

Modificación del método de las placas adhesivas amarillas para bioensayos de insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius) (*Homoptera: Aleyrodidae*)

P. BIELZA, E. CONESA, A. LACASA Y J. CONTRERAS

Se ha desarrollado un método para realizar bioensayos de resistencia a insecticidas en adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius), tanto en laboratorio y como en campo. El método es una variación de un sistema ya establecido, simplificando el equipo necesario para su elaboración.

Se han realizado bioensayos con este método en una población de laboratorio y en poblaciones de campo, resultando en una relación significativa entre la concentración del insecticida (endosulfán y metomilo) y la mortalidad.

La sencillez del método, el bajo coste del material necesario y su eficiente aplicabilidad en campo, lo hacen idóneo para programas de seguimiento de la resistencia a insecticidas de las poblaciones de *B. tabaci*, siendo aplicable a otras especies.

P. BIELZA, E. CONESA Y J. CONTRERAS: Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 52. 30203 Cartagena (Murcia).

A. LACASA: Departamento de Protección Vegetal. Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario. 30150 La Alberca (Murcia).

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, *Aleyrodidae*, bioensayo, resistencia, insecticida, plaguicida.

INTRODUCCIÓN

La elevada polifagia de *Bemisia tabaci* (Gennadius) hace que se comporte como plaga en numerosos cultivos hortícolas, florales, ornamentales e industriales. Además de sus daños directos por alimentación y por la secreción de melaza, esta especie es capaz de actuar como vector de numerosos virus vegetales.

La mosca blanca se ha convertido en la principal plaga de los cultivos de tomate de la Región de Murcia desde la introducción en España en 1992 (MORIONES *et al.*, 1993) del virus de la cuchara del tomate (Tomato Yellow Leaf Curl Virus), el cual es transmitido en forma persistente por *B. ta-*

baci. El monocultivo que representa el tomate en algunas áreas y el solapamiento de los ciclos productivos han propiciado una elevada incidencia del virus. Las catastróficas pérdidas producidas en estas áreas han desembocado en una fuerte presión insecticida sobre las poblaciones de mosca blanca, ya que el nivel de población tolerado es nulo. Los invernaderos llegan a ser tratados en las primeras fases del cultivo contra *B. tabaci* cada dos días.

Esta elevada frecuencia de tratamientos supone una presión de selección de individuos resistentes muy elevada, por lo que es posible que se desarrollen o se hayan desarrollado resistencias a los productos comúnmente utilizados.

El objetivo de este trabajo fue poner a punto una técnica de bioensayo para el seguimiento de la resistencia de la mosca blanca. Esta metodología debía ser adaptable a un programa de seguimiento de la resistencia, por lo que tenía que ser relativamente sencillo, que fuera capaz de establecer una relación entre la dosis y la mortalidad y que permitiera realizarse con numerosas poblaciones directamente del campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se partió de un método previamente desarrollado para *Liriomyza trifolii* (HAYNES *et al.*, 1986; SANDERSON *et al.*, 1989) y adaptado a *B. tabaci* (PRABHAKER y TOSCANO, 1988; PRABHAKER *et al.*, 1992; PRABHAKER *et al.*, 1996). Sin embargo esta adaptación exige un equipo que no está disponible muchas veces (torre de Potter) y tiene ciertas complicaciones de manejo.

El método puesto a punto en este trabajo, consiste en la realización de diluciones de insecticidas utilizando como diluyente un pegamento entomológico y tolueno. Las distintas diluciones se aplican sobre platos amarillos. En el campo se deja que los adultos de *B. tabaci* se adhieran, y se transporta al laboratorio en condiciones refrigeradas, donde se dejan 24 horas a temperatura del laboratorio y a prácticamente 100% de humedad relativa. Transcurrido este tiempo se realizan las lecturas bajo lupa binocular, considerando muertos los individuos que no se mueven.

Para realizar las diluciones del insecticida se preparó una solución madre consistente en 40% de pegamento entomológico (TER-

MOOCID) y 60% de tolueno. Esta dilución en tolueno se realizó para que fuera menos denso el pegamento y más fácilmente manejable. Previamente se realizaron distintas diluciones para probar que no se perdía su eficacia en la adherencia de los adultos de mosca blanca.

Con esta solución madre como diluyente, se prepararon las diluciones del insecticida desde una concentración 8 veces superior a la dosis máxima recomendada en campo hasta 64 veces inferior a la misma.

