

EFFECTIVIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Y VEHÍCULOS DE APLICACIÓN PARA EL CONTROL DEL PULGÓN CAFÉ DE LOS CÍTRICOS *TOXOPTERA CITRICIDA* KIRKALDY (HOMOPTERA: APHIDIDAE)

ISMAEL HERNÁNDEZ-TORRES¹, J. ISABEL LÓPEZ-ARROYO^{1,4}, ANGÉLICA BERLANGA-PADILLA², JESÚS LOERA-GALLARDO³ & EFRAÍN ACOSTA-DÍAZ¹

¹ Campo Experimental General Terán, Apdo. Postal No. 3, km 31 Carr. Montemorelos – China, General Terán, Nuevo León. C. P. 67400. México.

² Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Apdo. Postal No. 133, Tecomán, Colima. México.

³ Campo Experimental Río Bravo, Apdo. Postal No. 172, Río Bravo, Tamaulipas. C. P. 88900. México.

⁴ Autor para correspondencia: lopez.jose@inifap.gob.mx

RESUMEN El pulgón café de los cítricos, *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae), considerado el vector más eficiente del virus de la tristeza de los cítricos, invadió el sureste de México durante el año 2000, a través de Yucatán y Quintana Roo; actualmente también se encuentra en Campeche, Oaxaca, Tabasco y Veracruz. Para generar alternativas de control de esta plaga, se desarrolló esta investigación con los objetivos de: i) Evaluar la mortalidad del pulgón café de los cítricos causada por el uso de cuatro cepas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Gams & Zare y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith, en condiciones de vivero y campo, y ii) Determinar la efectividad de diferentes vehículos de aplicación del hongo *P. fumosoroseus* en el control de *T. citricida* en condiciones de campo. El hongo *P. fumosoroseus* cepa AMBAS1 fue el más eficiente para el control de *T. citricida*, tanto en condiciones de vivero como de campo, con 61 y 100% de mortalidad, respectivamente; en condiciones de campo, esta cepa causó 96% de mortalidad de la plaga en solo tres días después de la aplicación. Este agente aplicado en una emulsión de aceite mineral o en polvo humectable, causó mortalidad en *T. citricida* de 95 y 94%, respectivamente. Los resultados muestran que *P. fumosoroseus* posee un alto potencial para el control de *T. citricida*.

DESCRIPTORES *Toxoptera citricida*, control biológico, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus*.

ABSTRACT The brown citrus aphid, *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae) is the most efficient vector of the citrus tristeza virus. This pest invaded Mexico through Yucatan and Quintana Roo during the year 2000; presently, it has spread throughout Campeche, Oaxaca, Tabasco and Veracruz. In order to generate alternatives for the control of the pest, the objectives of this study were: i) Evaluate mortality caused by four strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Gams & Zare and *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith under nursery and field conditions, and ii) Determine effectiveness of different carrying agents for the application of *P. fumosoroseus* against the pest under field conditions. The strain AMBAS1 of *P. fumosoroseus* produced high mortality under nursery (61%) and field conditions (100%); under field conditions it caused 94% mortality of the pest in just three day after the application of the fungus. When this species was applied as a wettable powder or mineral oil-based emulsion caused 94-95% mortality of the pest. The results demonstrate the potential of *P. fumosoroseus* for the control of *T. citricida*.

KEYWORDS *Toxoptera citricida*, biological control, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*.

