

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



FORMULACIÓN DE *Beauveria bassiana* POR COACERVACIÓN Y  
DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA RADIACIÓN UV  
SOBRE SU ESTABILIDAD PARA EL CONTROL DE *Bemisia tabaci*

POR

JAIRO HERNÁN ALFARO ÁLVAREZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN  
CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

2024

FORMULACIÓN DE *Beauveria bassiana* POR COACERVACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA RADIACIÓN UV SOBRE SU ESTABILIDAD PARA EL CONTROL DE

*Bemisia tabaci*

Comité de Tesis

---

Dra. Myriam Elías Santos

Presidente

---

Dr. Sergio Galindo Rodríguez

Secretario

---

Dra. Rocío Álvarez Román

Vocal

---

Dra. Isela Quintero Zapata

Vocal

---

Dra. Fátima Lizeth Gandarilla Pacheco

Vocal



---

Dra. Katiushka Arévalo Niño

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

Subdirector de Posgrado

FORMULACIÓN DE *Beauveria bassiana* POR COACERVACIÓN Y  
DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA  
RADIACIÓN UV SOBRE SU ESTABILIDAD PARA EL CONTROL DE

*Bemisia tabaci*

Comité de Tesis

---

Dra. Myriam Elías Santos

Presidente

---

Dr. Hugo Alberto Luna Olvera

Co-Director

---

Dr. Claudio Guajardo Barbosa

Asesor Externo

DERECHOS RESERVADOS<sup>©</sup>

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

#### Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) de la Universidad Autónoma de Nuevo León claves CN 357-1 y CT 593-18

## **AGRADECIMIENTOS**



**El presente trabajo se realizó en el Laboratorio 6, del Instituto de biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.**



**También se llevó a cabo parte del trabajo en el Laboratorio de Nanotecnología en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.**

## **DEDICATORIAS**

**Es difícil encontrar las palabras exactas, sobre todo cuando ha pasado tiempo, siendo sinceros estas palabras quizá nunca serán leídas o tal vez serán olvidadas después de la primera lectura, recuerdo la tesis de licenciatura agradecí a mi familia, mis amigos y mis maestros, esta vez no quiero agradecer, esta vez quiero pedir una disculpa, por que confiaban tanto en mi y no estoy seguro de que les haya correspondido como ellos esperaban. Han pasado años y aquí estoy de nuevo, probablemente digan que al final se logró, que estoy a un paso de la titulación, pero no puedo dejar pasar la oportunidad de disculparme con mi Madre que siempre fui alguien muy inteligente a sus ojos, a mis Hermanas que me veían como un ejemplo a seguir, al Dr. Galindo que sin conocerme me dio una oportunidad creyendo en mi y a la Dra. Myriam que siempre está para mí, aunque siempre me olvide de ella y pase tiempo sin saber de mí. Por último, solo quiero agregar que seguiré adelante, aunque no tenga idea a donde voy, siempre con la fe de que encontraré a personas tan admirables y valiosas como ustedes.**

## ÍNDICE

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIAS .....	ii
ÍNDICE DE TABLAS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES .....	3
2.1 <i>Bemisia tabaci</i> .....	3
2.1.1 Plantas hospedantes .....	3
2.1.2 Ciclo de vida .....	4
2.1.2.1 Adulto.....	5
2.1.2.2 Pupa.....	6
2.1.2.3 Ninfas.....	6
2.1.2.4 Huevos.....	7
2.1.3 Distribución geográfica .....	8
2.2 Daños y pérdidas causadas por <i>Bemisia tabaci</i> .....	8
2.3 <i>Bemisia tabaci</i> como vector de virus .....	9
2.4 Métodos de control.....	10
2.4.1 Control cultural.....	10
2.4.2 Misceláneo .....	10
2.4.3 Control biológico .....	11
2.4.3.1 Entomófagos .....	11
2.4.3.2 Organismos entomopatógenos.....	12
2.4.3.3 Estrategias biotecnológicas.....	13
2.4.3.4 Pesticidas.....	14
2.5 Hongos entomopatógenos.....	15
2.5.1 Proceso infeccioso y ciclo de vida de los hongos entomopatógenos.....	15
2.5.1.1 Unión del conidio a la cutícula del insecto .....	15
2.5.1.2 Entrada en el hemocele.....	16
2.5.1.3 Replicación en el hemocele.....	16
2.6 <i>Beauveria bassiana</i> .....	17
2.6.1 Rango de hospederos.....	17
2.6.2 Morfología.....	18
2.7 Circunstancias que afectan la biología de <i>B. bassiana</i> .....	18
2.7.1 Temperatura.....	19
2.7.2 Humedad relativa.....	19
2.7.3 Radiación solar.....	20
2.8 Formulación .....	20
2.9 Microencapsulación .....	21
2.9.1 Microencapsulación por coacervación .....	21

2.10 Actividad tóxica de hongos entomopatógenos sobre <i>B. tabaci</i> .....	23
2.11 <i>B. tabaci</i> y la situación fitosanitaria en México .....	25
3.JUSTIFICACIÓN.....	27
4.HIPÓTESIS.....	27
5.OBJETIVO DEL TRABAJO.....	28
5.1 Objetivo General.....	28
5.2 Objetivos Particulares.....	28
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	29
6.1 Colonia de <i>Bemisia tabaci</i> .....	29
6.2 Activación de hongos entomopatógenos.....	29
6.2.1 Propagación del inóculo.....	30
6.2.2 Obtención de conidios para los bioensayos.....	30
6.2.3 Viabilidad.....	30
6.3 Bioensayos con estadios inmaduros de <i>B. tabaci</i> .....	31
6.4 Microencapsulación por coacervación.....	31
6.4.1 Microencapsulación de conidios de <i>B. bassiana</i> .....	32
6.4.2 Prueba de humedad.....	32
6.4.3 Viabilidad de las micropartículas.....	33
6.5 Efecto de la radiación en la viabilidad de las micropartículas.....	33
6.6 Efecto de la temperatura en la viabilidad de las micropartículas.....	34
6.7 Análisis Estadístico.....	34
7. RESULTADOS.....	35
7.1 Cría de <i>Bemisia tabaci</i> .....	35
7.2 Microencapsulación de conidios de <i>B. bassiana</i> por coacervación...	37
7.3 Determinación de humedad de las micropartículas.....	38
7.4 Bioensayos con huevos y ninfas de <i>B. tabaci</i> .....	40
7.5 Efecto de la temperatura en la viabilidad de los tratamientos previo a la microencapsulación.....	41
7.6 Efecto de la radiación UV en la viabilidad de los tratamientos previo a la microencapsulación.....	43
7.7 Selección de la cepa de <i>B. bassiana</i> para la microencapsulación.....	45
7.8 Efecto de la temperatura en la viabilidad de la cepa HIB-15 microencapsulada por coacervación.....	45
7.9 Efecto de la radiación UV en la viabilidad de la cepa HIB-15 microencapsulada por coacervación .....	46
8. DISCUSIÓN.....	47
9. CONCLUSIONES.....	51
10.PERSPECTIVAS.....	53
11.BIBLIOGRAFIA.....	54

## INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Ubicación taxonómica de <i>Bemisia tabaci</i> .....	3
2	Enemigos naturales relacionados con el control de <i>Bemisia tabaci</i> .....	12
3	Hongos entomopatógenos empleados en el control de <i>Bemisia tabaci</i> en diferentes hospederos.....	13
4	Ubicación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i> .....	17
5	Hongos entomopatógenos aislados en suelo donde se cultivan cítricos en diferentes estados de México.....	29
6	Porcentaje promedio de humedad de las micropartículas elaboradas entre los diferentes lotes.....	39
7	Viabilidad de conidios de <i>B. bassiana</i> entre los diferentes tratamientos a diferentes temperaturas de exposición bajo condiciones de laboratorio.....	42
8	Viabilidad de conidios de <i>B. bassiana</i> entre los diferentes tratamientos a diferentes tiempos de exposición a la radiación UV bajo condiciones de laboratorio.....	44
9	Comparación de la viabilidad de conidios de la cepa de HIB-15 de <i>Beauveria bassiana</i> microencapsulados por coacervación y no microencapsulados sometidos a diferentes temperaturas de incubación bajo condiciones de laboratorio.....	46
10	Comparación de la viabilidad de conidios de la cepa de HIB-15 de <i>Beauveria bassiana</i> microencapsulados por coacervación y no microencapsulados sometidos a diferentes tiempos de exposición a la radiación UV bajo condiciones de laboratorio.....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ciclo de vida de <i>Bemisia tabaci</i> .....	5
2	Adulto de <i>Bemisia tabaci</i> .....	6
3	Pupa de <i>Bemisia tabaci</i> .....	6
4	Estadios ninfales de <i>Bemisia tabaci</i> .....	7
5	Huevos de <i>Bemisia tabaci</i> .....	7
6	Distribución geográfica de <i>Bemisia tabaci</i> .....	8
7	Mecanismo de acción de <i>Beauveria bassiana</i> observando un corte transversal de la cutícula de un insecto donde se puede apreciar el crecimiento del hongo .....	16
8	(A) Morfología colonial de <i>B. bassiana</i> ; (B) Microcultivo de <i>B. bassiana</i> observado a 100×.....	18
9	Proceso de coacervación simple.....	22
10	Proceso de coacervación compleja .....	22
11	Esquema general para la obtención de micropartículas cargadas con conidios de <i>B. bassiana</i> .....	32
12	Germinación de semillas de tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) para la obtención de plantas para la cría de <i>B. tabaci</i> bajo condiciones de laboratorio (26 ± 2°C, 14:10 h L:O, y 65 % H.R.....	36
13	Plantas de tomate en cajas ventiladas para la reproducción de <i>B. tabaci</i> bajo condiciones de laboratorio (26 ± 2°C, 14:10 h L:O, y 65 % H.R .....	36
14	Plántulas de tomate. ....	36
15	Dispositivo diseñado para la obtención de brotes tiernos de tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) .....	37
16	Efecto de la concentración del polímero sobre la encapsulación: a) capsulas deformadas (10% p/p); b) capsulas levemente deformadas (20% p/p); c) capsulas sin deformar (30% p/p) .....	38
17	Microfotografía de capsulas obtenidas por coacervación.....	38
18	Mortalidad de huevos <i>B. tabaci</i> por cepas de <i>B. bassiana</i> , mediante el método de inmersión bajo condiciones de laboratorio, 26 ± 2°C; 70% H.R; 14:10 h L: O. Líneas en las barras indican el error estándar.....	40
19	Mortalidad de ninfas de <i>B. tabaci</i> por cepas de <i>B. bassiana</i> , mediante el método de inmersión bajo condiciones de laboratorio, 26 ± 2°C; 70% H.R; 14:10 h L: O. Líneas en las	41

barras indican el error estándar.....

<b>20</b>	Porcentaje de viabilidad de los conidios no encapsulados entre las diferentes temperaturas de exposición bajo condiciones de laboratorio.....	43
<b>21</b>	Porcentaje de viabilidad de los conidios no encapsulados entre los distintos tiempos de exposición a la radiación UV-B bajo condiciones de laboratorio.....	45

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNi	Acido ribonucleico de interferencia
$\alpha$	Alfa
ANOVA	Análisis de varianza
&	ampersand
ARSEF	Agricultural Research Service Collection of Entomopathogenic Fungi
$\beta$	beta
°C	Grados centígrados
CABI	Centre for Agricultural Bioscience International
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de calcio
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	Cloruro de calico dihidratado
CL <sub>50</sub>	Concentración letal media
CL <sub>99</sub>	Concentración letal 99 %
cm <sup>3</sup>	Centímetro cubico
cm	Centímetro
dsRNA	
ES	Error estándar
EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
Et al	Y colaboradores
EEUU	Estados Unidos de América
FCB	Facultad de Ciencias Biológicas
°	Grados
GlcNAc	N-acetil-D-glucosamina
$\gamma$	Gamma
g	Gramo
h	horas
HLB	Huanglongbing

H.R.	Humedad relativa
I.C	intervalo de confianza
IBM®	International Business Machines Corporation
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de potasio monobasico
KNO <sub>3</sub>	Nitrato de potasio
L.	Linneo
L	Litro
lbs.	Libras
log <sub>10</sub>	Logaritmo base 10
(L:O)	Luz:oscuridad
-	menos
±	Mas/menos
Mg <sup>+2</sup>	Ion magnesio
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnesio heptahidratado
≤	menor o igual que
MIP	Manejo integrado de plagas
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm <sup>2</sup>	Milímetro cuadrado
msnm	Metros sobre el nivel del mar
≤	Menor o igual que
nm	nanómetros
N	
NPPO	National Plant Protection Organization
N.Y	Nueva York
NaNO <sub>3</sub>	Nitrato de sodio
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de amonio
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de amonio monobasico
O	

PDA	agar papa dextrosa
%	Porcentaje
p=	p=
rDNA	Acido desoxirribonucleico recombinante
rpm	Revoluciones por minuto
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
SPSS®	Statistical Package for the Social Sciences
<i>spp</i>	Especies
TL <sub>50</sub>	Tiempo letal medio
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UV	Ultravioleta
UV-A	Ultravioleta tipo A
UV-B	Ultravioleta tipo B
µm	Micra
µL	Micro litro
v/v	Volumen/volumen

## RESUMEN

*Bemisia tabaci* conocida como mosca blanca es uno de los hemípteros plaga más peligrosos debido a su capacidad de actuar como un vector eficiente de diferentes patologías virales que causan daños devastadores en diferentes hospederos de importancia económica, siendo las hortalizas las principalmente afectadas. Debido a que *B. tabaci* se reconoce como una plaga presente en México se hace imperativo encontrar alternativas para manejar su diseminación. Diferentes enfoques se han implementado para tratar el peligro que representa este tipo de plagas, incluyendo el control biológico, el cual se ha aplicado de forma exitosa en el país, siendo los hongos entomopatógenos uno de los grupos que han logrado establecerse como una alternativa viable para su tratamiento. Por lo cual en el presente trabajo se evaluaron 13 cepas nativas y una cepa de colección de *Beauveria bassiana* para determinar su patogenicidad sobre huevos y ninfas adultos *B. tabaci* y así mismo seleccionar una de estas cepas para llevarla a un proceso de microencapsulación por coacervación tomando en cuenta su viabilidad a diferentes temperaturas y exposición a radiación UV-B. Los resultados obtenidos, para los bioensayos por inmersión con estadios inmaduros de *B. tabaci* mostraron que la cepa HIB-15 fue el más efectivo en inducir la mortalidad sobre huevos, mientras que las cepas HIB-14, HIB-15 y GHA son más efectivas para inducir mortalidad sobre ninfas de *B. tabaci*. Debido a esto se eligió la cepa HIB-15 para continuar con el proceso de microencapsulación ya que fue la que mostró un mayor porcentaje de mortalidad dentro del ensayo de selección tanto como huevos como con ninfas. Respecto a los conidios de la cepa HIB-15 microencapsulados por coacervación se determinó que existió diferencia significativa entre los conidios encapsulados y sin encapsular en las temperaturas analizadas, donde se observó que a los 40 ° C la viabilidad de los conidios microencapsulados se mantiene en alrededor de 96 %, mientras que en los encapsulados desciende a 88 %, y esta diferencia es más evidente cuando la temperatura aumenta observándose que la formulación si brinda protección a los conidios; mientras que en los conidios microencapsulados expuestos a radiación UV-B se observó que la viabilidad desciende hasta un 20 %, mostrando que este proceso de microencapsulación no es competente para mantener la viabilidad de los conidios. El uso de microorganismos como una opción para el manejo de *B. tabaci*, es de elemental importancia ya que puede complementar las estrategias de manejo integrado de plagas, para alcanzar un manejo más adecuado del insecto para evitar la resistencia en esquemas donde se incluyen insecticidas de origen químico. Por lo tanto, se considera necesario seguir trabajando en la búsqueda de formulaciones eficaces para la aplicación de manera extensiva de hongos como *B. bassiana* a nivel de campo con la finalidad de generar esquemas eficaces para el adecuado control y manejo de las poblaciones de *B. tabaci* y de esta manera disminuir el riesgo de efectos adversos al ambiente.

## ABSTRACT

*Bemisia tabaci*, known as whitefly, is one of the most dangerous hemipteran pests due to its ability to act as an efficient vector of different viral pathologies that cause devastating damage to different hosts of economic importance, with vegetables being the mainly affected. Because *B. tabaci* is recognized as a pest present in Mexico, it is imperative to find alternatives to manage its spread. Different approaches have been implemented to treat the danger posed by this type of pest, including biological control, which has been successfully applied in the country, with entomopathogenic fungi being one of the groups that have managed to establish themselves as a viable alternative for your treatment. Therefore, in the present work, 13 native strains and a collection strain of *Beauveria bassiana* were evaluated to determine their pathogenicity on *B. tabaci* eggs and adult nymphs and also select one of these strains to take it to a microencapsulation process by coacervation taking into account its viability at different temperatures and exposure to UV-B radiation. The results obtained for the immersion bioassays with immature stages of *B. tabaci* showed that the HIB-15 strain was the most effective in inducing mortality on eggs, while the HIB-14, HIB-15 and GHA strains are more effective to induce mortality on *B. tabaci* nymphs. Due to this, the HIB-15 strain was chosen to continue with the microencapsulation process since it was the one that showed a higher percentage of mortality within the selection trial both as eggs and nymphs. Regarding the conidia of the HIB-15 strain microencapsulated by coacervation, it was determined that there was a significant difference between the encapsulated and unencapsulated conidia at the temperatures analyzed, where it was observed that at 40 ° C the viability of the microencapsulated conidia remains at around 96%, while in the unencapsulated ones it drops to 88%, and this difference is more evident when the temperature increases, observing that the formulation provides protection to the conidia; while in unencapsulated conidia exposed to UV-B radiation, it was observed that viability decreased by up to 20%, showing that this microencapsulation process is not competent to maintain the viability of the conidia. The use of microorganisms as an option for the management of *B. tabaci* is of elemental importance since it can complement integrated pest management strategies, to achieve more adequate management of the insect to avoid resistance in schemes that include pesticide insecticides of chemical origin. Therefore, it is considered necessary to continue working in the search for effective formulations for the extensive application of fungi such as *B. bassiana* at the field level to generate effective schemes for the adequate control and management of *B. tabaci* populations and thus reduce the risk of adverse effects on the environment.