Los insecticidas utilizados fueron endosulfán y metomilo, que son comúnmente utilizados en el control de adultos de *B. tabaci*. Las concentraciones utilizadas se reflejan en el cuadro 1.

Las distintas diluciones se aplicaron sobre platos amarillos desechables, de cartón con la superficie parafinada. La utilización de este soporte confiere facilidad al manejo frente a las típicas placas adhesivas, ya que permite apilar enfrentados los platos sin que se toque la superficie engomada y manipularlos sin problemas. Además en el campo el manejo es rápido y, una vez adheridos los adultos de *B. tabaci*, permite volver a emparejarlos de igual modo, protegiéndolos de posibles daños, y facilitando en buena medida su transporte y almacenamiento. Además al no poder reutilizarse, es interesante que sea un material barato y de fácil adquisición.

La aplicación de las diluciones del insecticida sobre los platos se realizó vertiendo unas gotas sobre la superficie central del plato y homogeneizando por esta superficie con un palillo de algodón de los comúnmente utilizados. El instrumental con el que se extiende cada dilución debe ser desechado en cada operación, por lo que se utilizó

Cuadro 1.-Concentraciones utilizadas en los bioensayos

Insecticida	Concentración (µl/ml)		
	núm.	mín.	máx.
Endosulfán	5	0,2625	4,2
Metomilo	5	0,03125	0,5

estos palillos desechables. La homogeneización se realizó lo mejor posible, aunque nunca es perfecta. En otras metodologías desarrolladas se pulverizan los platos de manera precisa con el insecticida sobre el plato ya engomado (PRABHAKER y TOSCANO, 1988; PRABHAKER *et al.*, 1992; PRABHAKER *et al.*, 1996). La exposición de los adultos de *B. tabaci* al insecticida se realiza por contacto con la superficie engomada. El modo en que los individuos quedan adheridos es tan heterogéneo, que la superficie de cuerpo expuesta varía de manera importante entre individuos. Esta diferencia de exposición probablemente es mayor que las pequeñas variaciones en la homogeneización con el sistema propuesto, por lo que consideramos que nuestra propuesta es válida desde el punto de vista del bioensayo y simplifica en manejo y equipo la metodología. La metodología original desarrollada para *Liriomyza trifolii* (HAYNES *et al.*, 1986; SANDERSON *et al.*, 1989), utiliza este mismo sistema de engomado de la superficie, con resultados satisfactorios.

Una vez realizada la aplicación de las diluciones del insecticida en la solución de pegamento y tolueno, los platos se dejaron en el laboratorio ventilado para la evaporación del tolueno. Se realizaron 4 repeticiones (platos) de cada dilución de cada insecticida.

Para su transporte al campo se introdujeron en neveras portátiles. En el cultivo se iban exponiendo los platos a los adultos de mosca blanca, agitando ligeramente las plantas para forzar el vuelo de los adultos y que se desplazaran a los platos. Inmediatamente eran introducidos los platos emparejados y apilados en las neveras portátiles y transportadas al laboratorio. Una vez en él, se dispusieron en cámaras con agua libre en su parte inferior para conseguir una humedad relativa cercana al 100% y fueron mantenidas a la temperatura ambiente del laboratorio.

Transcurridas 24 horas se realizaron las lecturas, observando cada plato bajo lupa binocular. Se contabilizaron todas los individuos adheridos, considerando vivos a los se

movían, siendo necesario en ocasiones estimularlos con un pincel.

Se realizaron bioensayos con metomilo y endosulfán sobre una población sensible mantenida en laboratorio (MUB9901) sobre plantas de algodón y sobre tres poblaciones de campo: INVf, INV14 e INV15, todos de cultivo de pimiento. Dado que se pretendía poner a punto la metodología, se eligieron invernaderos de pimiento en los que las poblaciones de adultos de mosca blanca eran abundantes. El INVf se realizó en junio de 1999 y corresponde a un invernadero de pimiento, situado en Pilar de la Horadada (Alicante), en control biológico sin tratamientos específicos contra mosca blanca. El INV14 se realizó en septiembre de 1999 y corresponde a un invernadero de pimiento con numerosos tratamientos fitosanitarios. El INV15 se llevó a cabo en junio de 1999 y es otro invernadero de pimiento, con abundantes poblaciones de *B. tabaci* a pesar de haber sido tratado repetidas veces con endosulfán y metomilo. Estos dos invernaderos están situados en el término municipal de Torre Pacheco (Murcia).

