pretende estimar los parámetros de la ecuación de una línea de regresión que relaciona datos transformados de dosis y porcentajes de respuesta, mediante el método de máxima verosimilitud así como los límites fiduciales de los estimadores.

Al probar las diferentes cepas de *Beauveria bassiana*, sobre el 4to. estadio ninfal de *Trialeurodes vaporariorum*, se utilizaron concentraciones determinadas del patógeno, desconociéndose la cantidad exacta que cubre a cada insecto. Por tal motivo no se habla de DL_{50} , sino más bien de CL_{50} (concentración letal media).

La importancia de los estimadores en el análisis Probit radica en sus límites fiduciales, que representan el intervalo del estimador, a un nivel de probabilidad determinado (generalmente 95% o 99%), entre más estrecho sea este intervalo, más preciso y confiable es el estimador.

Adicional a ésto existen otros dos parámetros importantes en este análisis: la chi - cuadrada y la pendiente. El valor de la chi - cuadrada refleja la similitud entre los datos obtenidos del bioensayo y los representados por la línea o teóricos. Un valor mínimo de la chi - cuadrada expresa una máxima similitud.

El valor de la pendiente de la línea de regresión $Y = a + bx$ (donde Y es el valor Probit, a es la ordenada al origen, b la pendiente de la línea de regresión y el x el logaritmo de las dosis), nos refleja la adecuación de la serie de concentraciones probadas y la magnitud del efecto de la variable independiente (Log dosis). Así valores de pendiente bajos indican un amplio rango de dosis, lo cual es probable que se trate de una proporción alta de individuos con genotipo resistente al tóxico; y entonces, a mayor pendiente mayor homogeneidad.

Para considerar un bioensayo como válido se deben tomar en cuenta los siguientes requisitos:

- 1.- El valor de la pendiente de la línea de regresión debe de ser de 1.5 a 6.
- 2.- La Chi - cuadrada deberá ser menor de 5.
- 3.- La división entre el límite fiducial mayor y el menor debe de ser menos de 2.
- 4.- La mortalidad natural en el testigo no debe de exceder al 10%.
- 5.- La CL_{50} estimada deberá ubicarse por lo menos dos valores abajo de la dosis probada más alta y dos valores arriba de la más baja.
- 6.- La distribución de la mortalidad deberá encontrarse en un 90 a un 10% dentro de cuatro de las dosis probadas.
- 7.- Deberán realizarse un mínimo de tres repeticiones válidas, es decir que cumplan con todos los puntos anteriores, para considerar como válida una CL_{50} (Ibarra y Federici, 1987).

CRITERIOS USADOS PARA UN BUEN BIOENSAYO.

Para que los resultados de un bioensayo sean confiables deben reunir los siguientes requisitos:

- a) La respuesta debe ser lineal, es decir, que se observe una relación lineal entre el logaritmo de la dosis y las unidades Probit.
- b) La dosis que se aplique o se pruebe, debe ser precisa.

- c) La respuesta debe ser determinante: vivo o muerto. No pueden considerarse los puntos intermedios. Dependiendo del patógeno, el criterio para tomar a un organismo como vivo o muerto depende del modo de acción del mismo.
- d) Cuando en el testigo exista mortalidad esta debe de ser corregida a través de la ecuación de Abbott, debido a que no se podría inferir si la mortalidad de los tratamientos se debe al efecto del patógeno o a otros factores como la alimentación deficiente, contaminación o mal amnejo.
- e) La temperatura debe de ser constante y adecuada con la finalidad de evitar sesgos en la mortalidad,
- f) El método debe de ser sensible para poder captar las diferencias en la mortalidad como una respuesta al cambio de dosis.
- g) El método debe de ser reproducible.
- h) La nutrición de los insectos debe de ser uniforme.
- i) El lugar de la aplicación debe de ser constante.
- j) Las repeticiones del experimento deberán hacerse a la misma hora pero en días diferentes (Ibarra y Federici, 1987).

APENDICE C :

Análisis de varianza de un factor, de los porcentajes de mortalidad acumulada al 6to. día después de la aplicación de *B. bassiana* sobre el 4to estadio ninfal de *T. vaporariorum*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fo	Pr>F
Tratamiento	13	29204.8348	2246.5258	31.32	0.0001
Error	42	3012.5935	71.7284		
Total	55	32217.4283			

Pr>F = Probabilidad de respuesta mayor que F

Análisis de varianza de un factor, de los valores de CL_{50} (conidios/ml.) de siete cepas de *Beauveria bassiana* contra ninfas del 4to. estadio de *Trialeurodes vaporariorum*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fo	Pr>F
Tratamiento	6	9.12742×10^{16}	1.52124×10^{16}	931.65	0.0001
Error	14	2.28598×10^{14}	1.63284×10^{13}		
Total	20	9.15028×10^{16}			