# 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se reconoce que existe una presión importante sobre los sistemas relacionados con la producción agroalimentaria debido a la preocupación constante debida al aumento poblacional lo que significa que es necesario elevar la producción de alimentos lo cual ha repercutido en la degradación de recursos naturales haciendo imperativo el buscar nuevas estrategias para un modelo de agricultura sostenible relacionada con la reducción de recursos como el agua y el uso de insecticidas y fertilizantes de síntesis química (Escamilla-Barragán et al. 2022).

Es en este marco donde nos encontramos, es necesario buscar alternativas como el control biológico, un antiguo aliado, que hace uso de depredadores, parasitoides, virus, bacterias y hongos, o sus compuestos o extractos los cuales pueden ayudar a reducir los efectos negativos de insectos plaga u otros patógenos sobre la producción de cultivos (Pacheco-Hernández et al. 2019).

En este sentido, los hongos entomopatógenos se erigen como un grupo importante por su capacidad de causar enfermedad en muchas especies de artrópodos desempeñando un rol vital regulando poblaciones de insectos y en décadas recientes se ha demostrado su potencial como controladores de plagas de importancia económica.

Entre los hongos entomopatógenos identificados con mayor potencial y que son utilizados de manera extensiva se encuentra *Beauveria bassiana* el cual se ha destacado por lograr controlar hasta doscientas especies de insectos plaga de distintos órdenes. Actualmente hay formulados de esporas de este hongo obtenidos por diferentes técnicas, sin embargo, los retos a nivel de campo siguen siendo importantes como el detrimento del estado viable y la virulencia del formulado durante el almacenamiento, así como por manejo inadecuado durante el traslado al sitio y la aplicación, debido a que los propágulos de *B. bassiana* son sensibles a la humedad relativa, radiación y temperatura (Pell et al. 2001; Wraight et al. 2001). Por lo tanto, se necesita encontrar nuevas estrategias de formulación para cubrir las demandas y necesidades actuales relacionadas con el sector agroalimentario.

Una alternativa que se ha explorada poco comparada con otros procedimientos para la formulación de bioinsecticidas es la coacervación, que es una técnica utilizada en diferentes industrias incluyendo fármacos, cosméticos y alimentos (Chen et al. 2006). El principio de esta técnica radica en recubrir activos en forma líquida, sólida o gaseosa a través de materiales que protegen que en su mayoría son polímeros, lo cual le confiere al activo protección contra factores ambientales que puedan resultar adversos como la humedad y la temperatura (Martín et al. 2002).

Uno de los mayores causantes de pérdidas de cultivos alrededor del mundo es *Bemisia tabaci*, un insecto hemíptero que posee un rango de hospederos elevado a nivel mundial y que además posee resistencia a insecticidas de uso convencional, además de ser capaz de actuar como transmisor de diferentes tipos de enfermedades virales en especies vegetales, lo cual la convierte en un objetivo de control relevante.

Debido a la problemática que representa *B. tabaci* en este trabajo se plantea seleccionar una cepa nativa de *B. bassiana* con actividad sobre este insecto para optimizar las condiciones necesarias para el desarrollo de un formulado microencapsulado por coacervación con conidios de *B. bassiana* como ingrediente activo dirigido a estadios inmaduros de esta mosquita.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 *Bemisia tabaci*

*Bemisia tabaci* (Gennadius 1889) es una plaga polífaga que ocasiona daños catastróficos mundialmente ya que son hemípteros o chupadores y ocasionan daño directo a las plantas al extraer elevadas cantidades de savia. También conocida como mosca blanca, está adaptada para desarrollarse en áreas tropicales y subtropicales, y se estima que existen hasta 600 plantas hospederas para este insecto que pueden ser desde hortalizas hasta ornamentales (Afzal et al. 2023). En la tabla 1 se describe la ubicación taxonómica actual de la mosquita.

Tabla 1. Ubicación taxonómica de *Bemisia tabaci*

Super reino	Eukaryota
Reino	Metazoa
Filum	Artropoda
Superclase	Hexapoda
Clase	Insecta
Orden	Hemiptera
Super Familia	Sternorrhyncha
Familia	Aleyrodidae
Genero	<i>Bemisia</i>
Especie	<i>tabaci</i>
Nombre binomial	<i>Bemisia tabaci</i>
Nombre común	Mosquita blanca

#### 2.1.1 Plantas hospedantes

*B. tabaci* tiene un amplio rango de hospederos como *Solanum lycopersicum* (tomate), berenjena, *Nicotiana* spp. (tabaco), *Saccharum officinarum* (caña de azúcar), *Capsicum* sp. (chile), *Manihot esculenta* (yuca), *Solanum tuberosum* (papa), *Gossypium* spp. (algodón), *Ipomoea batatas*(camote), *Cucurbita pepo*(calabacines), *Cucumis sativus* (pepinos), *Lactuca* spp. (lechugas), *Cucumis melo* (melon), *Glycine max* (soya), *Hibiscus*

*sabdariffa* (jamaica), *Euphorbia pulcherrima* (flor de nochebuena), *Cucurbita* spp. (calabaza) (Calvo et al. 2016).

### **2.1.2 Ciclo de vida**

*Bemisia tabaci* posee un ciclo de vida en seis etapas que comprenden el huevo, cuatro etapas inmaduras o estadios ninfales y la etapa adulta (figura 1).

Los huevos presentan forma de pera con un pedicelo en la base generalmente se ponen en grupos circulares, en la parte posterior de las hojas, tocando la región superficial y el eje longitudinal perpendicular a la hoja. Están sujetos a través del pedicelo que se inserta en una hendidura delgada realizada por la hembra en los tejidos, y no en la región estomática, como en otros aleyrodidos. El huevo tiende a ser blanquecino cuando se ponen por primera vez, pero gradualmente se vuelven marrones. La eclosión ocurre después de 5 a 9 días a 30°C pero, como muchas otras tasas de desarrollo, esto puede depender de la especie huésped, la humedad y la temperatura (EPPO 2023). Poco después de la eclosión, el primer estadio (rastrero) viaja una distancia corta hasta que sondea con éxito la hoja para alimentarse de la savia del floema antes de pasar por tres estadios ninfales más (segundo, tercero y cuarto) (Smith 2009).

Durante el segundo estadio, las ninfas de color amarillo blanquecino se vuelven amarillentas y en forma de cúpula después de alimentarse. Las ninfas de tercer estadio de color amarillo pálido recién mudadas, sin embargo, gradualmente se vuelven de color amarillo oscuro y tienen una forma más aplanada después de alimentarse. Las ninfas del cuarto estadio tienen un color blanco amarillento con ojos grandes visibles a través del tegumento; esta etapa también se conoce como la etapa de "pupa" o "ninfa de ojos rojos" (Sani et al. 2020).

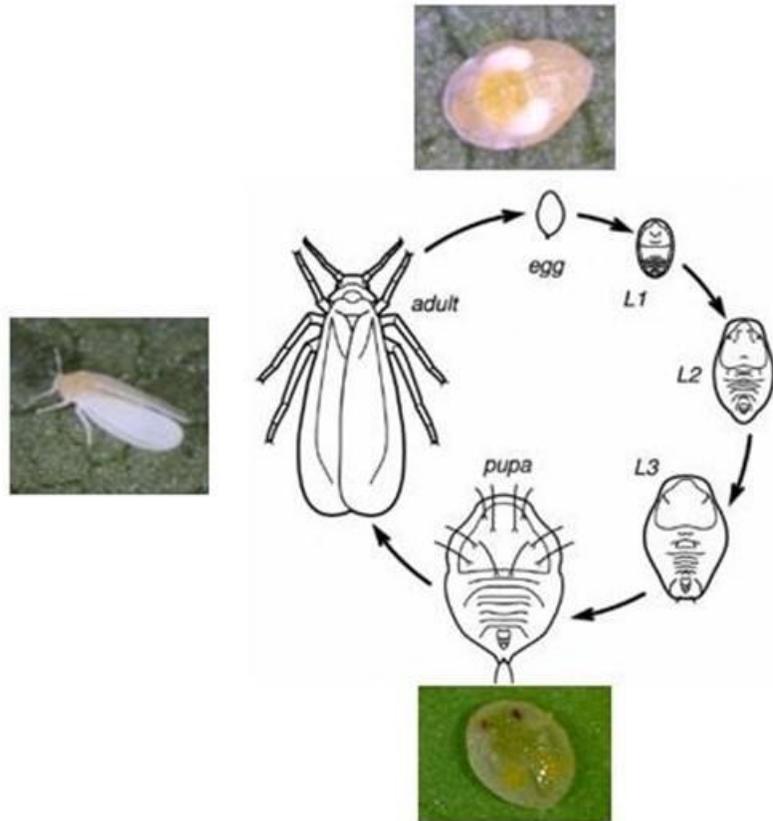


Figura 1. Ciclo biológico de *Bemisia tabaci* (Crédito de la imagen: Silva-Barros et al. 2017)

La forma de los diferentes estadios de *B. tabaci* es la siguiente (Maranhão y Maranhão 2009):

### 2.1.2.1 Adulto

Las hembras adultas de *B. tabaci* presentan una coloración amarilla con la región corporal y las alas cubiertas de una secreción encerada polvorienta las cuales se encuentran paralelas al cuerpo. El largo varía de 0.9 a 1 mm y un ancho de hasta 0.32 mm. Los ojos tienen una tonalidad rojo oscuro hasta negros. Las antenas tienen siete artejos. Los machos y las hembras solo se pueden diferenciar a través de la genitalia (figura 2).



Figura 2. Adulto de *Bemisia tabaci* (Naranjo et al. 2004; Crédito imagen: Scott Bauer)

### 2.1.2.2 Pupa

Las pupas presentan un color amarillo pálido, su forma semeja un contorno ovalado, 0.75 mm de largo y 0.4-0.46 mm de ancho; frecuentemente el margen tiene ondulaciones anchas y con poca profundidad. La sección del centro tiene una cantidad variable de cerdas de las que son constantes cuatro pares, y que se pueden observar solamente al microscopio. En la parte central se pueden observar los rudimentos de lo que serán las patas (figura 3).



Figura 3. Pupa de *Bemisia tabaci* (Homo agrícola<sup>®</sup>; Crédito de la imagen: Antonio M. Aguilera)

### 2.1.2.3 Ninfas

las ninfas de primer estadio, también conocidas como larva 1, presentan un color de blanco a verdoso, con setas marginales y microsetas, tres pares de patas perfectamente definidas, y 0.26 mm de largo. Por su parte, las ninfas de segundo estadio o larva 2, tienen forma oval con un color blanco -verdoso, y un margen crenulado con tres pares de setas, los ojos

presentan un largo de 0.36 mm y ancho de 0.24 mm. Las ninfas de tercer estadio o larva 3 son parecidas a las de segundo estadio, pero con dimensiones distintas con 0.53 mm de largo y 0.36 mm de ancho (figura 4).

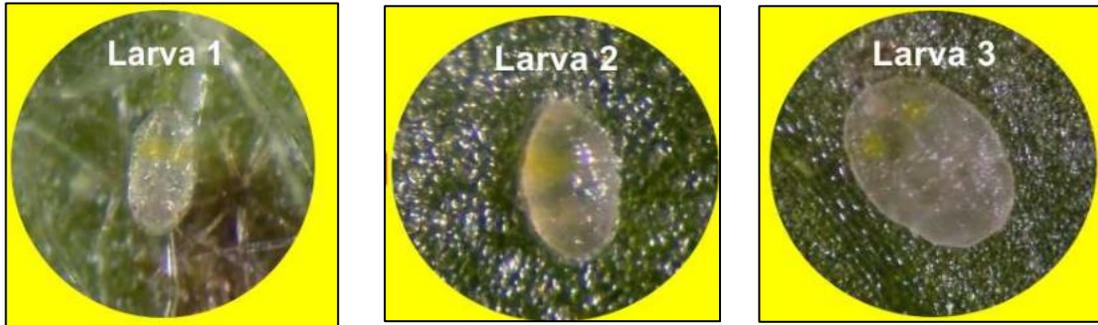


Figura 4. Estadios ninfales de *Bemisia tabaci* (Homo agrícola®; Crédito de la imagen: Antonio M. Aguilera)

#### 2.1.2.4 Huevos

Los huevos tienden a ser elípticos o asimétricos, con un color amarillo a verdoso, y tienen un pedicelo subapical de máximo 0.15 mm de longitud (figura 5).



Figura 5. Huevos de *Bemisia tabaci* (Homo agrícola®; Crédito de la imagen: Antonio M. Aguilera)

### 2.1.3 Distribución geográfica

*B. tabaci* se distribuye en todo el mundo. Sin embargo, ciertas áreas dentro de Europa todavía están libres de la plaga o es transitoria, por ejemplo, Finlandia, Suecia, Irlanda y Reino Unido (Cuthbertson y Vänninen 2015) ya que han zonas protegidas contra esta plaga invasora (figura 6). En Canadá, *B. tabaci* es una plaga de invernadero; no se establece al aire libre (EPPO 2023). En Estados Unidos la especie MEAM1 es frecuente en exterior y la especie MED solía encontrarse solo en cultivos protegidos (McKenzie et al. 2012); sin embargo, recientemente, la especie MED fue observada especialmente en plantas de hibisco ubicadas en áreas residenciales en Florida (McKenzie y Osborne 2017).

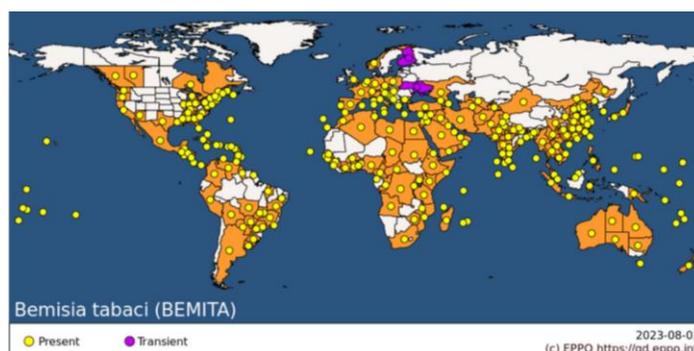


Figura 6. Distribución geográfica de *Bemisia tabaci* (EPPO 2023)

### 2.2 Daños y pérdidas causadas por *Bemisia tabaci*

*Bemisia tabaci* puede causar grandes pérdidas económicas a los cultivos al causar daño directo a las plantas hospedantes durante la alimentación. Tanto ninfas y adultos son capaces de causar daño al insertar sus piezas bucales además de transmitir una gran cantidad de virus que pueden dañar severamente las especies de plantas susceptibles (Gangwar y Charu 2018). Se ha reportado que las ninfas de *B. tabaci* pueden inyectar enzimas que provocan variaciones en la fisiología de los vegetales, lo que conlleva a una maduración irregular de la fruta y a una coloración interna retardada; además el insecto excreta una sustancia tipo melaza que proporciona un medio para la aparición de fumagina

en los frutos y hojas, reduciéndola fotosíntesis, además, la alimentación de *B. tabaci* en las hojas puede causar que se amarillean y se arruguen, lo que posteriormente resulta en la demora en el desarrollo de las plantas y frutos deformados (Kunjwal y Srivastava 2018).

### **2.3 Bemisia tabaci como vector de virus**

*B. tabaci* es un insecto que se considera un vector de más de 400 virus de especies vegetales incluyendo Begomovirus, Torradovirus, Carlavirus, Potyviridae, Cytorhabdovirus y Crinivirus (Ghosh y Ghanim 2021).

Los begomovirus transmitidos por *B. tabaci* son los virus más importantes en cultivos agrícolas debido a que causan pérdidas de rendimiento a los cultivos de entre 20 y 100% de la producción (Cathrin y Ghanim 2014), que ocasionan pérdidas de hasta 300 millones de dólares cada año (Thesnim et al. 2023) Estos virus causan una variedad de síntomas como mosaicos amarillos, vetas amarillas, encrespamiento de hojas, retraso del crecimiento y engrosamiento de las venas.

La irrupción del biotipo B de la mosca blanca, con su capacidad para alimentarse de una gran diversidad de plantas hospedantes, le ha conferido a los virus que transmite *B. tabaci* el potencial de infectar nuevas especies de plantas, lo cual ha ocurrido en el continente americano.

Los virus de las plantas, como los crinivirus, carlavirus, ipomovirus y torradovirus se transmiten de forma semipersistente. mientras que los begomovirus se transmiten de forma circulativa persistente La transmisión semipersistente de virus generalmente requiere al menos 15 minutos de acceso de adquisición con un tiempo de retención de hasta días en el intestino anterior (Dutta et al. 2018; Fiallo-Olivé et al. 2020; Ning et al. 2015; Navas-Castillo et al. 2011). Por el contrario, se requieren varias horas para la adquisición y acceso en la transmisión persistente, con un tiempo de retención en la hemolinfa de hasta toda la vida del vector (Polston y Capobianco 2013). En el modo de transmisión persistente, el virus se mueve desde el intestino anterior hacia la hemolinfa a través del intestino medio de *B. tabaci* antes de ser transportada a las glándulas salivales para ser expulsada con saliva en los tejidos de la planta (Czosnek et al. 2017).

## **2.4 Métodos de control**

El manejo integral de plagas para el caso de *B. tabaci* las estrategias de control incluyen desde un manejo tradicional con un control cultural, botánico y misceláneo; control mecánico, biológico por depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos, el uso de herramientas biotecnológicas como plantas transgénicas, con uso de insecticidas químicos y con manejo integral de las plagas (MIP) el cual es un tipo de estrategia o enfoque reconocido internacionalmente para el control de plagas y tiene como objetivo minimizar los efectos negativos a la salud causados por utilizar insecticidas (Sani et al. 2020).

### **2.4.1 Control cultural**

Este tipo de control puede incluir la regulación de riego y la aplicación de fertilizantes. El riego por goteo puede reducir reduce la densidad de mosca blanca y los virus que transmiten en varios cultivos, también se ha demostrado que el uso de fertilizantes que contienen azufre puede tener impactos positivos en bajar la cantidad de moscas blancas en los cultivos. Otras estrategias como el uso de cultivos trampa y de barrera que pueden ayudar a regular la densidad de *B. tabaci* al interferir con la ubicación del hospedero. Este enfoque fue útil para controlar los virus asociados con diferentes cultivos (Ahsan et al. 2005). Algunos otros de los logros exitosos incluyen la protección física de los cultivos a través de las cubiertas de hileras, la construcción de túneles, la pantalla edificaciones, separación de campos y uso de semilla libre de virus. Las medidas de control cultural son insuficientes para controlar a *B. tabaci* y los virus que transmite, por sí solas, pero juegan un papel crucial papel en la gestión integrada (Schuster, 2004; El-Serwiyy et al.1987; Musa 1982; Verma et al.2011; Afifi et al.1990).