Los datos se procesaron mediante un análisis Probit (FINNEY, 1972) utilizando el programa informático POLO-PC (RUSSELL *et al.*, 1977). Se corrigió la mortalidad natural según la fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925). Las concentraciones letales se consideraron iguales cuando se solapaban sus límites fiduciales al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mortalidad se ajustó al modelo Probit en todos los bioensayos analizados (cuadro 2). Sin embargo algunos bioensayos se descartaron al presentar el testigo una mortalidad muy alta, debido principalmente a una deficiente refrigeración en el transporte del campo al laboratorio, consecuencia de una tardanza excesiva.

Para el endosulfán las tres poblaciones de campo presentaron una CL50 (Concentración Letal 50) significativamente mayor que

Cuadro 2.—Susceptibilidad de las cuatro poblaciones de *Bemisia tabaci* a endosulfán y metomilo. Dentro de cada materia activa las filas seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente

Insect.	Poblac.	n	b ± ET	CL50		Lim. Fid 95%		CL90		Lim. Fid. 95%	
				(µl/ml)		inf.	sup.	(µl/ml)	inf.	sup.	
Endosulfán	MUB9901	397	2,42 ± 0,13	0,37 a	0,24	0,49	1,25 a	0,90	2,23		
	INVf	1908	2,62 ± 0,11	0,75 b	0,59	0,92	2,31 a	1,75	3,58		
	INV14	2077	2,36 ± 0,09	0,74 b	0,62	0,88	2,59 a	2,02	3,66		
	INV15	1887	1,06 ± 0,07	1,00 b	0,71	1,38	16,24 b	7,86	63,99		
Metomilo	MUB9901	177	2,09 ± 0,10	0,07 a	0,06	0,09	0,31 a	0,23	0,45		
	INVf	1195	2,01 ± 0,13	0,05 a	0,03	0,06	0,21 a	0,14	0,43		
	INV14	1876	2,01 ± 0,09	0,06 a	0,05	0,07	0,27 a	0,22	0,36		
	INV15	1845	0,96 ± 0,07	0,10 a	0,03	0,20	2,01 b	0,60	1.699,57		

la población de laboratorio (cuadro 2). El factor de resistencia para INVf e INV14 fue de 2,0 y para INV15 de 2,7. La CL90 únicamente fue significativamente mayor en la población del INV15, con un factor de resistencia de 13,0. Las pendientes fueron similares en las poblaciones INVf e INV14, siendo menor las de INV15. Si se considera que las dosis recomendadas están entre 0,525 y 1,05 µl/ml, se puede apreciar que las cuatro poblaciones no se muestran muy sensibles al endosulfán (fig. 1), sugiriendo que existe una base amplia de tolerancia, producto de la utilización de este insecticida de manera generalizada en diferentes cultivos y durante muchos años. La población INV15, con tratamientos repetidos de endosulfán+metomilo, muestra un factor de resistencia bajo (2,7) para la CL50, pero de 13,0 si tomamos la CL90.

Para el metomilo no existieron diferencias significativas entre las CL50 de las cuatro poblaciones (cuadro 2). La CL90 para la población INV15 fue significativamente mayor, con un factor de resistencia de 6,5. Al igual que para el endosulfán, la pendiente de esta población fue menor que las de las otras tres. Considerando que las dosis recomendadas en campo de metomilo varían entre 0,3 y 0,5 µl/ml, se puede observar que las poblaciones MUB9901, INVf e INV14 se muestran sensibles a estas concentraciones (fig. 2), pero la población INV15 muestra cierta tolerancia, con un factor de resistencia de 6,5 para la CL90. El metomilo, al

ser menos persistente que el endosulfán, ejerce una presión de selección menor, retardando la aparición de resistencias en las poblaciones.

La población INVf no estuvo sometida a ningún tratamiento insecticida antes del bioensayo. Aun así muestra una CL50 de endosulfán significativamente mayor que la población de laboratorio, aunque con un factor de resistencia muy bajo (2,0), probablemente consecuencia de una tolerancia general de las poblaciones de campo, más que a una resistencia inducida por los tratamientos previos.

La población INV14 procede de un invernadero de pimiento con numerosos tratamientos (incluidos metomilo y endosulfán) y en una fase final del cultivo (septiembre). A pesar de ello no presenta unos niveles elevados de resistencia, probablemente debido a que se utilizaron frecuentemente otros insecticidas de grupos químicos diferentes al metomilo y endosulfán, ejerciendo un control efectivo sobre los posibles individuos resistentes a estos dos productos. Además, en esa época las poblaciones de mosca blanca en los invernaderos de pimiento son altas, con lo que las inmigraciones de individuos procedentes de otros lugares podría retrasar o diluir el desarrollo de la resistencia.