INTRODUCCIÓN

El virus de la tristeza de los cítricos (VTC) es el agente causal de la tristeza de los cítricos, enfermedad que ha ocasionado la muerte de aproximadamente 98 millones de árboles en las regiones citrícolas del mundo (Marroquín et al. 2004). El VTC se disemina principalmente mediante material vegetativo infectado o a través de insectos vectores, entre los cuales se encuentra el pulgón café de los cítricos, *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae), considerado como el más eficiente (Yokomi et al. 1994). En otras regiones citrícolas importantes como Israel y California, E.U.A., en donde se carece de la presencia de *T. citricida*, el pulgón del algodón, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) es el principal vector del VTC (Marroquín et al. 2004). El pulgón café de los cítricos, originario de Asia, se ha diseminado a casi todas las áreas citrícolas del mundo, excepto en el Medio Oriente (Yokomi et al. 1994, Al-Rouechdi et al. 2005). La presencia de la plaga en el continente Americano se debió a una introducción accidental en Argentina y Brasil, posiblemente durante los años 1920 en material vegetativo proveniente de África (Rocha-Peña et al. 1995, Michaud 1998). En México, este insecto invadió Yucatán y Quintana Roo desde el año 2000 (Michaud y Alvarez 2000); posteriormente, se diseminó a Campeche, Oaxaca, Tabasco y Veracruz. Además de transmitir razas severas del VTC, *T. citricida* causa daño al alimentarse de la savia del árbol, provoca deformaciones en los brotes tiernos, enrollamiento de las hojas (Denmark 1978) y secreta una mielecilla que favorece el desarrollo de la fumagina (Hill y Hoy 2003). Para el control de *T. citricida* se han utilizado insecticidas (Yokomi et al. 1995, Tsai et al. 1996), los cuales además del costo económico alto que representan, su uso indiscriminado constituye un riesgo para la salud humana,

animal y para el medio ambiente, debido al poder residual de los ingredientes activos.

El control biológico mediante hongos entomopatógenos representa una alternativa dentro de las estrategias de manejo y control del pulgón café de los cítricos, ya que existen antecedentes de que éste es atacado por una diversidad de especies de hongos; entre los hyphomycetes más importantes están *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Gams & Zare y *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Bucher 1964, Feng et al. 1990, Yokomi 1994). Debido a la escasa información existente sobre el uso de cepas nativas de hongos entomopatógenos para el control del pulgón café de los cítricos, así como la utilización de vehículos para su aplicación en México, los objetivos de esta investigación fueron: i) Evaluar la mortalidad del pulgón café de los cítricos causada por cuatro cepas de los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *L. lecanii* y *P. fumosoroseus*, en condiciones de vivero y campo, y ii) Cuantificar la eficiencia de diferentes vehículos de aplicación del hongo *P. fumosoroseus* en campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la mortalidad del pulgón café de los cítricos causada por cepas de hongos entomopatógenos nativos, se realizaron tres experimentos: uno en condiciones de vivero en el Campo Experimental Chiná del INIFAP (19°46' N, 90°29' O, 20 msnm), en Chiná, Campeche, México, y dos experimentos en condiciones de campo en el Rancho San Pedro, Huimanguillo, Tabasco, México (17°42' N, 93°27' O, 40 msnm); en este último sitio se realizó también el experimento de evaluación de vehículos de aplicación. Las cepas evaluadas en los experimentos fueron AMBAS 1 y PfAPH de *P. fumosoroseus*, BbAPH2 de *B. bassiana* y V262 de *L. lecanii* (Cuadro 1), las cuales se obtuvieron en distintos sitios del estado de Colima, México

Cuadro 1. Especies y origen de los hongos entomopatógenos utilizados en los experimentos contra pulgón café de los cítricos.

Especie	Clave CNRCB ¹	Huésped	Cultivo hospedero	Origen
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	AMBAS1	<i>Bemisia</i> sp.	Sandía	Armería, Colima
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	PfAPH	<i>Toxopera aurantii</i>	Naranja	Colima, Colima
<i>Beauveria bassiana</i>	BbAPH2	—	Naranja	Colima, Colima
<i>Lecanicillium lecanii</i>	V262	<i>T. aurantii</i>	Cítricos	Cofradía de Suchitlán, Colima

¹ Centro Nacional de Referencia en Control Biológico.