### **2.4.2 Misceláneo**

Este incluye la fusión de enfoques tradicionales para lograr el control de *B. tabaci*. Algunos agricultores utilizan suero de leche y detergentes en combinación para reducir la densidad de mosca blanca (Taggar y Singh 2020). El uso de extractos a partir de chile, ajo y hojas de neem con la orina de vaca reduce las poblaciones de *B. tabaci* y otras plagas

(Singh et al. 2021). Otras incluyen el uso de trampas amarillas (Nair et al. 2021), así como el uso de extractos botánicos y aceites esenciales que han reportado eficacia sobre *B. tabaci*, como por ejemplo extractos de ajo y neem (Nzanza y Mashela 2012) y aceites esenciales de lemongrass, comino y canela (Deletre et al. 2016).

### **2.4.3 Control biológico**

Este tipo de control utiliza un tipo de organismo para limitar la densidad de población de otro. Una de sus estrategias incluye el uso de los enemigos naturales como depredadores y parasitoides, así como el uso de hongos entomopatógenos. En los últimos veinte años se realizaron diferentes trabajos que han demostrado la eficiencia de estos organismos sobre diferentes plagas incluyendo a *B. tabaci* (Khan et al.2012). La utilización de esta estrategia dependerá del sistema de cultivo, del uso que se hace del sistema para la producción, y la facilidad para obtener los agentes de control biológico (Vázquez et al. 2007).

#### **2.4.3.1 Entomófagos**

Estos pueden ser del tipo depredadores los cuales son generalistas en su mayoría y pueden atacar a sus presas a lo largo de su ciclo de vida o parasitoides los cuales tienden a ovipositar sobre o dentro de los artrópodos. Estos entomófagos pueden ser liberados de forma inoculativa en pequeñas cantidades con el objetivo de lograr su establecimiento, o de forma inundativa, es decir, en cantidades mayores buscando encontrar un control rápido de las plagas, lo cual puede variar dependiendo de las características del entomófago en cuestión, la fase fenológica del cultivo, y de la cantidad de individuos disponibles para liberar (Vázquez et al. 2007).

Se ha estimado que existen 150 especies de enemigos de *B. tabaci* entre los que se pueden encontrar escarabajos coccinélidos, crisopas y fitoseidos presa de los ácaros en las moscas blancas (Tan et al. 2016). Los parasitoides más comúnmente utilizados para el manejo de *B. tabaci* son *Eretmocerus* spp. y *Encarsia* spp. (Hymenoptera: Aphelinidae). En la tabla 2 se resume algunos de estos organismos que se han utilizado para el manejo de *B. tabaci*.

Tabla 2. Enemigos naturales relacionados con el control de *Bemisia tabaci*

Nombre	Orden y familia	Tipo de enemigo	Cultivo	Referencia
<i>Delphastus catalinae</i> <i>Delphastus pallidus</i>	Coleoptera: Coccinellidae	depredador	algodón tomate jamaica col	Legaspi et al.2006; Ahmed et al. 2017
<i>Geocoris punctipes</i> <i>Geocoris pallens</i>	Hemiptera: Geocoridae	depredador	algodón	Hagler y Blackmer 2013, Razza et al. 2016
<i>Hippodamia convergens</i>	Coleoptera:Coccinellidae	depredador	algodón melón	Hagler y Blackmer 2013
<i>Serangium parcesetosum</i>	Coleoptera:Coccinellidae	depredador	nochebuena	Razza et al. 2016
<i>Nephaspis oculatus</i>	Coleoptera:Coccinellidae	depredador	col, soya y tomate	Legaspi et al. 2006
<i>Chrysoperla carnea</i>	Neuroptera: Chrysopidae	depredador	pepino	Adly 2016
<i>Orius albidipennis</i>	Heteroptera: Anthocoridae	depredador	pepino	Adly 2016
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Acari: Phytoseidae	depredador	pepino	Adly 2016
<i>Collops vittatus</i>	Coleoptera: Melyridae	depredador	algodón	Vandervoet et al. 2018
<i>Spanagonicus albofasciatus</i>	Heteroptera: Miridae	depredador	algodón	Hagler y Naranjo 2005
<i>Macrolophus caliginosus</i>	Heteroptera: Miridae	depredador	pepino	Montserrat et al. 2000
<i>Dicyphus tamaninii</i>	Heteroptera: Miridae	depredador	pepino	Montserrat et al. 2000
<i>Orius majusculus</i> <i>Orius laevigatus</i>	Hemiptera: Anthocoridae	depredador	pepino	Montserrat et al. 2000
<i>Eretmocerus hayati</i> <i>Eretmocerus eremicus</i>	Hymenoptera:Aphelinidae	parasitoide	algodón	Ou et al. 2019
<i>Encarsia formosa</i> <i>Encarsia sophia</i>	Hymenoptera:Aphelinidae	parasitoide	tomate	Tan et al. 2016
<i>Entedononecremnus krauteri</i>	Hymenoptera: Eulophidae	parasitoide	jamaica	Schoeller y Redak 2020
<i>Encarsia noyesi</i>	Hymenoptera: Aphelinidae	parasitoide	jamaica	Schoeller y Redak 2020
<i>Idioporou affinis</i>	Hymenoptera: Pteromalidae	parasitoide	jamaica	Schoeller y Redak 2020

#### 2.4.3.2 Organismos entomopatógenos

Dentro de los organismos con actividad entomopatógena con importancia en el control de *B. tabaci* se pueden encontrar hongos, virus, nematodos y bacterias, los cuales pueden actuar como sustitutos de los insecticidas, pero con ciertas ventajas sobre estos como menores daños al ecosistema en general. En el caso de los nematodos se ha reportado que *Steinernema feltiae* Filipjev y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar han tenido efectos

sobre la mosca blanca en cultivos de pepino y pimienta (Razza et al. 2016). Dentro del grupo de los hongos entomopatógenos se han documentado 20 especies con actividad insecticida sobre *B. tabaci*, destacándose *Beauveria bassiana*, *Cordyceps fumosorosea*, e *Isaria fumosoroseus* como las más estudiados en este rubro, y en menor medida *Verticillium lecanii*, *Aschersonia aleyrodis* y *Metarhizium anisopliae*(Abubakar et al 2022). En la tabla 3 se integran algunos de estos hongos que se han utilizado para el control de *B. tabaci*.

Tabla 3. Hongos entomopatógenos empleados en el control de *Bemisia tabaci* en diferentes hospederos

Hongo	Cultivo	Referencia
<i>Metarhizium anisopliae</i>	berenjena	Isman y Grieneisen 2014
<i>Verticillium lecanii</i>		Nada et al. 2021
<i>Beauveria bassiana</i>		
<i>Beauveria bassiana</i>	algodón	Iqbal et al. 2021
<i>Metarhizium anisopliae</i>		Imam 2017
<i>Paecilomyces spp</i>		Hagler y Blackmer 2013
<i>Verticillium lecanii</i>		Zafar et al. 2016
<i>Trachelas spp.</i>		
<i>Verticillium lecanii</i>	pepino, melón, tomate	Koike et al. 2004
<i>Beauveria bassiana</i>		Maranha y Maranhá 2006
<i>Isaria fumosorosea</i>	berenjena	Rahim et al. 2013
<i>Aschersonia aleyrodis</i>	soya,tomate,berenjena	Qiu et al. 2013
		Prayogo y Bayu 2019
		Zhang et al. 2018
<i>Beauveria bassiana</i>	melón, calabacín,calabaza,	Wraight et al. 2000
<i>Cordyceps fumosorosea</i>	y pepino	Tian et al. 2015
<i>Isaria fumosorosea</i>		
<i>Isaria spp</i>	camote	Imam 2017

### 2.4.3.3 Estrategias biotecnológicas

Actualmente existen técnicas de ingeniería genética que incluyen transgénesis y ARN de interferencia (ARNi) que pueden ser eficaces para regular las infestaciones de mosca blanca (Abubakar et al. 2022). A través de la biotecnología vegetal se ha logrado desarrollar y comercializar cultivos transgénicos resistentes a plagas de insectos de importancia económica como las moscas blancas. Se han desarrollado con éxito tomates,

lechugas, tabaco y algodón transgénicos para conferir tolerancia a *B. tabaci* y virus relacionados (Bleeker et al. 2012; Shukla et al. 2016; Javaid et al. 2016; Gul et al. 2020). Se pueden lograr aplicaciones no transgénicas, técnicas de ARN de interferencia para el control de plagas a través de rociado foliar, sumergiendo los tejidos de las hojas en solución de dsRNA, tratamiento del suelo o inyecciones directas al tallo (Cagliari et al. 2019; Dubrovina et al. 2019; Dalakouras et al. 2020). A través de esta estrategia se han tenido éxitos en algodón, lechuga, tabaco, tomate, algunos cítricos y yuca (Luan et al. 2013; Thakur et al. 2014; Malik et al. 2016; Ibrahim et al. 2017).

Adicionalmente y para mejorar los efectos además de ampliar la vida útil de los dsRNA se ha utilizado la nanotecnología, de esta manera, la nanoestructura o los nanotubos de carbono con diámetro inferior a 0.1  $\mu\text{m}$  se pueden reabsorber en las membranas celulares estabilizando los dsRNA durante períodos prolongados y continuos, además de protegerlos de las enzimas proteolíticas (He et al. 2013; Eakteiman et al. 2018). También se ha utilizado la nanoencapsulación de aceites esenciales con actividad sobre *B. tabaci* (Peres et al. 2020; Christofoli et al. 2015) y de hongos entomopatógenos como *Cordyceps fumosorosea* (Wang et al. 2019).

#### **2.4.3.4 Pesticidas**

Las sustancias de origen químico son los más ampliamente usados para controlar diferentes plagas de insectos, incluida *B. tabaci*, en cultivos de importancia económica, los más comúnmente utilizados son pyriproxyfen, buprofezen (reguladores del crecimiento), piromesifen, spirote tramat (ketoenols) y diamidas antranílicas, cyantraniliprole y chlorantraniliprole (diamidas) (Perring et al. 2018). El más utilizado a nivel mundial y de mayor utilidad es imidacloprid, otros ampliamente utilizados contra insectos chupadores incluyendo la mosca blanca son organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y triazinas (Nicolopoulou-Stamati et al. 2016).

## **2.5 Hongos entomopatógenos**

Estos hongos son un conjunto relevante de agentes de control biológico que tienen la característica de infectar directamente a los insectos a través de la cutícula, se estima que todos los insectos pueden ser sujetos a una enfermedad causada por hongos (Khan et al. 2012). Existen alrededor de setecientas especies de entomopatógenos pertenecientes al grupo Laboulbeniales y Pyrenomycetes, Hyphomycetes y Zygomycetes (Abdelghany 2015). La mayoría de los hongos entomopatógenos actualmente en estudio pertenecen a la clase Entomophthorales del phylum Zygomycota e Hyphomycetes de el filo Deuteromycota (Shahid et al. 2012).

### **2.5.1 Proceso infeccioso y ciclo de vida de los hongos entomopatógenos**

En general, todos los hongos entomopatógenos tienen el mismo modo de infección, incluida la unión de esporas a la cutícula, germinación de hifas sobre la superficie de insectos, penetración de hifas a través del tegumento, crecimiento de hongos en el hemocele y, en última instancia, el deceso del insecto. En la figura 7 se ejemplifica el mecanismo de acción de *B. bassiana*.

#### **2.5.1.1 Unión del conidio a la cutícula del insecto**

El nexos inicial entre el hongo y el insecto pasa cuando el conidio se coloca en la superficie del insecto, mientras que el mecanismo de unión ocurre en tres fases incluyendo la adsorción del conidio a la superficie a través del reconocimiento por receptores específicos glicoproteicos en el insecto, el afianzamiento de la interfase entre la espora en estado pregerminado y la epicutícula y al final, la germinación y crecimiento hasta la constitución del apresorio para iniciar la fase de entrada al hemocele (Pedrini et al. 2007).

### 2.5.1.2 Entrada en el hemocele

la entrada en el hemocele sucede mediante un mecanismo físico ejercido por la compresión del haustorio que es una estructura formada por los hongos que causa una deformación de la capa cuticular y elimina las zonas esclerotizadas y con membranas de la cutícula. El mecanismo denominado químico, está dado por enzimas del tipo proteasas, lipasas y quitinasas, que dañan el tejido y facilitan el acceso del hongo. Otros mecanismos incluyen la entrada por cavidad oral, los espiráculos y aberturas externas de los insectos (Téllez -Jurado et al. 2009).

### 2.5.1.3 Replicación en el hemocele

Una vez en el hemocele, los hongos pueden realizar un cambio de micelio a levadura y ya que han logrado la evasión del sistema inmunológico del insecto, se induce una infección generalizada, la cual puede provocar distintos síntomas que incluyen convulsiones, falta de coordinación, conducta errática y un letargo prolongado. El deceso del insecto sucede por la mezcla causada por el daño físico a los tejidos, además de la toxicosis, la deshidratación celular por pérdida de líquidos baja de nutrientes (Bustillo 2001).

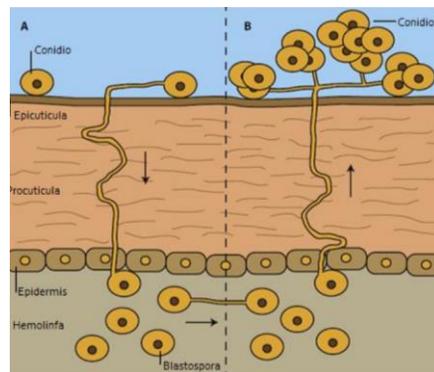


Figura 7. Mecanismo de acción de *Beauveria bassiana* observando un corte transversal de la cutícula de un insecto donde se puede apreciar el crecimiento del hongo (Crédito de la imagen: Valero-Jiménez et al. 2016)

## 2.6 *Beauveria bassiana*

Agostino Bassi, pionero en probar que un hongo es capaz de causar enfermedad en los insectos. Bassi describió una enfermedad a la que nombro “muscardina blanca” en *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) llamado también gusano de seda. El hongo fue descrito finalmente por G. G. Balsamo-Crivelli en el año de 1835, y le otorgó el nombre de *Botrytis bassiana*, para honrar el descubrimiento de Bassi. En el año de 1911 Beauverie realizo trabajo de investigación con el hongo y para el año de 1912 Vuillemin nombro el nuevo género en reconocimiento a Beauverie, surgiendo el nombre de *Beauveria bassiana*. En la actualidad, *B. bassiana* es una de las especies más reconocidas y mayormente difundidas del género, considerado ubicuo el cual se ha recuperado de una amplia diversidad de insectos y en la tabla 4 se describe su ubicación taxonómica (Zimmermann 2007).

Tabla 4. Ubicación taxonómica de *Beauveria bassiana*

Super reino	Eukaryota
Reino	Fungi
Filum	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	Cordyceps (= <i>Beauveria</i> )
Especie	<i>bassiana</i>
Nombre binomial	<i>Beauveria bassiana</i>

### 2.6.1 Rango de hospederos

*B. bassiana* tiene un amplio rango de hospedadores que abarca 521 géneros distribuidos en 149 familias en quince ordenes de insectos, adicionalmente de trece especies de Acarina en siete géneros y seis familias. Es hongo se ha encontrado como parasito de insectos como lepidópteros, coleópteros, himenópteros, homópteros, dípteros, hemípteros, ortópteros, sifonápteros, isópteros, tisanópteros, neurópteros, entre otros.

## 2.6.2 Morfología

*B. bassiana* presenta un micelio blanco, con colonias de aspecto aterciopelado o polvoso; que pueden ser blancas en los bordes y que se tornan de un color amarillo pálido, sin color al reverso, amarillentas o de color rojo. Los conidióforos son cuantiosos, y surgen de las hifas y sostienen agrupaciones de células conidiógenas que se bifurcan para formar células en forma de globo en su parte basal con un raquis de 20  $\mu\text{m}$  de longitud, que forma un zigzag (figura 8). Los conidios tienden a ser vitreos, lisos, de forma globosa o elipsoides de  $2-3 \times 2.0-2.5 \mu\text{m}$ , que forman estructuras similares a racimos (Zimmermann 2007)

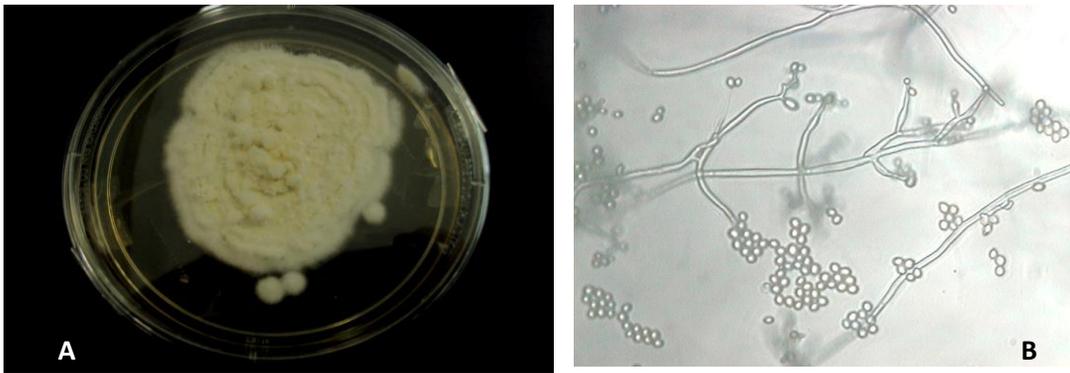


Figura 8. (A) Morfología colonial de *B. bassiana*; (B) Microcultivo de *B. bassiana* observado a 100 $\times$  (Crédito de imágenes: Gandarilla-Pacheco F. L.).