La población INV15 procede de un invernadero con altas poblaciones de *B. tabaci*, a pesar de ser tratado repetidas veces con endosulfán y metomilo. El bioensayo realizado muestra una menor sensibilidad a ambos productos, espe-

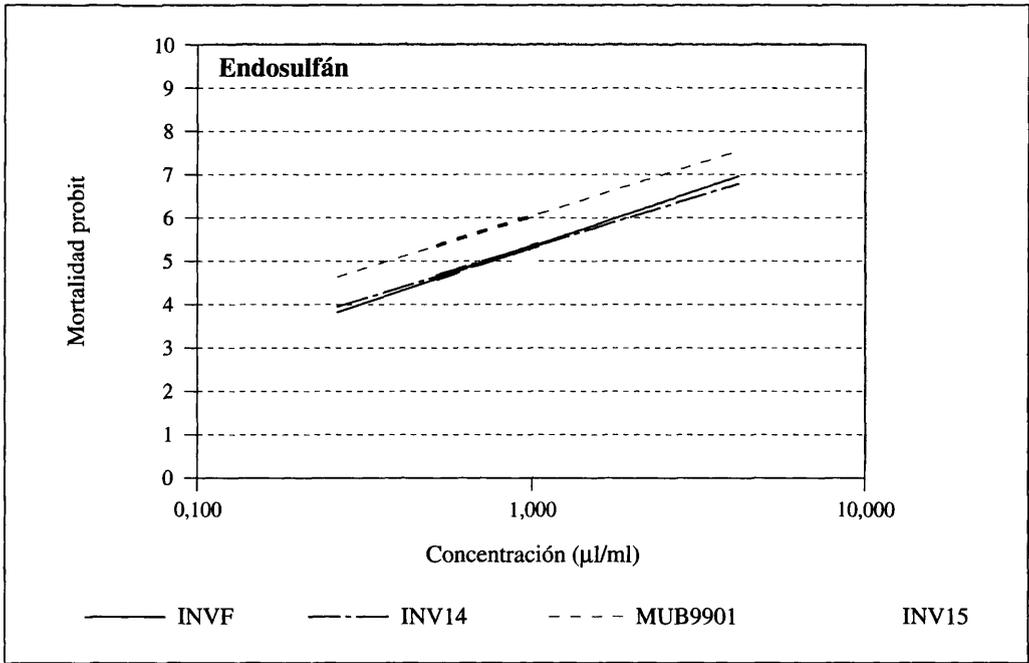


Fig. 1.—Relación entre la mortalidad Probit y la concentración de endosulfán de las cuatro poblaciones ensayadas. La fracción gruesa de cada línea corresponde al intervalo de concentraciones recomendadas en campo.