## 2.7 Circunstancias que afectan la biología de *B. bassiana*

Factores abióticos tienen un objetivo importante en el inicio y desarrollo o en la previsión y eliminación de epizootias perjudicando el estado fisiológico del hospedero, su concentración y su distribución en espacio y tiempo. Los componentes ambientales como temperatura y la humedad forman un agregado de factores que se relacionan entre ellos y con otros elementos ambientales como la radiación solar. En resumen, existen condiciones que pueden influir en la efectividad de los entomopatógenos como elementos de control biológico son la humedad, temperatura y la radiación (Toriello et al. 2008).

### **2.7.1 Temperatura**

Este parámetro es uno de los que tiene mayor influencia en la germinación, desarrollo y la infección por *B. bassiana*, así como en su subsistencia a nivel de campo. La temperatura ideal para la mayoría de estos hongos está en un rango de 20 a 30 °C (Wraight et al. 2007), pero cabe mencionar que hay una temperatura adecuada para cada patógeno y por cada una de las fases del ciclo en relación con su hospedero.

La temperatura tiene efecto en la germinación de las esporas, el crecimiento o formación del tubo germinativo, la penetración en el hemocele del insecto y de esta forma la colonización y reproducción. Diversos autores han reportado que la esporulación se inhibe a temperaturas menores de 10 °C y arriba de 35 °C (Toriello et al. 2008).

### **2.7.2 Humedad relativa**

Se sabe que la humedad es esencial en las diferentes etapas del ciclo y la relación entre hospedero y patógeno. Tiene consecuencias en la germinación, acceso al hemocele y multiplicación de los entomopatógenos. Se considera esencial que entre la cutícula y las esporas haya un tipo de lámina de agua para que se trasladen indicaciones de naturaleza química a las esporas para empezar el proceso de germinación (Jackson et al. 2010). Los hongos requieren una elevada humedad cercana al 100 % para realizar la germinación, el proceso de infección y la esporulación. Se ha documentado que el aumento de la humedad se asocia con un aumento en la mortalidad de los insectos (Godoy et al. 2007).

Por otro lado, en condiciones de almacenamiento una humedad relativa elevada no es benéfica para que las esporas perduren por periodos de tiempo largos. En estas circunstancias para conservar el estado viable se trata de llevar a las esporas a un estado de dormancia reduciendo la temperatura y la humedad.

Para conservar la viabilidad se puede estimular a las esporas a que entren a un estado denominado dormancia, reduciendo la humedad y la temperatura. En diversos trabajos se encontró que al disminuir el porcentaje de humedad hasta un 4 a 6 % de un formulado a base de conidios de un entomopatógeno en almacenamiento, se alcanzan niveles de hasta 89 % de viabilidad a 25 °C (Jackson et al. 2010).

### **2.7.3 Radiación solar**

La radiación solar, incluyendo la luz ultravioleta (UV), es quizás uno de los elementos que mayormente afectan la durabilidad de los entomopatógenos a nivel de campo (Devotto y Gerding 2003). Diferentes estudios han documentado que entomopatógenos presentan sensibilidad a longitudes de onda entre 285 a 315 nm en la región ultravioleta (Maranhão y Maranhão 2009).

La radiación ultravioleta se puede emplear para inducir o afectar el crecimiento de los entomopatógenos, lo cual también depende de la especie, la etapa del desarrollo en la que se encuentra, así como el tipo y la proporción de radiación recibida. El principal daño que causa la radiación es que baja la sobrevivencia de los conidios, porque produce daños en las células debido a su actividad sobre porfirinas, carotenoides, quinonas, esteroides, proteínas y los mismos ácidos nucleicos, causando mutaciones, muerte celular o demoras en su desarrollo (Braga et al. 2001). Diferentes estrategias se han utilizado para reducir los efectos indeseables del exceso de radiación ultravioleta en biopesticidas, como buscar aplicarlos en temporadas y horas donde la radiación es menor, hacer uso de cubiertas, agregar al suelo, agregar antioxidantes, así como el uso de sustancias protectoras como aceites y realzantes de color que han mostrado eficacia para virus entomopatógenos (Devotto y Gerding 2003).

## **2.8 Formulación**

La formulación es un procedimiento donde el activo, que en este caso serían los conidios de un hongo, se combinan con materiales inactivos o inertes. Estos materiales no tienen actividad biológica, tampoco dañan a los hongos y generalmente son inocuos al medio ambiente. Además, deben tener características que faciliten la mezcla con las esporas o conidios, ser facilitadores de la aplicación del mismo producto y ser de bajo costo (Delgado y Murcia 2011). Diversos estudios mencionan que la viabilidad, estabilidad y la persistencia a nivel de campo de los hongos entomopatógenos depende del tipo de formulación (Cortez 2006). Algunas formulaciones pueden tener la capacidad de incrementar la virulencia del hongo debido a que facilitan la unión de las esporas a la

cutícula del insecto además de estimular el proceso germinativo (Butt y Goettel 2000). El hecho de que un plaguicida biológico tenga éxito está en gran medida en que la formulación sea idónea, además de las características propias del organismo, como se relaciona con los ingredientes de la formulación y las condiciones de almacenamiento.

## **2.9 Microencapsulación**

La microencapsulación es un procedimiento donde sólidos, líquidos o gases pueden encapsularse para formar micropartículas en un rango de 3 a 800  $\mu\text{m}$ . Actualmente, la diversidad de metodologías utilizadas para la microencapsulación ha aumentado debido al descubrimiento de nuevos materiales para el recubrimiento, aunado a la necesidad de encontrar procesos de encapsulación más específicos para ciertos activos (Brignone et al. 2020).

La microencapsulación se utiliza en mayor medida en la industria farmacéutica y en cosméticos y alimentos. Esta tecnología también ha incursionado en la agroquímica, debido a que al proteger los activos mediante la encapsulación se puede hacer una liberación controlada, para aumentar su eficiencia y la persistencia del ingrediente activo (Villamizar y Martínez 2008).

### **2.9.1 Microencapsulación por coacervación**

La microencapsulación por coacervación es un método fisicoquímico que es cubrir partículas con un recubrimiento de origen polimérico, que se obtiene por precipitar estos polímeros disueltos en un medio denominado dispersante. En este método sucede la separación de un coloide que está solvatado entre 2 fases de líquido, donde una contiene una elevada proporción del coloide que es la cubierta del coacervado y la siguiente fase que tiene una proporción menor. Si existen micropartículas sólidas no solubles, o gotas de líquido que no son miscibles mantenidas en el medio, las gotas del coacervado que se forman pueden ser adsorbidas en la parte superficial de las partículas que están dispersas.

Una vez que el coacervado está depositado en la parte superficial, se cubre el núcleo con un tipo de fluido en forma de película y de alta viscosidad del material polimérico para dar lugar a la microencapsulación. Posteriormente esta película que estaba fluida se endurece y solidifica para formar un tipo de cápsula turgente alrededor del núcleo (Villamizar y Martínez 2008).

La coacervación puede ser de dos tipos, simple o compleja. En la simple se utiliza un solo polímero para la formación de la cubierta, así como el empleo de un desencadenante para inducir la coacervación, que puede ser los cambios de temperatura y pH, la adición de sales, o de polímeros no compatibles, así como la evaporación del solvente utilizado (figura 9). En la figura 10 se describe el proceso de coacervación compleja donde la separación de fases ocurre espontáneamente, ya que en un medio líquido se hace una mezcla de dos o más polímeros que tienen carga opuesta como un polication y un polianión, debido a la atracción electrostática entre ambos (Brignone et al. 2020).

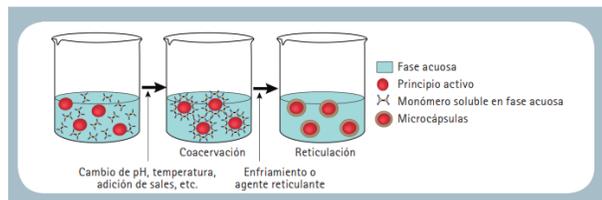


Figura 9. Proceso de coacervación simple. Crédito de la imagen: Brignone et al. 2020

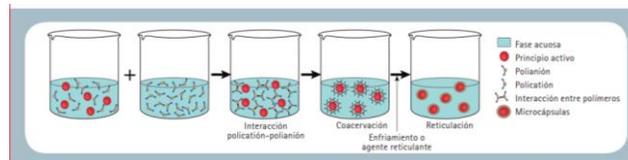


Figura 10. Proceso de coacervación compleja. Crédito de la imagen: Brignone et al. 2020

## 2.10 Actividad tóxica de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*

Zafar et al (2016) en Pakistán probaron aislados de *B. bassiana* sobre ninfas y huevos de la mosca blanca a diferentes concentraciones en algodón, berenjena, pimiento y tomate. Encontrando que el aislado más eficaz fue el Bb-01 en plantas de algodón con una mortalidad de hasta 88 % en ninfas y de hasta 65 % en huevos; además de determinar el valor de  $CL_{50}$  en  $2.4 \times 10^7$  conidios/ml y un  $TL_{50}$  de 5.40 días en plantas de algodón.

En otro trabajo realizado en India por Prithiva et al (2017) se utilizaron diferentes formulaciones de *B. bassiana* con  $10^8$  conidios/ml sobre ninfas y adultos en plantas de tomate obteniendo reducciones de la población de hasta 45 %.

Un trabajo realizado en Arabia Saudita por Al-Deghari et al (2008) se realizó un estudio para establecer el efecto letal de *B. bassiana* sobre huevos y ninfas de distintos estadios de *B. tabaci*. Los resultados muestran que los estadios primero y segundo son más susceptibles que el tercero y cuartos estadios, mostrando que las ninfas fueron altamente susceptibles en comparación a los huevos

Maranha y Maranh (2006) en España determinaron la influencia del hospedero en la patogenicidad de *B. bassiana* sobre *B. tabaci*. Se probaron los cuatro estadios ninfales en diferentes hospederos como pepino, tomate, melón, pimiento verde, berenjena, col, frijol y algodón mediante el método de sumergido en  $1 \times 10^7$  conidios/ml durante 10 segundos. Encontrándose que la mortalidad y el tiempo medio de supervivencia a los 8 días de la inoculación fueron influenciados significativamente por las plantas hospederas mostrando que mientras la mortalidad media osciló entre  $52 \pm 7.3$  para ninfas criadas en algodón y  $91 \pm 5.8$  para ninfas criadas en pepino.

Imam (2017) realizó un estudio en Egipto con adultos de *B. tabaci* sobre algodón a tres concentraciones de *B. bassiana* ( $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  conidios/mL) en algodón, donde el mayor porcentaje se reportó a la concentración más alta de conidios con un 56 %.

Mascarin et al (2013) en Brasil probaron aislados de *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, y *L. muscarium* sobre ninfas de *B. tabaci* con concentraciones de hasta  $10^7$  conidios/mL, reportándose que los aislamientos de *B. bassiana* e *I. fumosorosea* fueron significativamente más virulentas que la de *L. muscarium*, con una mortalidad superior al 77%.

En otro estudio realizado en México, Flores et al (2012) probaron *B. bassiana*, *M. anisopliae*, e *I. fumosorosea* a una concentración de  $5 \times 10^9$  conidios/ha sobre huevos, ninfas y adultos de *B. tabaci*. No encontrando diferencias significativas en la mortalidad individual para todas las etapas de la vida de la mosca blanca; siendo *M. anisopliae* significativamente más eficaz contra los huevos y ninfas de los diferentes estadios.

En China Keerio et al (2020) probaron aislados de *B. bassiana* y *L. lecanii* sobre ninfas en plantas de tomate, mediante dos métodos utilizando filtrados y conidios y combinaciones de ambos aislados, encontrando que *B. bassiana* aislado BB-72 fue el más virulento.

Abdel-Raheem et al (2016) en Egipto probaron tres concentraciones diferentes ( $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ , y  $1 \times 10^9$  conidios /ml) de *M. anisopliae*, *B. bassiana*, y *L. lecanii* sobre adultos de *B. tabaci*. El porcentaje de reducción osciló entre el 52% y el 100% en todas las concentraciones y todos los tratamientos causaron 100% de mortalidad con concentraciones de  $1 \times 10^9$  después del sexto día de aplicación.

Reyad (2017) en otro estudio realizado en Egipto utilizó *M. anisopliae*, *B. bassiana*, y *L. lecanii* a tres concentraciones diferentes de  $2 \times 10^3$ ,  $2 \times 10^4$  y  $2 \times 10^5$  conidios/mL sobre adultos de *B. tabaci*. El porcentaje de mortalidad osciló entre 80-100% para *L. lecanii*, de 45-75% para *B. bassiana* y de 45-70% para *M. anisopliae* al séptimo día después del tratamiento. La concentración de  $2 \times 10^5$  conidios/mL fue altamente tóxico bajo condiciones en laboratorio, así como a nivel de campo.

## 2.11 *B. tabaci* y la situación fitosanitaria en México

Según la página oficial de la EPPO la situación actual de *B. tabaci* como plaga en territorio Mexicano desde el año 2012 se considera como presente de manera generalizada, mientras que de acuerdo con el mapa de plagas elaborado por CABI se considera que desde el año 1999 está presente en el país de manera extendida, al igual que lo considera la NPPO

Así mismo la EPPO reporta que el biotipo A se encuentra presente en los estados de Campeche, Guanajuato, Durango, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Puebla, Quintana Roo, Coahuila, Sinaloa, Guerrero, Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca, Baja California Norte y Sur. Mientras que el biotipo B se confirmó por primera vez en el estado de Sonora en 1991, y en 1997 también en Quintana Roo; y el biotipo Q detectado por primera vez en Sonora en flores de pascua conocidas también como nochebuenas o flor de navidad (*Euphorbia pulcherrima*).

Actualmente de acuerdo con información de la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural a través del SENASICA y con la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias No. 8 “Determinación de la situación de una plaga en un área”, *B. tabaci* está en México como presente en el área donde se encuentren cultivos hospederos por lo que se considera, plaga no cuarentenaria (Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural 2020).

Registros históricos muestran que en el año de 1991 el biotipo B representó un gran problema, fitosanitario en Mexicali, incluyendo a la región de San Luis Rio Colorado y la costa de Hermosillo en el estado de Sonora; la zona de la Comarca Lagunera en Coahuila. En estas localidades esta plaga afectó los cultivos de sandía, melón, algodón y ajonjolí ocasionando pérdidas de hasta 100 millones de pesos. En ese momento, su control requirió el empleo de insecticidas. En la actualidad a nivel nacional las poblaciones de *B. tabaci* que se han detectado son bajas, sin embargo, en hortalizas se ha registrado los efectos de las enfermedades ocasionadas por virus asociadas con altas poblaciones de la mosca blanca. Por ejemplo, en el noroeste de México, *B. tabaci* biotipo B es transmisor del virus

de la hoja enrollada de la calabaza, y se ha estimado que los rendimientos de calabaza pueden ser afectados desde un 50 hasta un 100% (Ortega-Arenas y Carapia -Ruiz 2020).

Como ya se mencionó, en México, *B. tabaci* es un insecto plaga de los que más daño causa y su mayor impacto es porque transmite virosis como las causadas por los begomovirus principalmente por el biotipo B, además de la elevada cantidad de hospedadores a los que infecta, su rápida tasa de reproducción y la resistencia a insecticidas (Holguín et al. 2010).

En zonas como Baja California Sur, la Costa de Hermosillo, Valle del Yaqui, Sinaloa, Nayarit, Guerrero, Jalisco, Chiapas, Tamaulipas Sonora, Michoacán, Guanajuato, Durango y Coahuila es fácil encontrar la especie de *B. tabaci* especialmente en las zonas productoras de frijol (*Phaseolus vulgaris*), brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*); algodón (*Gossypium* spp), jitomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum* spp); en Veracruz se observan en pepino (*Cucumis sativus*), espinaca (*Spinacia oleracea*), acelga (*Beta vulgaris*) y frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*) calabaza (*Cucurbita maxima*), calabacita (*Cucurbita pepo*), melón (*Cucumis melo*), sandía (*Citrullus lanatus*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*) donde ocasionan daños a estos cultivos con grandes pérdidas económicas para los productores (Aguilar 2007 ; Ortiz et al. 2010).

En la región norte de la república Mexicana se redujo la producción de algodón hasta en un 50%. En Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí donde se cultiva chile y tomate se estima que la mosca blanca ha ocasionado 40% de pérdidas (Ellsworth y Martínez-Carrillo 2001).

### **3. JUSTIFICACION**

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) daña a los cultivos al succionar directamente los nutrientes de las plantas, también es un eficiente transmisor de virus. Esto se ve reflejado en pérdidas en las cosechas de entre el 20% y 100% y por ende en pérdidas económicas en el sector agrícola. Una alternativa para el control de *Bemisia tabaci* es la utilización de *Beauveria bassiana*, la cual controla la propagación de *Bemisia tabaci*, sin embargo, las formulaciones de *Beauveria bassiana* son poco viables y se ven afectadas por las condiciones ambientales. El principal objetivo es obtener un formulado para incrementar la viabilidad de las conidias de *Beauveria bassiana* implementando el método de microencapsulación por coacervación.

### **4. HIPÓTESIS**

Los conidios de *Beuaveria bassiana* son patógenos a estadios inmaduros de *Bemisia tabaci* y estos propágulos pueden encapsularse mediante la técnica de coacervación para aumentar su resistencia a condiciones adversas de temperatura y radiación UV

## **5. OBJETIVO DEL TRABAJO**

### **5.1 Objetivo general**

Optimizar las condiciones para el desarrollo de un formulado microencapsulado por coacervación *patógeno a estadios inmaduros de Bemisia tabaci* con conidios de *Beauveria bassiana* como ingrediente activo

### **5.2 Objetivos particulares**

1. Estandarización de las variables de microencapsulación por el método de coacervación
2. Evaluación de la patogenicidad de las cepas de *Beauveria bassiana* sobre *B. tabaci* en bioensayos de laboratorio
3. Obtención de formulado de microcápsulas con conidios de *Beauveria bassiana*
4. Caracterización de las microcápsulas
5. Determinación de la viabilidad de los conidios microencapsulados sometidos a radiación ultravioleta
6. Determinación de la viabilidad de los conidios microencapsulados sometidos a diferentes temperaturas

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Colonia de *Bemisia tabaci*

Para establecer la colonia de *B. tabaci*, se recolectaron insectos adultos de brotes u hojas de melón, *Cucumis melo* (L.), y tomate, *Solanum lycopersicum* (L.), proporcionados por la Facultad de Agronomía de la UANL. Estos adultos se establecieron en plantas de tomate para su alimentación y reproducción. Posteriormente se recolectaron y liberaron alrededor de 200 insectos (hembras y machos) en jaulas ventiladas de 2 tamaños diferentes, es decir,  $48 \times 48 \times 60$  cm y  $60 \times 65 \times 160$  cm. Estos se conservaron en una habitación con condiciones controladas a  $26 \pm 2$  °C y 14:10 h L:O. Cada jaula contenía plántulas de tomate para alimentar y reproducir insectos adultos. Cuando las plántulas maduraban, se recogían los insectos para introducirlos en jaulas con nuevas plantas.

### 6.2 Activación de hongos entomopatógenos

Se utilizaron cepas nativas de hongos procedentes de campos citrícolas en México (tabla 5). Para este estudio se seleccionaron 13 cepas nativas y 1 cepa de colección (GHA) de *Beauveria bassiana* que pertenecen al cepario del laboratorio L6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Las cepas se conservan criogénicamente en glicerol al 10% a -80 °C. Para su reactivación se descongelaron a 25 °C, y luego se inocularon en PDA y se mantuvieron a 28 °C por 14 a 21 días.

Tabla 5. Hongos entomopatógenos aislados de campos citrícolas en México.

Clave	Localidad de colecta	Localización geográfica	Elevación (msnm)
HIB-1	Guasave, Sinaloa	N 25°42'20" O 108°20'48"	50
HIB-2	Ahome, Sinaloa	N 25°55'1" O 109°10'42"	10
HIB-3	Ahome, Sinaloa	N 25°33'58" O 108°26'44"	10
HIB-4	Ahome, Sinaloa	N 25°55'24" O 109°10'25"	10
HIB-5	Ahome, Sinaloa	N 25°34'31" O 108°28'18"	50
HIB-6		N 25°48'48" O 108°59'27"	10

	Guasave, Sinaloa	N 21°17'15" O 98°43'38"	10
HIB-7	Ahome, Sinaloa	N 25°24'34" O 99°59'17"	140
HIB-8	Tamazunchale, San Luis Potosí	N 25°42'20" O 108°20'48"	460
HIB-10	Allende, Nuevo León	N 24°14'52" O 99°26'11"	400
HIB-13	Hidalgo, Tamaulipas	N 24°14'52" O 99°26'11"	400
HIB-14	Hidalgo, Tamaulipas	N 24°14'52" O 99°26'11"	400
HIB-15	Hidalgo, Tamaulipas	N 25°55'24" O 109°10'25"	10
HIB-16	Ahome, Sinaloa		

### 6.2.1 Propagación del inoculo

Previo a la propagación se preparó PDA (Agar Papa Dextrosa), y se esterilizó a 121°C en autoclave por 15 minutos, luego se agregaron 10 mL del medio de cultivo en cajas Petri de 100×10 mm. Para la obtención de los cultivos puros con un asa bacteriológica se tomó el hongo y se inoculó en cajas Petri y se incubaron a  $25 \pm 2$  °C hasta observar crecimiento de los hongos. Posteriormente, mediante estriado se colocaron los conidios en el medio de cultivo, este material se incubó a  $25 \pm 2$ °C durante 14 días.

### 6.2.2 Obtención de conidios para los bioensayos

Para los ensayos con ninfas de *B. tabaci* se emplearon las cepas de la tabla 5, los cuales se inocularon en cajas de PDA y se mantuvieron a  $25 \pm 2$ °C por 14 a 21 días. Posteriormente, a cada uno de los hongos se le agregó 10 mL de Tween 80 al 0.1 % (v/v) para ajustar a  $1 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup> utilizando una cámara de Neubauer.

### 6.2.3 Viabilidad

Este parámetro se determinó utilizando cajas petri de 100 × 15 mm con agar papa dextrosa como medio de soporte. A partir de las suspensiones de conidios de las cepas empleadas se colocó 1 mL y se incubaron las placas a 25 °C por 18 horas. Para detener la germinación de las esporas se añadieron 3 gotas de azul algodón lactofenol en tres secciones distintas de la placa Petri. Para estimar la cantidad de conidios viables se

observaron 100 esporas en tres campos de visión distintos a 40× en un microscopio óptico. Para determinar que una espora esta germinada se tomó en cuenta el criterio propuesto por Douglas Inglis et al (2012) que dice que un conidio esta germinado cuando se forma un tubo germinativo de una longitud similar como la mitad del diámetro de este conidio, expresando las células viables como porcentaje de conidios germinados.

### **6.3 Bioensayos con estadios inmaduros de *B. tabaci***

Para los ensayos se emplearon plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) infestadas con huevos y ninfas de *B. tabaci* del segundo al quinto instar. Para los ensayos se utilizaron brotes infestados, a los cuales se les colocó una borla de algodón húmedo con agua bidestilada para mantener el brote turgente. Luego, cada uno de los brotes se colocaron en cajas Petri de 100 × 15 mm y se sumergieron durante 30 segundos en cada uno de los tratamientos, de los cuales se realizaron diez repeticiones para cada uno, que incluyó un testigo con Tween 80 al 0.1 % (v/v) y un testigo absoluto o sin tratar. Las cajas se colocaron en una cámara bioclimática a  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , H.R de 70 % y un fotoperiodo de 14:10 (L:O). Las evaluaciones de mortalidad se realizaron durante 10 días utilizando un estereoscopio donde se consideró a una ninfa como muerta si presentaba cambios de color o morfología, así como la presencia de micelio.

### **6.4 Microencapsulación por coacervación**

Para microencapsular se utilizó como material de pared, gelatina. Para esto se colocó la gelatina en agua destilada, esta solución se calentó a 50 °C y se dejó enfriar a 40°C. De la solución resultante, se tomaron 10 mL y se vertieron en 50 mL de parafina precalentada a 40°C y se agitó a 1000 rpm por 10 minutos. Al transcurrir este tiempo, se congeló rápidamente con la ayuda de hielo y agua. Posteriormente, la suspensión resultante se filtró y se enjuagó con acetona y se secará al vacío toda la noche. Los microencapsulados filtrados se dispersaron en una solución de glutaraldehído 0.1% por 12 horas a 37°C. Una vez concluido este paso, la preparación es lavada en una solución

de glicina por 4 horas y posteriormente en agua destilada por 4 horas. Al terminar de enjuagar, se centrifugó y se dejó secar al vacío toda la noche.

#### 6.4.1 Microencapsulación de conidios de *B. bassiana*

En esta sección se calentaron 100 ml de agua a 90°C y se incorporaron 23 gramos de gelatina, posteriormente se mantuvieron en reposo hasta que la temperatura descendió entre 40-45 °C, manteniendo la temperatura y la agitación constante. En este punto se agregarán los conidios de *B. bassiana* a una concentración de  $7.50 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>. Luego se colocaron 15 ml de parafina con 5% de Span con una agitación de 500 rpm durante 30 minutos. Posteriormente se descendió la temperatura en baño frío durante 6 minutos, luego se colocaron las capsulas en un vaso de precipitados y se colocaron en cámara antihumedad con agitación magnética durante 12 horas para el secado. Finalmente, se centrifuga para retirar el aceite y almacenar (figura 11).

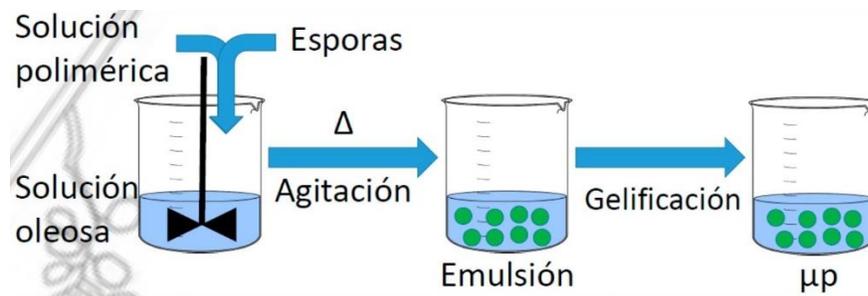


Figura 11. Esquema general para la obtención de micropartículas cargadas con conidios de *B. bassiana* (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez).

#### 6.4.2 Prueba de humedad

Para determinar la humedad de las micropartículas se pesaron viales de vidrio y se colocó una cantidad de 0.1 gramos de micropartículas secas y se colocaron en una estufa a 150 °C durante 24 horas. Al finalizar el tiempo de secado se pesaron nuevamente para obtener

el peso final para calcular el peso del agua evaporada y el porcentaje de humedad inicial mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

P<sub>i</sub>

donde P<sub>i</sub> es igual a peso inicial y P<sub>f</sub> es igual a peso final

### **6.4.3 Viabilidad de las micropartículas**

Para determinar la viabilidad de las micropartículas sin conidios se colocaron 0.1 g de las micropartículas secas en 5 mL de caldo dextrosa Sabouraud y se incubaron durante 12 a 16 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación colocar una gota en un portaobjetos agregando una gota de azul algodón de lactofenol para detener la germinación. El porcentaje de germinación se determinó contando 100 esporas y separándolas entre germinadas y no germinadas.

### **6.5 Efecto de la radiación en la viabilidad de las micropartículas**

Para determinar el efecto de la radiación ultravioleta en micropartículas cargadas con conidios se colocaron 0.1 g de las micropartículas secas en 5 mL de caldo dextrosa Sabouraud y se expusieron a luz UV durante 20, 40 y 60 minutos, posteriormente se incubaron a 27° C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación colocar una gota en un portaobjetos agregando una gota de azul algodón de lactofenol para detener la germinación. El porcentaje de germinación se determinó contando 100 esporas y separándolas entre germinadas y no germinadas.

## **6.6 Efecto de la temperatura en la viabilidad de las micropartículas**

Para determinar el efecto de la temperatura en micropartículas cargadas con conidios se colocaron 0.1 g de las micropartículas secas en 5 mL de caldo dextrosa Sabouraud y se expusieron a diferentes temperaturas (30, 35, 40 y 45 ° C) durante 8 horas, posteriormente se incubaron a 27° C durante 16 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación colocar una gota en un portaobjetos agregando una gota de azul algodón de lactofenol para detener la germinación. El porcentaje de germinación se determinó contando 100 esporas y separándolas entre germinadas y no germinadas.

## **6.7 Análisis Estadístico**

Se llevó a cabo un Análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) mediante el programa IBM® SPSS® versión 19, N.Y., EE. UU.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Cría de *Bemisia tabaci*

La primera camada de *Bemisia tabaci* se obtuvo a través de la Facultad de Agronomía de la UANL. Posteriormente estas fueron mantenidas en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), utilizando para ello 200 adultos entre hembras y machos a partir de los cuales se continuó el proceso de cría para mantener las siguientes generaciones y establecer el ciclo biológico de *B. tabaci* criada bajo condiciones de laboratorio a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , 14:10 h L:O, y 65 % H.R con ciclos generacionales de  $30.0 \pm 5.0$  días que corresponde al tiempo de desarrollo en días requeridos desde el estado de huevo hasta adulto, sin embargo se debe tomar en cuenta que el tiempo de desarrollo puede variar principalmente por la temperatura y el hospedero.

Quijije et al (1995) mencionan que en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) el tiempo para pasar de huevo a adulto puede tomar de 13 a 38 días, mientras que Carabalí et al (2008) reporta que en plantas de yuca (*Manihot esculenta*) este proceso puede tomar hasta 55 días a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Para el mantenimiento de esta cría se construyeron jaulas ventiladas en dos tamaños distintos de  $48 \times 48 \times 60$  cm y  $60 \times 65 \times 160$  cm, con recambios de las plántulas de tomate para que se alimentaran y reprodujeran los adultos (figuras 12, 13 y 14).

Cuando las plántulas maduraban, se recogían los insectos para introducirlos en jaulas con nuevas plantas. Adicionalmente, se preparó un dispositivo diseñado con un tubo de PVC al cual se le realizaron orificios del tamaño de un tubo de ensayo de  $16 \times 150$  mm, donde se colocaron alrededor de veinte de estos tubos para obtener brotes tiernos de tomate que se utilizarían para los ensayos de actividad con hongos entomopatógenos (figura 15).



Figura 12. Germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) para la obtención de plantas para la cría de *B. tabaci* bajo condiciones de laboratorio ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$  , 14:10 h L:O, y 65 % H.R (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez)



Figura 13. Plantas de tomate en cajas ventiladas para la reproducción de *B. tabaci* bajo condiciones de laboratorio ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$  , 14:10 h L:O, y 65 % H.R(Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez)



Figura 14. Plántulas de tomate (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez)



Figura 15. Dispositivo diseñado para la obtención de brotes tiernos de tomate (*Solanum lycopersicum*) (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez).

## 7.2 Microencapsulación de conidios de *B. bassiana* por coacervación

Para lograr la estandarización de las partículas por el método de coacervación se llevaron a cabo diferentes experimentos para establecer las condiciones idóneas para obtener las micropartículas.

Respecto al efecto de la temperatura antes de la adición del formaldehído se modificó la temperatura de enfriamiento de 10 a 4 °C, sin observar ningún cambio por lo cual se mantuvo la temperatura en 10° C. Respecto a la determinación de la temperatura mínima para formar las capsulas y evitar el estrés en su formación se modificó la temperatura del aceite de 40°C a 30 °C, sin encontrar ningún efecto negativo en la formación de las capsulas. Respecto al tiempo de agitación para homogenizar el tamaño de las capsulas al momento de agregar la gelatina se aumentó de 3 a 10 minutos (figura 17). También se estandarizó la cantidad de gelatina a utilizar lo cual se ejemplifica en la figura 16.



Figura 16. Efecto de la concentración del polímero sobre la encapsulación: a) capsulas deformadas (10% p/p); b) capsulas levemente deformadas (20% p/p); c) capsulas sin deformar (30% p/p) (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez).

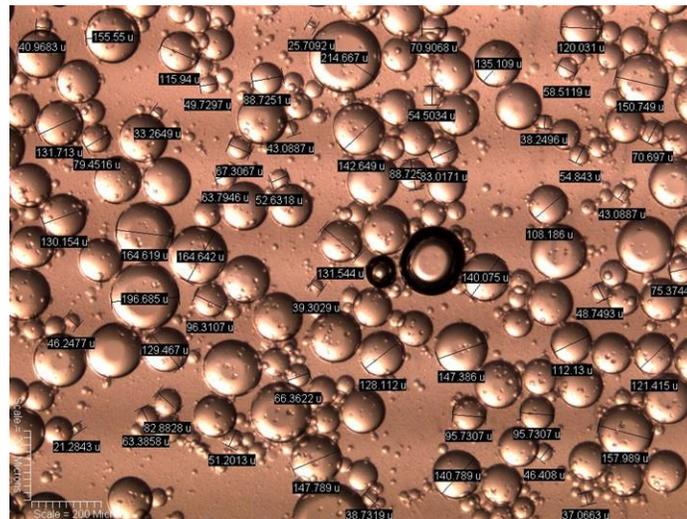


Figura 17. Microfotografía de capsulas obtenidas por coacervación (Crédito de la imagen: J.H Alfaro-Álvarez).

### 7.3 Determinación de humedad de las micropartículas

Otro parámetro importante por determinar fue la humedad de las micropartículas, las cuales se produjeron por lotes y cada uno de ellos se les determinó la humedad, la cual fue elevada en los primeros lotes, sin embargo, se realizaron los ajustes necesarios en la estandarización para disminuir el nivel de humedad, implementando el uso de un

dsecador al vacío con agitación e incluyendo la adición de carbonato, así como un aumento en el tiempo de secado de 24 a 72 horas. En promedio la humedad de los lotes producidos fue de 27 %, y se seleccionaron los que obtuvieron un porcentaje de humedad cercano o inferior al 10% para continuar con a prueba de humectabilidad ya que este porcentaje de humedad permite una mejora en la viabilidad debido al retraso en la germinación, además de disminuir el efecto en los cambios de temperatura (tabla 6).

Tabla 6. Porcentaje promedio de humedad de las micropartículas elaboradas entre los diferentes lotes

<b>Lote</b>	<b>Humedad (%)</b>
1	60
2	60
3	40
4	60
5	70
6	32
7	75
8	60
9	19.23
10	38.67
11	34.65
12	37.25
13	40.77
14	36.89
15	9.5
16	10.38
17	10.65
18	13.8
19	13.44
20	20.98
21	25.34
22	4.95
23	6.16
24	5.66
25	5.98
26	9.17
27	7.75
28	7.76
29	8.62
30	10.83
31	9.82
Promedio ± ES	27.26 ± 2.24

#### 7.4 Bioensayos con huevos y ninfas de *B. tabaci*

De las trece cepas evaluadas de *B. bassiana* a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/mL de los cuales se seleccionó una para continuar con los experimentos de microencapsulación. En el bioensayo de selección de las cepas, los tratamientos causaron una mortalidad de 16-58% sobre los huevos de *B. tabaci*, y de acuerdo con el análisis estadístico se estableció que hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $p=0.0001$ ) y la prueba de Tukey determinó que la cepa HIB-15 fue la más efectiva en provocar la mortalidad sobre *B. tabaci* mediante el método de inmersión, mientras que la cepa HIB-5 causó la mortalidad más baja (figura 18). La viabilidad de los conidios al momento de realizar los ensayos fue en promedio de  $98.1 \pm 0.06$  %.