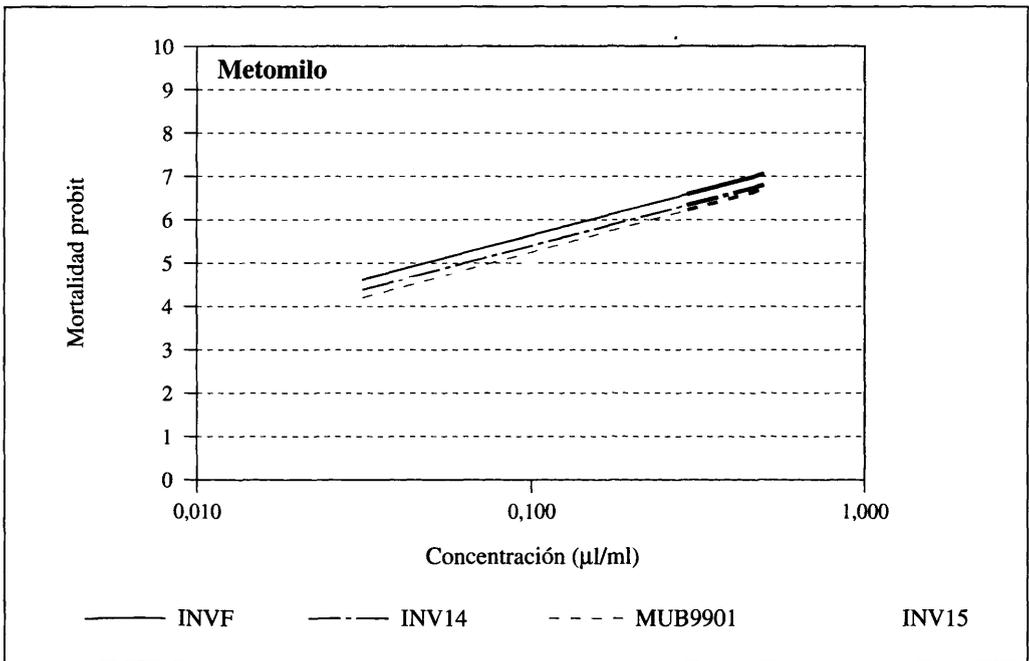


Fig. 2.—Relación entre la mortalidad Probit y la concentración de metomilo de las cuatro poblaciones ensayadas. La fracción gruesa de cada línea corresponde al intervalo de concentraciones recomendadas en campo.

cialmente al endosulfán. La menor pendiente de la relación mortalidad y concentración muestra una mayor heterogeneidad en la población, pudiendo achacarse a una fase inicial de desarrollo de resistencia, con individuos sensibles e individuos resistentes.

CONCLUSIONES

La metodología propuesta para bioensayos de adultos de *B. tabaci* permite obtener relaciones significativas entre la dosis y la

mortalidad, detectando diferencias en la sensibilidad a los insecticidas entre distintas poblaciones.

La sencillez del método, así como su bajo coste y su rápida ejecución, permite adoptarlo en los programas de seguimiento de las resistencias a plaguicidas, siendo especialmente adecuado para trabajar directamente con poblaciones de campo.

La metodología es adaptable a otras plagas o enemigos naturales, en los que se requiera la realización de bioensayos de plaguicidas con poblaciones de campo.

ABSTRACT

BIELZA, P.; CONESA, E.; LACASA, A. y CONTRERAS, J., 2000: Modification of the yellow sticky cards technique for insecticide bioassays in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **26** (Adenda al nº 4): 731-738.

A field and laboratory bioassay method to test insecticide resistance for adults of *Bemisia tabaci* has been developed. This method is a modification of a technique, by simplification of the material required.

This method has been tested with a sensitive laboratory strain and with several field populations, yielding in a significant relationship between the concentration of the insecticide (endosulfan and methomyl) and the mortality.

This easy, low-cost and accurate method is very useful for monitoring insecticide resistance in field populations of *B. tabaci*, even of others species.

Key words: *Bemisia tabaci*, Aleyrodidae, bioassay, resistance, insecticide, pesticide.

REFERENCIAS

- ABBOTT, W. S., 1925: A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- FINNEY, D. J., 1972: *Probit analysis*. Cambridge University Press, Cambridge.
- HAYNES, K. F.; PARRELLA, M. P.; TRUMBLE, J. T. y MILLER, T. A., 1986: Monitoring insecticide resistance with yellow sticky cards. *Calif. Agric.*, **40(11)**: 11-12.
- MORIONES, E.; ARNÓ, J.; ACCOTTO, G. P.; NORIS, E. y CAVALLARIN, L., 1993: First report of tomato yellow leaf curl virus in Spain. *Plant Disease*, **77**: 953.
- PRABHAKER, N. y TOSCANO, N. C., 1988: Field monitoring for insecticide resistance of *Bemisia tabaci*. In *Proceedings, XVIII International Congress of Entomology*, Vancouver, Canadá, 350 p.
- PRABHAKER, N.; TOSCANO, N. C.; HENNEBERRY, T. J.; CASTLE, S. J. y WEDDLE, D., 1996: Assessment of two bioassay techniques for resistance monitoring of silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in California. *J. Econ. Entomol.*, **89**: 805-815.
- PRABHAKER, N.; TOSCANO, N. C.; PERRING, T. M.; NUCESSLY, G.; KIDO, K. y YOUNGMAN, R. R., 1992: Resistance monitoring of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in the Imperial Valley of California. *J. Econ. Entomol.*, **85**: 1063-1068.
- RUSSELL, R. N.; ROBERTSON, J. L. y SAVIN, N. E., 1977: Polo: a new computer program for probit analysis. *Bulletin of the Entomological Society of America*, **23**: 209-215.
- SANDERSON, J. P.; PARRELLA, M. P. y TRUMBLE, J. T., 1989: Monitoring insecticide resistance in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) with yellow sticky cards. *J. Econ. Entomol.*, **82**: 1.011-1.018.

(Recepción: 28 enero 2000)

(Aceptación: 9 septiembre 2000)