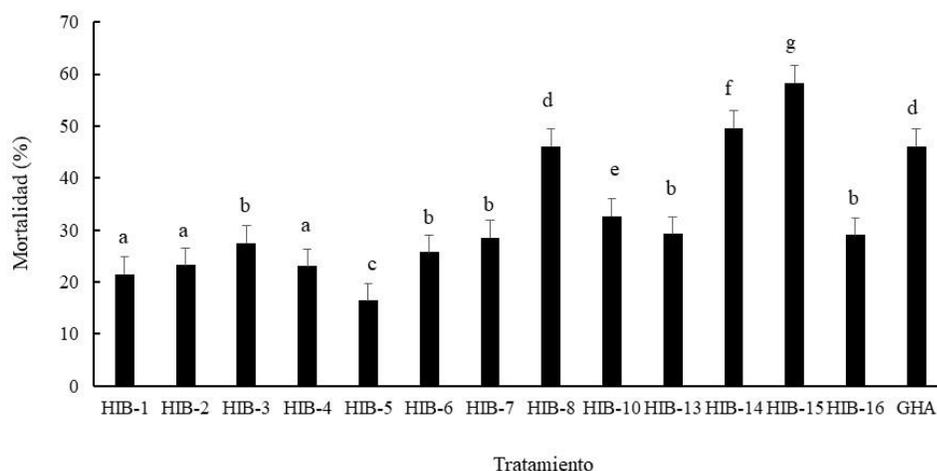
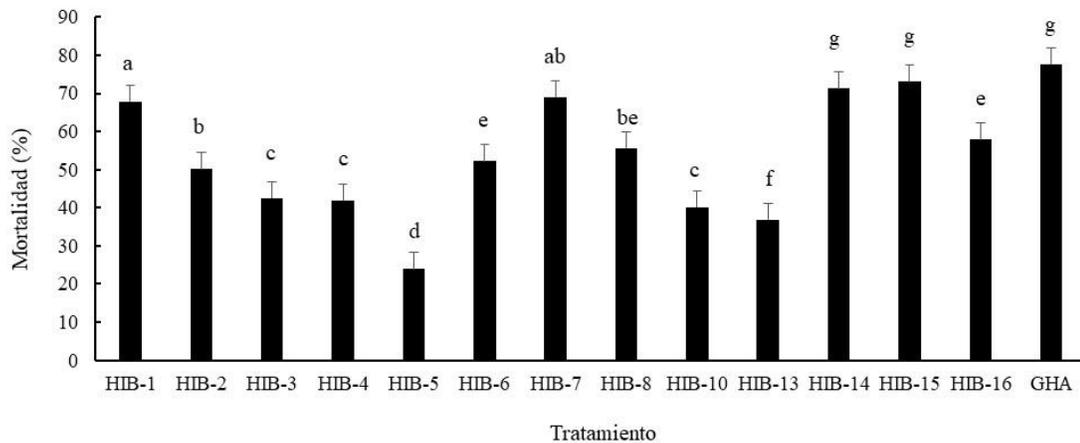


Figura 18. Mortalidad de huevos *B. tabaci* por cepas de *B. bassiana*, mediante el método de inmersión bajo condiciones de laboratorio, 24°C; 52% H.R; 16:8 h L: O. Líneas en las barras indican el error estándar.

Respecto a las ninfas de *B. tabaci*, los tratamientos provocaron una mortalidad de 23-77%, y de acuerdo con el análisis estadístico se estableció que existió diferencia significativa entre los tratamientos ( $p = 0.0001$ ) y la prueba de Tukey detectó que las cepas

HIB-14, HIB-15 y GHA son más efectivas para provocar la muerte de *B. tabaci* mediante el método de inmersión, mientras que la cepa HIB-5 causó la mortalidad más baja al igual que en el ensayo con huevos (figura 19). Tanto en los ensayos con huevos como con las ninfas de *B. tabaci* no se registró mortalidad en los tratamientos testigos.



**Figura 19.** Mortalidad de ninfas de *B. tabaci* por cepas de *B. bassiana*, mediante el método de inmersión bajo condiciones de laboratorio, 24°C; 52% H.R; 16:8 h L: O. Líneas en las barras indican el error estándar.

### 7.5 Efecto de la temperatura en la viabilidad de los tratamientos previo a la microencapsulación

Respecto al impacto de la temperatura en la viabilidad de los tratamientos sin encapsular de acuerdo con el análisis estadístico se estableció que no hay diferencia significativa entre ellos ( $p=0.551$ ) (Tabla 7), mientras que si existió diferencia significativa en la viabilidad de acuerdo a la temperatura de exposición ( $p=0.0001$ ), encontrándose que dentro de las temperaturas de 30 a 35 °C la viabilidad se mantiene en un rango aceptable de 89-91 %, y al aumentar la temperatura disminuye drásticamente (figura 20).

Tabla 7. Viabilidad de conidios de *B. bassiana* entre los diferentes tratamientos a diferentes temperaturas de exposición bajo condiciones de laboratorio

Cepas	Temperatura (°C)			
	30	35	40	45
HIB-1	93.24 (93.10-93.38)	86.30 (86.10-86.50)	85.60 (85.40-85.80)	79.56 (79.42-79.70)
HIB-2	87.66 (87.52-87.80)	73.24 (73.10-73.38)	6.30 (6.10-6.50)	0
HIB-3	88.36 (88.22-88.50)	87.56 (87.42-87.70)	15.32 (14.67-15.97)	0
HIB-4	88.22 (88.06-88.38)	86.34 (86.20-86.48)	21.40 (19.98-22.82)	0
HIB-5	95.56 (95.42-95.70)	95.32 (95.16-95.48)	78.76 (78.62-78.90)	0
HIB-6	88.22 (88.06-88.38)	86.60 (86.40-86.80)	9.40 (8.29-10.51)	0
HIB-7	95.70 (95.58-95.82)	95.34 (95.20-95.48)	12.34 (12.06-12.62)	0
HIB-8	87.60 (87.40-87.80)	87.34 (87.20-87.48)	13.60 (13.40-13.80)	12.48 (12.32-12.64)
HIB-10	90.30 (90.10-90.50)	90.30 (90.10-90.50)	15.22 (14.98-15.46)	0
HIB-13	85.56 (85.30-85.82)	85.38 (85.16-85.60)	16.42 (16.18-16.66)	0
HIB-14	94.80 (93.18-96.42)	95.26 (95.12-95.40)	76.60 (76.40-76.80)	0
HIB-15	96.36 (96.22-96.50)	95.74 (95.60-95.88)	88.64 (88.50-88.78)	51.30 (51.10-51.50)
HIB-16	96.60 (96.40-96.80)	96.42 (96.26-96.58)	90.26 (90.03-90.49)	88.66 (88.45-88.87)
GHA	96.44 (96.30-96.58)	94.46 (94.32-94.60)	90.64 (90.45-90.83)	88.42 (88.22-88.62)
Promedio ± ES	91.76 ± 0.48	89.69 ± 0.74	44.32 ± 4.29	22.89 ± 4.25

\*El promedio y el error estándar están reportados en porcentaje (%)

\*(95% I.C)

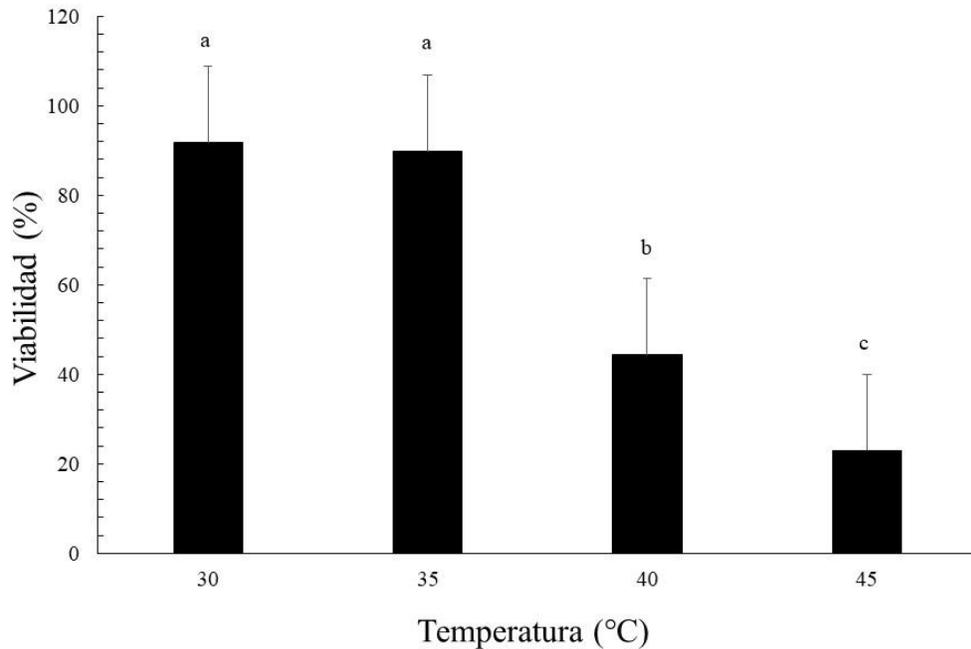


Figura 20. Porcentaje de viabilidad de los conidios no encapsulados entre las diferentes temperaturas de exposición bajo condiciones de laboratorio.

### 7.6 Efecto de la radiación UV en la viabilidad de los tratamientos previo a la microencapsulación

Respecto al efecto de la radiación en la viabilidad de los tratamientos sin encapsular de acuerdo con el análisis estadístico se determinó que no existió diferencia significativa entre ellos ( $p=0.983$ ), ( tabla 8 ), mientras que si existió diferencia significativa en la viabilidad de acuerdo al tiempo de exposición a la radiación UV ( $p=0.0001$ ), encontrándose que cuando los conidios no son expuestos a la radiación la viabilidad se mantiene en un promedio de 93 %, mientras que a los 20 minutos de exposición disminuye hasta un 62 %, y a los 40 y 60 minutos la viabilidad decae considerablemente(figura 21).

Tabla 8. Viabilidad de conidios de *B. bassiana* entre los diferentes tratamientos a diferentes tiempos de exposición a la radiación UV bajo condiciones de laboratorio

Cepas	Radiación UV (minutos)			
	0	20	40	60
HIB-1	94.70 (94.5-94.90)	81.36 (81.10-81.62)	59.34 (59.08-59.60)	21.40 (21.20-21.60)
HIB-2	89.20 (89.00-89.40)	72.70 (72.5-72.90)	37.64 (37.50-37.78)	16.34 (16.20-16.48)
HIB-3	91.30 (91.10-91.50)	59.30 (59.10-59.50)	8.68 (8.44-8.92)	0.32 (0.16-0.48)
HIB-4	92.60 (92.40-92.80)	60.44 (60.23-60.65)	10.20 (10.00-10.40)	3.50 (3.22-3.78)
HIB-5	96.30 (96.10-96.50)	75.38 (75.14-75.62)	15.56 (15.30-15.82)	3.72 (3.56-3.88)
HIB-6	90.30 (90.10-90.50)	54.30 (54.10-54.50)	7.30 (7.10-7.50)	0.68 (0.44-0.92)
HIB-7	96.48 (96.32-96.64)	14.24 (14.10-14.38)	0.60 (0.40-0.80)	0.30 (0.10-0.50)
HIB-8	90.24 (90.10-90.38)	52.44 (52.30-52.58)	13.50 (13.30-13.70)	13.30 (13.10-13.50)
HIB-10	92.36 (92.10-92.62)	70.44 (70.18-70.70)	12.40 (12.20-12.60)	3.38 (3.16-3.60)
HIB-13	86.32 (86.16-86.48)	54.46 (54.20-54.72)	5.30 (5.10-5.50)	0.40 (0.20-0.60)
HIB-14	97.40 (97.20-97.60)	75.28 (75.12-75.44)	58.5 (58.30-58.70)	23.60 (23.40-23.80)
HIB-15	98.32 (98.08-98.56)	73.20 (73.00-73.40)	54.78 (50.00-59.56)	20.70 (20.50-20.90)
HIB-16	98.30 (98.10-98.50)	69.30 (69.10-69.50)	47.70 (47.50-47.90)	15.30 (15.10-15.50)
GHA	98.28 (98.04-98.52)	60.20 (60.00-60.40)	32.40 (32.20-32.60)	17.40 (17.11-17.69)
Promedio ±ES	93.72 ± 0.45	62.36 ± 1.93	25.99 ± 2.51	9.92 ± 1.06

\*El promedio y el error estándar están reportados en porcentaje (%)

\*(95% I.C)

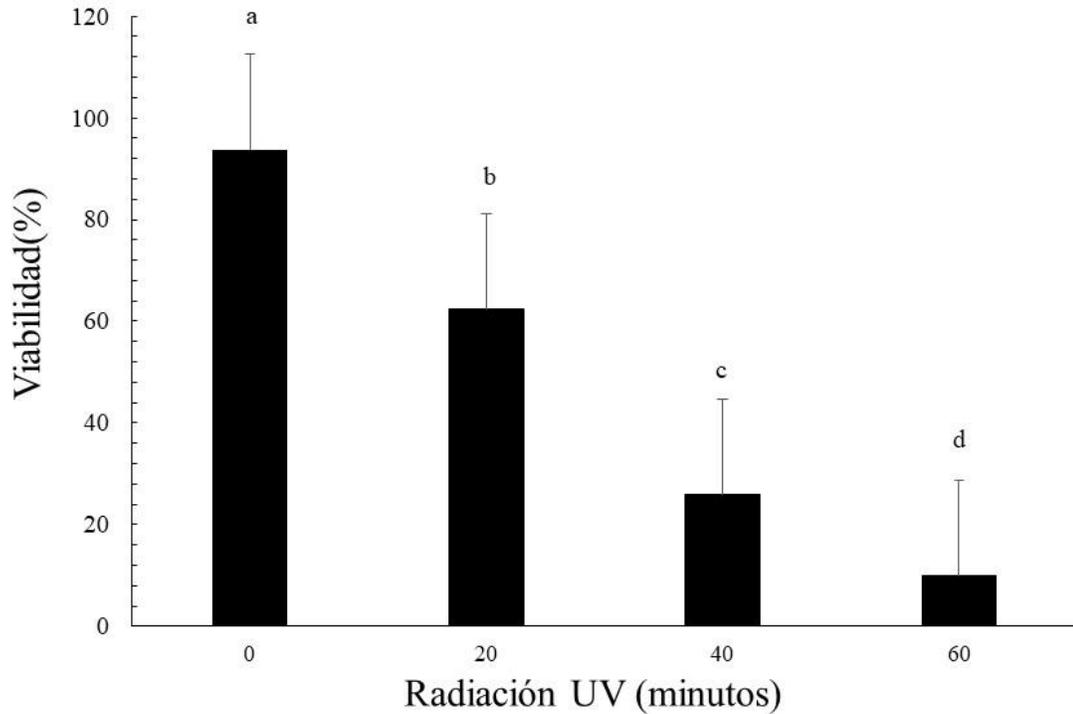


Figura 21. Porcentaje de viabilidad de los conidios no encapsulados entre los distintos tiempos de exposición a la radiación UV-B bajo condiciones de laboratorio.

### 7.7 Selección de la cepa de *B. bassiana* para la microencapsulación

Debido a lo anterior se optó por elegir la cepa HIB-15 para continuar con el proceso de microencapsulación ya que fue la que obtuvo un mayor índice de mortalidad dentro del ensayo de selección.

### 7.8 Efecto de la temperatura en la viabilidad de la cepa HIB-15 microencapsulada por coacervación

Respecto a los conidios de la cepa HIB-15 que continuo el proceso de microencapsulación por coacervación el análisis estadístico evidenció que hubo diferencia significativa entre los conidios encapsulados y sin encapsular en las temperaturas analizadas ( $p=0.0001$ ), donde se observó que a los 40 ° C la viabilidad de los conidios microencapsulados se mantiene en alrededor de 96 %, mientras que en los no encapsulados desciende a 88 %, y

este diferencia es más evidente cuando la temperatura aumento cinco grados centígrados más, pues mientras en los conidios microencapsulados la viabilidad se mantiene en un nivel de 87 % en los no encapsulados desciende hasta 51 %, haciendo evidente la protección que brinda la formulación a los conidios (tabla 9).

Tabla 9. Comparación de la viabilidad de conidios de la cepa de HIB-15 de *Beauveria bassiana* microencapsulados por coacervación y no microencapsulados sometidos a diferentes temperaturas de incubación bajo condiciones de laboratorio

Tratamiento	Temperatura (°C)			
	30	35	40	45
Conidios sin microencapsulación	96.53 ± 0.04 (96.44-96.61)	95.72 ± 0.04 (95.64-95.80)	88.53 ± 0.05 (88.42-88.65)	51.43 ± 0.06 (51.30-51.56)
Conidios microencapsulados	97.43 ± 0.05 (97.31-97.54)	96.55 ± 0.05 (96.47-96.63)	96.46 ± 0.06 (96.35-96.57)	87.55 ± 0.07 (87.42-87.69)

\*El promedio y el error estándar están reportados en porcentaje (%)

\*(95% I.C)

### 7.9 Efecto de la radiación UV en la viabilidad de la cepa HIB-15 microencapsulada por coacervación

Los conidios de la cepa HIB-15 microencapsulados por coacervación que se sometieron a la radiación UV el análisis estadístico mostro que existió diferencia significativa entre los conidios encapsulados y sin encapsular en los tiempos en que se expusieron a la radiación analizados( $p=0.0001$ ), donde se observó que a los 20 minutos de expuestos a la radiación UV la viabilidad de los conidios microencapsulados se mantiene en alrededor del 73 %, mientras que en los no encapsulados desciende a 70 %, y este diferencia se mantiene a los 40 y 60 minutos de exposición a la radiación donde esta se mantiene en niveles de 58 y 20 %, observándose que a diferencia de la temperatura la formulación parece ser no del todo competente en brindar protección de la radiación UV a los conidios microencapsulados (tabla 10).

Tabla 10. Comparación de la viabilidad de conidios de la cepa de HIB-15 de *Beauveria bassiana* microencapsulados por coacervación y no microencapsulados sometidos a diferentes tiempos de exposición a la radiación UV bajo condiciones de laboratorio

Tratamiento	Radiación UV (minutos)			
	0	20	40	60
Conidios sin microencapsulación	98.26 ± 0.04 (98.18-98.34)	70.32 ± 0.04 (70.22-70.42)	56.26 ± 0.04 (56.18-56.34)	20.27 ± 0.04 (20.18-20.37)
Conidios microencapsulados	98.41 ± 0.03 (98.35-98.48)	73.39 ± 0.06 (73.26-73.51)	58.65 ± 0.05 (58.54-58.77)	20.71 ± 0.05 (20.62-20.79)

\*El promedio y el error estándar están reportados en porcentaje (%)

\*(95% I.C)

## 8. DISCUSION

Se sabe que *B. tabaci* es un insecto polífago la cual se ha documentado mundialmente, y que en últimos años también se ha encontrado en otros cultivos y malas hierbas no relacionadas con ella anteriormente como *Cleome spinosa* (planta araña), *Senna obtusifolia* (frijolillo), *Richardia grandiflora* (gran trébol mexicano), *Borreria verticillata* (botón blanco) (Oliveira et al. 2000), mientras que en los Estados Unidos de América se encontró en plantas medicinales como, *Hypericum perforatum* (Hierba de San Juan), *Valeriana officinalis* (valeriana), *Tanacetum parthenium* (Hierba de Santa Maria), *Echinaceae pallida* (equinácea pálida) y *Echinaceae purpura* (equinácea) (Simmons et al. 2000), lo cual aumenta su peligrosidad como plaga debido a esta expansión y adaptación a otros hospederos que podrá adoptar como reservorios eficaces para su diseminación posterior al encontrar las condiciones adecuadas. En este trabajo los resultados mostraron que dos cepas nativas obtuvieron porcentajes de mortalidades superiores al 70 % a una concentración de conidios de  $10^8$ , lo cual coincide parcialmente con lo reportado por Prithiva et al (2017) donde se utilizaron diferentes formulaciones de *B. bassiana* con  $10^8$  conidios/ml sobre ninfas y adultos en plantas de tomate obteniendo reducciones de la población de hasta 45 %. En otro estudio Mascarin et al. (2013) en Brasil probaron aislados de *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, y *L. muscarium* sobre ninfas de *B. tabaci* con concentraciones de hasta  $10^7$  conidios/mL, reportándose que los aislamientos de *B.*

*bassiana* e *I. fumosorosea* fueron significativamente más virulentas que la de *L. muscarium*, con una mortalidad superior al 77%. Aunque este nivel de mortalidad alcanzado sobre los estadios inmaduros de *B. tabaci* es importante, también se sabe que como todos los hongos *B. bassiana* está sujeto a diferentes factores del tipo bióticos y abióticos que pueden afectar su capacidad para la sobrevivencia, propagación, así como para causar enfermedad y finalmente matar a su hospedero (Lacey y Kaya, 2007). Como en este trabajo se buscó determinar la factibilidad de encapsular conidios de *B. bassiana* mediante la técnica de coacervación tomando en cuenta el parámetro de viabilidad, se analizaron la temperatura y la radiación solar, como dos de los factores abióticos más importantes, pues como se sabe desde hace varias décadas distintas clases de formulaciones buscan minimizar los efectos negativos del ambiente sobre los ingredientes activos, que en este caso son conidios de *B. bassiana*, pues además hay que tomar en cuenta que un formulado debe ser capaz de preservar la viabilidad y virulencia en condiciones de almacenamiento (Pell et al. 2001).

La temperatura es uno de los parámetros que tienen injerencia en la germinación, crecimiento y proceso infectivo de *B. bassiana*, así como su persistencia en el ambiente. Se ha reportado que la temperatura adecuada para lograr que los hongos entomopatógenos sean viables y competentes en condiciones de campo o medioambientales está en los 20 y 30°C, mientras que la temperatura idónea para el desarrollo *in vitro* ronda alrededor de los 20 y 50°C (Wraight et al. 2007). Otro de los factores relevantes para el empleo de los hongos entomopatógenos como controladores de plagas es la radiación ultravioleta que es la región entre los 100-400 nm, algunos autores han reportado a la luz UV como el factor abiótico más nocivo que impacta la persistencia de los hongos entomopatógenos en el ambiente (Devotto y Gerding 2003), lo que hace imperativo la búsqueda de soluciones para contrarrestar su efecto negativo sobre los entomopatógenos, buscan nuevas técnicas de formulación o compuestos que ayuden a lograr este objetivo.

En este estudio se analizó el efecto de la temperatura y la radiación ultravioleta (UV-B) *in vitro* sobre diferentes cepas de *B. bassiana* que pasaron por un proceso de formulación por coacervación donde se encontró que entre las diferentes cepas empleadas no existió diferencia en su viabilidad lo cual muestra que sería igual utilizar una u otra cepa si solo

tomamos en cuenta estos parámetros, sin embargo, si hay una significativa diferencia en la viabilidad de acuerdo a la temperatura utilizada donde se encontró que hasta los 30 °C esta se mantiene en un 91 % en conidios sin encapsular, lo cual se considera adecuado ya que se ha reportado que la infección ocurre entre 15 a 30°C (Wraight et al. 2007), y coincide con lo reportado por Corallo (2016) quien reporta una viabilidad de 93 % para un aislado de *B. bassiana* a una temperatura de 30 °C, así mismo se observó que al aumentar la temperatura la viabilidad disminuye de manera proporcional, y en una temperatura de 45 ° C esta llegó a un valor de hasta 22 %, lo cual disminuye considerablemente las probabilidades de que en condiciones adecuadas el hongo sea capaz de germinar. Además, se debe considerar que la temperatura requerida puede variar de acuerdo con la especie de hongo en cuestión, su aislamiento y hasta el nicho ecológico del hongo, lo cual está de acuerdo con lo reportado con Godoy et al (2007) en un estudio realizado con diferentes aislamientos de *B. bassiana* encontrando tasas de germinación de 28 hasta 37 % a 30 ° C.

En el caso de los conidios microencapsulados de la cepa HIB-15 a los 30 °C la viabilidad se mantuvo hasta 97 % y en una temperatura de 45 °C se mantuvo en 87 %, lo cual muestra que la formulación logró proteger a los conidios del aumento de temperatura lo cual es una condición deseable si se piensa en su estabilidad en ensayos en campo.

La radiación ultravioleta para los conidios no encapsulados y sin exposición a esta luz mantuvieron una viabilidad promedio de 93 %, pero al exponerlas durante 20 minutos la viabilidad cayó hasta un 62 % y al alcanzar una hora de exposición la viabilidad disminuyó hasta un 9 %, lo cual muestra el efecto devastador que se le ha atribuido a este factor sobre la prevalencia de los hongos entomopatógenos en campo, además de que estos hallazgos muestran que la luz UV-B tiene un efecto devastador sobre la viabilidad de los conidios, lo que está en relación directa con el tiempo en que están expuestos y está de acuerdo con lo reportado por Santos-Diaz et al (2017) en un estudio sobre *Nomuraea rileyi*, donde menciona que la baja en la germinación puede deberse a que a esta cantidad de luz UV existen daños a nivel celular debido a la afectación de la estructura del ADN y proteínas llegando a causar atraso en el crecimiento, mutación o muerte de la célula (Braga *et al.*,

2001). En otro trabajo Valdés- Gutiérrez et al (2011) muestran que al someter una cepa de *B. bassiana* durante 20 minutos a luz UV-A, UV-B y luz visible la germinación llegó a 35 %.

Maranhão y Maranhão (2009), mencionan que las longitudes de onda más devastadoras para los hongos patógenos de insectos están en la región ultravioleta entre los 285 y 315nm, lo cual coincide con lo reportado en este trabajo, ya que se utilizó una longitud de onda de 302 nm. También es importante recalcar que la radiación UV puede utilizarse también para estimular a los hongos entomopatógenos o tener efectos dañinos sobre su desarrollo, y esto puede estar en función de su especie, etapa de desarrollo, así como el tiempo y cantidad de radiación a la que son expuestos.

En el caso de los conidios microencapsulados la viabilidad se mantuvo en 73 % a los 20 minutos de exposición, pero a la hora descendió hasta un 20 % lo cual muestra que en el caso de la radiación la formulación fue poco competente para lograr proteger a los conidios lo cual puede deberse a sus componentes, pues tal como lo menciona García-Riaño et al (2021) el efecto de la radiación UV sobre la germinación de las esporas microencapsuladas y sin encapsular es negativo y es mayor cuando aumenta el tiempo en que se exponen a la radiación, sin embargo en ese trabajo la formulación sí confirió protección a los conidios debido a sus ingredientes como un material oleoso consistente en aceites vegetales y minerales. Los resultados del presente trabajo muestran que es necesario buscar alternativas para optimizar los métodos de formulación como la técnica de coacervación para uso agrícola para lograr mantener la estabilidad y viabilidad de los conidios para su aplicación masiva en un entorno natural.

## 9. CONCLUSIONES

- Se logró establecer la cría de *B. tabaci* a nivel de laboratorio con ciclos generacionales de  $30.0 \pm 5.0$  días
- Se estandarizó un método para obtener micropartículas por el método de coacervación para encapsular conidios de *B. bassiana*
- En el bioensayo de selección de cepas se determinó que la cepa HIB-15 fue el más efectivo en inducir la mortalidad sobre huevos de *B. tabaci* mediante el método de inmersión, mientras que la cepa HIB-5 causó la mortalidad más.
- Respecto a las ninfas de *B. tabaci*, se determinó que las cepas HIB-14, HIB-15 y GHA son más efectivas para inducir la mortalidad sobre estos estadios de *B. tabaci* mediante el método de inmersión, mientras que la cepa HIB-5 causó la mortalidad más baja al igual que en el ensayo con huevos.
- Se seleccionó la cepa HIB-15 para continuar con el proceso de microencapsulación ya que fue la que mostró un mayor porcentaje de mortalidad dentro del ensayo de selección.
- Respecto a los conidios de la cepa HIB-15 que continuo el proceso de microencapsulación por coacervación se determinó que a los  $40^{\circ} \text{C}$  la viabilidad de los conidios microencapsulados se mantiene en alrededor de 96 %, mientras que en los no encapsulados desciende a 88 %, y esta diferencia es más evidente cuando la temperatura aumenta haciendo evidente la protección que brinda la formulación a los conidios.

- En los conidios de la cepa HIB-15 microencapsulados por coacervación que se sometieron a la radiación UV se determinó que a los 20 minutos de exposición a la radiación UV la viabilidad de los conidios microencapsulados a los 40 y 60 minutos de exposición a la radiación se obtienen niveles de viabilidad de 58 y 20 %, observándose que a diferencia de la temperatura la formulación parece ser no del todo competente en brindar protección de la radiación UV a los conidios microencapsulados.

## 10.PERSPECTIVAS

- Realizar modificaciones a la formulación para mejorar la resistencia a la radiación UV.
- Realizar bioensayos a nivel de invernadero con la cepa más promisoría para el control de *B. tabaci*.

## 11.BIBLIOGRAFIA

- Abdelghany TM. 2015. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Biological Control. OMICS Group eBooks: Foster City, CA, EE. UU, pp. 1-42.
- Abdel-Raheem MA, Lanya AAK. 2016. Virulence of three entomopathogenic fungi against whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in tomato crop. Journal of Entomology 14:155-159.
- Abubakar M, Koul B, Chandrashekar K, Raut A, Yadav D. 2022. Whitefly (*Bemisia tabaci*) Management (WFM) Strategies for Sustainable Agriculture: A Review. Agriculture 12:1317.
- Adly D. 2016. Use of predators for controlling the whitefly, *Bemisia tabaci* Genn. and the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, in cucumber greenhouses in Egypt. Egyptian Journal of Biological Pest Control 26:701-706.
- Afifi FML, Haydar MF, Omar HIH. 1990. Effect of different intercropping systems on tomato infestation with major insect pests; *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) and *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). The Bulletin, Faculty of Agriculture-Cairo University 41: 885-900.
- Afzal M, Saeed S, Riaz H, Ishtiaq M, Rahman MH. 2023. A critical review of whitefly (*Bemisia tabaci* gennadius) cryptic species associated with the cotton leaf curl disease. Journal of Innovative Sciences 9: 24-43.
- Aguilar S, Rodríguez JC, Santillán C, Lagunes A, Díaz O, Martínez JL. 2007. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B colectadas en Baja California y Sinaloa, México. Interciencia 32: 266-269.
- Ahmed MZ, Hernandez YV, Kumar V, Francis A, Skelley P, Rohrig E, McKenzie C, Osborne L, Mannion C. Pallidus beetle, *Delphastus pallidus* LeConte (Insecta: Coleoptera: Coccinellidae), a native predatory beetle of whitefly species in Florida. 2017. FDACS-P-01782, Issue No. 435; Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry: Tallahassee, FL, USA, p. 10.

- Ahsan MI, Hossain MS, Parvin S, Karim Z. 2005. Effect of varieties and planting dates on the incidence of aphid and white fly attack on tomato. *International Journal of Sustainable Agricultural Technology* 1: 26-30.
- Al-Deghari MA. 2008. Bioassay Evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* Vuillemin against eggs and nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11:1551-1560.
- Bleeker PM, Mirabella R, Diergaarde PJ, Van Doorn A, Tissier A, Kant MR, Prins M, De Vos M, Haring MA, Schuurink RC. 2012. Improved herbivore resistance in cultivated tomato with the sesquiterpene biosynthetic pathway from a wild relative. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 20124-20129.
- Braga GL, Flint SD, Messias CL, Anderson AJ, Roberts DW. 2001. Effect of UV-B on conidia and germlings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research* 105:874-882.
- Brignone SG, Ravetti S, Palma SD. 2020. Microencapsulación/ recubrimiento de sistemas particulados de uso farmacéutico. *Pharmaceutical Technology* 165:34-43.
- Bustillo A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: *Uso de entomopatógenos en Colombia*, Sociedad Colombiana de Entomología (eds). Instituto de Ciencias Naturales: Bogotá, pp. 30-53.
- Butt T, Goettel M. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. In: *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*, Navo A and Ashcer KRS (eds). CABI International, New York, pp. 141-196.
- Cagliari D, Dias NP, Galdeano, DM, dos Santos EÁ, Smagghe G, Zotti MJ. 2019. Management of pest insects and plant diseases by non-transformative RNAi. *Frontiers in Plant Science* 10:1319.
- Calvo FJ, Torres-Ruiz A, Velázquez-González JC, Rodríguez-Leyva E, Lomelí-Flores JR. 2016. Evaluation of *Dicyphus hesperus* for biological control of sweet potato whitefly and potato psyllid on greenhouse tomato. *Biocontrol* 61:237-246.
- Carabalí A, Montoya-Lerma J, Bellotti AC. 2008. Desarrollo y reproducción de *Bemisia tabaci* "B" (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre genotipos de yuca (*Manihot esculenta*). *Revista Colombiana de Entomología* 34: 28-32.

- Cathrin PB, Ghanim G .2014. Recent advances on interactions between the *whitefly Bemisia tabaci* and begomoviruses, with emphasis on tomato yellow leaf curl virus. In: Plant Virus-Host Interaction Molecular Approaches and Viral Evolution, Gaur RK, Hohn T, Sharma P, (eds). Academic Press; Amsterdam, pp. 79-103.
- Corallo, B. 2016. Selección y caracterización de hongos entomopatógenos para controlar a *Thaumastocoris peregrinus* en *Eucalyptus* spp. Tesis de grado. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Cortez H. 2006. Efecto de coadyuvantes en *Lecanicillium lecanii* (Zimm,) Zare & Gams y su virulencia hacia *Toxoptera aurantii* Boyer. Revista Mexicana de Fitopatología. 24: 59-64.
- Cuthbertson AGS, Vänninen I .2015. The importance of maintaining protected zone status against *Bemisia tabaci*. Insects 6: 432-441.
- Czosnek H, Hariton-Shalev A, Sobol I, Gorovits R, Ghanim M. 2017. The incredible journey of Begomoviruses in their whitefly vector. Viruses 9: 273.
- Chen K, Chen M, Lin C. 2006. Optimal combination of the encapsulating materials for probiotic microcapsules and its experimental verification. Journal of Food Engineering 76: 313-320.
- Christofoli M, Costa EC, Bicalho KU, de Cássia Domingues V, Peixoto MF, Alves CC, Araújo WL, de Melo Casal C. 2015. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. Industrial Crops and Products 70:301-308.
- Dalakouras A, Wassenegger M, Dadami E, Ganopoulos I, Pappas M, Papadopoulou KK. 2020. GMO-free RNAi: Exogenous application of RNA molecules in plants. Plant Physiology 182: 38-50.
- Deletre E, Chandre F, Barkman B, Menut C, Martin T. 2016. Naturally occurring bioactive compounds from four repellent essential oils against *Bemisia tabaci* whiteflies. Pest Management Science 72:179-189.
- Delgado PA, Murcia B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science 6:77-90.

- Devotto ML, Gerding PM. 2003. Respuesta de dos aislamientos chilenos de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin a la adición de un protector solar. Agricultura Técnica 63: 339-346.
- Douglas Inglis G, Enkerli J, Goettel MS. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales, In: Manual of Techniques in Insect Pathology, Lacey LA (ed). Academic Press: San Diego, California, pp. 189–253.
- Dubrovina AS, Aleynova OA, Kalachev AV, Suprun AR, Ogneva ZV, Kiselev KV. 2019. Induction of transgene suppression in plants via external application of synthetic dsRNA. International Journal of Molecular Sciences 20:1585.
- Dutta B, Myers B, Coolong T, Srinivasan B, Sparks A, Riley D. 2018. Whitefly-transmitted plant viruses in South Georgia. UGA Cooperative Extension Bulletin 1507: 1-7.
- Eakteiman G, Moses-Koch R, Moshitzky P, Mestre-Rincon N, Vassão DG, Luck K. 2018. Targeting detoxification genes by phloem-mediated RNAi: A new approach for controlling phloem-feeding insect pests. Insect Biochemistry and Molecular Biology 100:10-21.
- El-Serwi SA, Ali AA, Razoki IA. 1987. Effect of intercropping of some host plants with tomato on population density of tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.), and the incidence of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in plastic houses. Journal of Agriculture and Water Resources Research 6:79-81.
- Ellsworth PC, Martínez-Carrillo JL. 2001. IPM for *Bemisia tabaci*: A case study from North America. Crop Protection 20: 853-869.
- EPPO 2023. *Bemisia tabaci*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. [Online]. Disponible en: <https://gd.eppo.int>
- EPPO 2023. *Bemisia tabaci*. Distribution details in Mexico. [Online]. Disponible en: <https://gd.eppo.int/taxon/BEMITA/distribution/MX>
- Escamilla-Barragán F, Bautista- García AY, Nava-Galicia SB, Bibbins-Martínez M. 2022. Los hongos entomopatógenos, aliados de la agricultura sustentable en el control de plagas. Frontera Biotecnológica pp:30-35.

- Fiallo-Olivé E, Pan LL, Liu SS, Navas-Castillo J. 2020. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. *Phytopathology* 110:10-17.
- Flores M, Pucheta D, Rodríguez N, Torre M, Ramos L. 2012. Mycoinsecticide effects of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Isaria fumosorosea* on the whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in different strata of bean. *African Journal of Microbiology Research* 6:7246-7252.
- Gangwar RK, Charu G. 2018. Lifecycle, distribution, nature of damage and economic importance of whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Acta Scientific Agriculture* 2: 36-39.
- García- Riaño JL, Gómez-Valderrama JA, Araque-Echeverry GA, Vásquez DF, Villamizar-Rivero LF. 2021. Actividad insecticida y persistencia de un formulado a base de *Beauveria bassiana* para el control de *Diatraea saccharalis*. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science* 37: 257-269.
- Ghosh S, Ghanim M .2021. Factors determining transmission of persistent viruses by *Bemisia tabaci* and emergence of new virus-vector relationships. *Viruses* 13:1808.
- Godoy JC, Valera RE, Guédez C, Cañaizalez LM, Castillo C. 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía* 24: 415-425.
- Gul A, Hussain G, Iqbal A, Rao AQ, Yasmeen A, Shahid N, Ahad A, Latif A, Azam S, Samiullah TR, Samina H, Shahid AA, Husnain T. 2020. Constitutive expression of asparaginase in *Gossypium hirsutum* triggers insecticidal activity against *Bemisia tabaci*. *Scientific Reports* 10:1-11.
- Hagler JR, Naranjo SE. 2005. Use of a gut content ELISA to detect whitefly predator feeding activity after field exposure to different insecticide treatments. *Biocontrol Science and Technology* 15:321.
- Hagler JR, Blackmer F. 2013. Identifying inter- and intra-guild feeding activity of an arthropod predator assemblage. *Ecological Entomology* 38:258-271.

- He Y, Zhao J, Zheng Y, Weng Q, Biondi A, Desneux N, Wu K. 2013. Assessment of potential sublethal effects of various insecticides on key biological traits of the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. *International Journal of Biological Sciences* 9: 246-255.
- Holguín RJ, Hernández LG, Latisnere H. 2010. Identificación y distribución geográfica de *Bemisia tabaci* (Gennadius) y su relación con enfermedades begomovirales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de Baja California, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 58-60.
- Homo Agrícola. Desmontando al swirskii. Capítulo 3. Alimentándose de nuestros enemigos) [Online]. Disponible en: <http://elhocinodra.blogspot.com/search?q=bemisia+tabaci>
- Ibrahim AB, Monteiro TR, Cabral GB, Aragão FJ. 2017. RNAi-mediated resistance to whitefly (*Bemisia tabaci*) in genetically engineered lettuce (*Lactuca sativa*). *Transgenic Research* 26:613-624.
- Imam II. 2017. Role of certain *Beauveria bassiana* isolate as biological control agent against whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) and its effect on the predator *Chrysopela carnea* (Stephens). *Egyptian Journal of Desert Research* 67:351-359.
- Iqbal M, Arif MJ, Saeed S, Javed N. 2021. Biorational approach for management of whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), on cotton crop. *International Journal of Tropical Insect Science* 42:1461-1469.
- Isman MB, Grieneisen ML. 2014. Botanical insecticide research: Many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science* 19:140-145.
- Javaid S, Amin I, Jander G, Mukhtar Z, Saeed NA, Mansoor SA. 2016. Transgenic approach to control hemipteran insects by expressing insecticidal genes under phloem-specific promoters. *Scientific Reports* 6:34706.
- Jackson AM, Dunlap CA, Jaronski ST. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl*. 55: 129-145.
- Keerio AU, Nazir T, Abdulle YA, Jatoi GH, Gadhi MA, Anwar T, Sokea T, Qiu D. 2020. *In vitro* pathogenicity of the fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii* at

- different temperatures against the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control 300:1-9.
- Khan S, Guo L, Maimaiti Y, Mijit M, Qiu D. 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. Molecular Plant Breeding 3:63-79.
- Koike M, Higashio T, Komori A, Akiyama K, Kishimoto N, Masuda E, Sasaki M, Yoshida S, Tani M, Kuramochi K, Sugimoto M, Nagao H. 2004. *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) as epiphyte and its application to biological control of arthropod pests and diseases. IOBC/WPRS Bulletin 27:41-44.
- Kunjwal N, Srivastava RM. 2018. Insect pests of vegetables. In: Pests and Their Management, Omkar (eds). Springer Nature Singapore Pte Ltd.: Uttarakhand, India, pp. 163-221.
- Lacey LA, Kaya HK. 2007. Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 868 pp.
- Legaspi, J.C.; Simmons, A.M.; Legaspi, B.C. 2006. Prey preference by *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae) on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae): Effects of plant species and prey stages. Florida Entomologist 89: 218-222.
- Luan JB, Ghanim M, Liu SS, Czosnek H. 2013. Silencing the ecdysone synthesis and signaling pathway genes disrupts nymphal development in the whitefly. Insect Biochemistry and Molecular Biology 43:740-746.
- Malik HJ, Raza A, Amin I, Scheffler JA, Scheffler BE, Brown JK, Mansoor S. 2016. RNAi-mediated mortality of the whitefly through transgenic expression of double-stranded RNA homologous to acetylcholinesterase and ecdysone receptor in tobacco plants. Scientific Reports 6:1-1.
- Maranha EA, Maranhã E. 2006. Host plant influences pathogenicity of *Beauveria bassiana* to *Bemisia tabaci* and its sporulation on cadavers. Biocontrol 51:519-532.
- Maranhão EA, Maranhão EH. 2009. Hongos entomopatogénicos: importante ferramenta para el control de la mosca blanca (Homoptera: Aleyrodidae). Anais da Academia Pernambucana de Ciencia Agronómica. Recife 5: 209-242.

- Martín L, Vargas A, Barbosa H, Martínez F. 2002. Estudio de las variables más relevantes de un proceso de microencapsulación por coacervación utilizando un polímero derivado del ácido metacrílico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas* 31: 19-28
- Mascarin GM, Kobori NN, Quintela ED, Delalibera I. 2013. The virulence of entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) and their conidial production using solid substrate fermentation. *Biological Control* 66:209-218.
- McKenzie CL, Osborne LS .2017. *Bemisia tabaci* MED (Q biotype) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Florida is on the move to residential landscapes and may impact open-field agriculture. *Florida Entomologist* 100:481-484.
- McKenzie CL, Bethke JA, Byrne FJ, Chamberlin JR, Dennehy TJ, Dickey AM, Gilrein D, Hall PM, Ludwig S, Oetting RD, Osborne LS, Schmale L, Shatters Jr RG .2012. Distribution of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in North America following the Q invasion. *Journal of Economic Entomology* 105:753-766
- Montserrat M, Albajes R, Castañé C. 2000. Functional response of four heteropteran predators preying on greenhouse whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) and western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology* 29:1075-1082.
- Musa AA. 1982. Incidence, economic importance, and control of tomato yellow leaf curl in Jordan. *Plant Disease* 66: 561-563.
- Nair IJ, Sharma S, Shera PS. 2021. Impact of sticky traps of different colours and shapes against sucking pests of tomato under protected conditions: A randomized controlled trial. *International Journal of Tropical Insect Science* 41:2739-2746.
- Nada MS, Gaffar SA, Taman A. 2021. Comparative effect of three entomopathogenic fungi against whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) infesting eggplant under field conditions at kafr el-Sheik gov. *Journal of Plant Protection and Pathology* 12:239-244.
- Naranjo SE, Cañas LA, Ellsworth PC. 2004. Mortalidad de *Bemisia tabaci* en un sistema de cultivos múltiples. *Revista Horticultura Internacional* 43:14-21.

- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49: 219-248.
- Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L. 2016. Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in Public Health* 14: 148.
- Ning W, Shi X, Liu B, Pan H, Wei W, Zeng Y, Sun X, Xie W, Wang S, Wu Q, Cheng J, Peng Z, Zhang Y. 2015. Transmission of tomato yellow leaf curl virus by *Bemisia tabaci* as affected by whitefly sex and biotype open. *Scientific Reports* 5: 10744.
- Nzanza B, Mashela PW. 2012. Control of whiteflies and aphids in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by fermented plant extracts of neem leaf and wild garlic. *African Journal of Biotechnology* 11:16077-16082.
- Oliveira MR, Henneberry TJ, Anderson P. 2000. History, current status and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20: 709-723.
- Ortega -Arenas LD, Carapia- Ruiz VE. 2020. Moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) en México: estatus, especies, distribución e importancia. *Dugesiana* 27:37-54
- Ortiz M, Medina R, Valdivia R, Ortiz A, Alvarado S, Rodríguez J. 2010. Moscas blancas, plaga primaria de hortalizas en Nayarit. *Revista Fuente*. 5: 31-40.
- Ou D, Ren LM, Liu Y, Ali S, Wang XM, Ahmed MZ, Qiu BL. 2019. Compatibility and efficacy of the parasitoid *Eretmocerus hayati* and the entomopathogenic fungus *Cordyceps javanica* for biological control of whitefly *Bemisia tabaci*. *Insects* 10:425.
- Pacheco-Hernández M, Reséndiz-Martínez J, Arriola-Padilla VJ. 2019. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 10:4-32.
- Pedrini N, Crespo R, Juárez MP. 2007. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 146:124-137.
- Pell JK, Eilenberg J, Hajek AE, Steinkraus DC. 2001. Biology, ecology and pest management potential of Entomophthorales. In: *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*, Butt TM, Jackson C, Magan N (eds). CABI International: Wallingford, pp: 71-153

- Peres MC, de Souza Costa GC, dos Reis LE, da Silva LD, Peixoto MF, Alves CC, Forim MR, Quintela ED, Araújo WL, de Melo Cazal C. 2020. In natural and nanoencapsulated essential oils from *Xylopiia aromatica* reduce oviposition of *Bemisia tabaci* in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Pest Science* 93:807-882.
- Perring TM, Stansly PA, Liu TX, Smith HA, Andreason SA. 2018. Whiteflies: Biology, ecology, and management. In *Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato*, ed.; Wakil W, Brust GE, Perring TM (eds). Academic Press: Cambridge, MA, pp. 73-110.
- Polston JE, Capobianco H. Transmitting plant viruses using whiteflies. 2013. *Journal of Visualized Experiments* 81:1-10.
- Prayogo Y, Bayu MSYI. 2019. Biological control of *Bemisia tabaci* gennadius by using entomopathogenic fungi *Aschersonia aleyrodis*. *Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Malang, Indonesia, pp. 1-8.
- Prithiva JN, Ganapathy N, Jeyarani S. 2017. Efficacy of different formulations of *Beauveria bassiana* (Bb 112) against *Bemisia tabaci* on tomato. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5:1239-1243.
- Qiu J, Song F, Mao L, Tu J, Guan X. 2013. Time-dose-mortality data and modeling for the entomopathogenic fungus. *Canadian Journal of Microbiology* 101: 97-101.
- Quijije R, Mendoza J, Gómez A. 1995. Ciclo biológico de *Bemisia argentifolii* en condiciones de laboratorio. *CEIBA (Honduras)* 36: 84.
- Rahim E, Ahmad SS, Dzolkhifli O, Nur AA. 2013. First record of *Isaria fumosorosea* Wize (Deuteromycotina: Hyphomycetes) infecting *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Malaysia. *Journal of Entomology* 10:182-190.
- Razza JM, Liburd OE, Nuessly GS, Samuel-Foo M. 2016. Evaluation of bioinsecticides for management of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and the effect on the whitefly predator *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae) in organic squash. *Journal of Economic Entomology* 109:1766-1771.
- Reyad NF. 2017. Impact of entomopathogenic fungi on whitefly, *Bemisia tabaci* in tomato crop in Egypt. *International Journal ChemTech* 10:372-377.

- Sani I, Ismail SI, Abdullah S, Jalinas J, Jamian S, Saad N. 2020. A review of the biology and control of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), with special reference to biological control using entomopathogenic fungi. *Insects* 11:619.
- Santos-Díaz AM, de Brito Brandão PF, Villamizar-Rivero LF. 2017. Efecto del estrés térmico y la radiación ultravioleta durante la producción masiva de *Nomuraea rileyi*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 19: 81-91.
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. 2020. Ficha técnica Mosquita blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). Dirección General de Sanidad Vegetal Dirección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria [Online]. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600965/Mosquita\\_blanca.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600965/Mosquita_blanca.pdf)
- Schoeller EN, Redak RA. 2020. Climate and seasonal effects on phenology and biological control of giant whitefly *Aleurodicus dugesii* (Hemiptera: Aleyrodidae) with parasitoids in southern California, USA. *Biocontrol* 65:559-570.
- Schuster DJ. 2004. Squash as a trap crop to protect tomato from whitefly-vectored tomato yellow leaf curl. *International Journal of Pest Management* 50:281-284.
- Shahid AALI, Rao AQ, Bakhsh A, Husnain T. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: New insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences Belgrade* 64:21-42.
- Shukla AK, Upadhyay SK, Mishra M, Saurabh S, Singh R, Singh H, Srivastava S. 2016. Expression of an insecticidal fern protein in cotton protects against whitefly. *Nature Biotechnology* 34:10461051.
- Silva-Barros L, Oliveira- Guimarães H, Carvalhais de Oliveira T, Carvalhais J, Czepak C, Mouzinho Carvalho M, Pereira- Oliveira I, Araújo- Castro W. 2017. Efficiency of chemical control of *Bemisia tabaci* biotype "B" (Hemiptera: Aleyrodidae) in cucumber crop. *Global Science and Technology* 10:177-187.
- Simmons AM, Maccutcheon GS, Dufault RJ, Hassell RL, Rushing JW. 2000. *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) attacking species of medicinal herbal plants. *Annals of Entomological Society of America*. 93: 856-861.
- Singh S, Yadav GS, Das A, Das B, Devi HL, Raghuraman M, Kumar A. 2021. Bioefficacy, environmental safety and synergistic impacts of biorational formulations against

- whitefly, leafhopper and blister beetle in organic okra ecosystem. *Journal of Agricultural Science* 159: 373-384.
- Smith PE. 2009. Crop and Food Research. In *Whitefly: Identification and Biology in New Zealand Greenhouse Tomato Crops*, Smith PE (eds). Asure Quality Ltd: Auckland, New Zealand, pp. 1-8.
- Taggar GK, Singh R. 2020. Evaluation of some nonconventional insecticides against whitefly *Bemisia tabaci* in black gram. *Indian Journal of Entomology* 82:294-297.
- Tan X, Hu N, Zhang F, Ramirez-Romero R, Desneux N, Wang S, Ge F. 2016. Mixed release of two parasitoids and a polyphagous ladybird as a potential strategy to control the tobacco whitefly *Bemisia tabaci*. *Scientific Reports* 6:28245.
- Téllez-Jurado A, Cruz RMG, Mercado FY, Asaff TA, Arana CA. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*. 3: 73-80.
- Tian J, Diao H, Liang L, Arthurs S, Ma R. 2015. Pathogenicity of *Isaria fumosorosea* to *Bemisia tabaci*, with some observations on the fungal infection process and host immune response. *Journal of Invertebrate Pathology* 130:147-153.
- Thakur N, Upadhyay SK, Verma PC, Chandrashekar K, Tuli R, Singh PK. 2014. Enhanced whitefly resistance in transgenic tobacco plants expressing double stranded RNA of v-ATPase A gene. *PLoS ONE* 9: e87235.
- Thesnim P, Jangra S, Kumar M and Ghosh A .2023. Effect of silencing *Bemisia tabaci* TLR3 and TOB1 on fitness and begomovirus transmission. *Frontiers in Plant Science* 14:1136262.
- Toriello C, Montoya-Sansón E, Zavala-Ramírez M, Navarro-Barranco H, Basilio-Hernández D, Hernández-Velázquez V, Mier T. 2008. Virulencia y termotolerancia de cultivos monospóricos de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* de la mosca pinta (Hemiptera: Cercopidae). *Revista Mexicana de Micología* 28: 57-66.
- Valdés-Gutiérrez SP, Escobar-López LM, Córdoba-Castro LA, Góngora-Botero CE. 2011. Efecto de la luz ultravioleta sobre *Beauveria bassiana* y su virulencia a la broca. *Cenicafé*. 62:58-68.

- Valero-Jiménez CA, Wieggers H, Zwaan BJ, Koenraadt CJM, van Kanc JAL. 2016. Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 133: 41-49.
- Vandervoet TF, Ellsworth PC, Carrière Y, Naranjo SE. 2018. Quantifying conservation biological control for management of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in cotton. *Journal of Economic Entomology* 111:1056-1068.
- Vázquez LL, Murguido C, Ibis Elizondo A, Elosegui O, Morales F J. 2007. Control Biológico de la mosca blanca. *Centro Internacional de Agricultura Tropical: Colombia*, pp.7-14.
- Verma AK, Mitra P, Saha AK, Ghatak SS, Bajpai AK. 2011. Effect of trap crops on the population of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) and the diseases transmitted by it. *Bulletin of Indian Academy of Sericulture* 15: 99-106.
- Villamizar LF, Martínez F. 2008. Determinación de las condiciones de microencapsulación de un baculovirus entomopatógeno mediante coacervación con Eudragit s100. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 15:123-13.
- Wang X, Xu J, Wang X, Qiu B, Cuthbertson AGS, Du C. 2019. *Isaria fumosorosea*-based zero-valent iron nanoparticles affect the growth and survival of sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Pest Management Science* 75:2174-2181.
- Wraight S, Carruthers R, Jaronski S, Bradley C, Garza C. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17:203-217.
- Wraight SP, Jackson MA, Kock SL. 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. Pp: 253-287. In: *Fungi as biological Control Agent: Progress, Problems and Potencial*, Butt TM, Jackson C and Magan N (eds). CABI International: New York, pp. 384.
- Wraight SP, Inglis GD, Goettel MS. 2007. Fungi. In: *Field manual of techniques in invertebrate pathology: Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate Pest*. Lacey LA, Kaya HK (eds). Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp: 223-248.

- Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 553-596.
- Zafar J, Freed S, Khan BA, Farooq M. 2016. Effectiveness of *Beauveria bassiana* against cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Aleyrodidae: Homoptera) on different host plants. *Pakistan Journal of Zoology* 48:91-99.
- Zhang C, Shao ZF, Han YY, Wang XM, Wang ZQ, Musa PD, Qiu BL, Ali S. 2018. Effects of *Aschersonia aleyrodis* on the life table and demographic parameters of *Bemisia tabaci*. *Journal of Integrative Agriculture* 17:389-396.