y fueron seleccionadas por su virulencia sobre *T. citricida* (Berlanga-Padilla y Núñez-Camargo 2006). En el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico se realizó la producción de conidias de estas cepas en granos de arroz, los cuales fueron lavados tres veces con agua y mantenidos en reposo durante 30 min en agua caliente a 75° C, a la que se le adicionó 130 ppm de antibiótico (tetraciclina y furazolidona); posteriormente, se eliminó el exceso de agua, y se colocaron 350 g de arroz en bolsas de polipapel de alta densidad, para su esterilización. Cada bolsa se inoculó con 10 ml de una suspensión de 10⁶ conidias ml⁻¹, con una jeringa de uso veterinario. Las bolsas inoculadas permanecieron durante 16 días a 28 ± 1° C y 14:10 h L:O para alcanzar el óptimo de esporulación (Berlanga y Carrillo 2006 datos sin publicar¹). Las conidias obtenidas se mantuvieron a 4° C, y su viabilidad se evaluó dos días antes de su aplicación sobre un medio de agar Sabouraud dextrosa incubado durante 16 h a 27° C. El porcentaje de germinación se determinó en 400 conidias (datos no presentados) mediante conteos realizados en microscopio (40x). En todos los experimentos, cada cepa de hongo se preparó en una suspensión de 1 x 10⁷ conidias ml⁻¹, aplicada inmediatamente después de su preparación

mediante aspersión en las hojas del brote con una aspersora manual de 1.18 L de capacidad, a una distancia constante de 25 cm.

Evaluación de cepas

Para evaluar la mortalidad del pulgón café, los tratamientos se formaron con las cepas AMBAS 1 y PfAPH de *P. fumosoroseus*, cepa BbAPH2 de *B. bassiana* y cepa V262 de *L. lecanii* (Cuadro 1). Se incluyeron dos testigos, uno con aspersión de agua y otro sin aspersión alguna.

Experimento en vivero. Se realizó en plantas de naranja de la variedad Valencia de un año de edad. Las plantas se protegieron de la lluvia con un cobertizo de polietileno instalado sobre una estructura de madera; contra las plagas se utilizó una malla antiáfidos. Estas plantas se sometieron a una limpieza física con agua clorada al 0.3 % para eliminar huevos o larvas de otros insectos; posteriormente, las plantas se podaron para estimular la emisión de brotes vegetativos. Los pulgones se inocularon con el hongo por inmersión en cajas Petri con el fondo de tela organdí; después de eliminar el exceso de la suspensión, los pulgones se depositaron manualmente con pinceles de pelo de camello sobre los brotes tiernos de las plantas. El número de pulgones varió de 14 a 40 por brote (Berlanga-Padilla y Núñez-Camargo 2006).

¹ Berlanga-Padilla, A. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Apdo. Postal No. 133, Tecomán, Colima, México.

Experimentos en campo. Se efectuaron dos experimentos: uno de tres (3D) y otro de siete días (7D) de duración. Se seleccionaron árboles cuyos brotes tiernos se encontraban infestados por *T. citricida*; en todas las colonias se eliminaron las hormigas y/o sus enemigos naturales, como larvas de *Ceraeochrysa* spp., y *Chrysoperla* spp. (Neuroptera: Chrysopidae) y especies de sírfidos (Diptera: Syrphidae). Cada uno de los tratamientos se aplicó en árboles independientes, e inmediatamente después, cada brote se cubrió con bolsa de tela organdí para evitar la presencia de hormigas y el ataque de enemigos naturales. Para confirmar que la muerte de los pulgones se debió al ataque del hongo, solamente se colectaron los cadáveres de pulgones del experimento 7D, y fueron enviados al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, donde se lavaron externamente durante 3 min con una solución de cloro al 0.3 %, enjuagados dos veces con agua destilada estéril y colocados en cajas petri con agar – agua al 2% adicionado con 0.5% de gentamicina; posteriormente, se incubaron a 27° C durante 72 h (Poprawski et al. 1999) y se observó la esporulación en los cadáveres bajo microscopio (10 x).

Evaluación de vehículos de aplicación

Se utilizó la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus*, la cual causó la mayor mortalidad de *T. citricida* en bioensayos de efectividad de hongos entomopatógenos realizados en condiciones controladas (López-Arroyo et al. 2004). Se evaluaron cuatro tratamientos: i) AMBAS1+ agua; ii) AMBAS1 + agua + polvo humectable (material inerte miscible); iii) AMBAS1 + agua + aceite mineral (citrolina 30%); a esta emulsión se le agregó 1.0 ml de Ader® (Nonil Fenol Polioxietilénico) como coadyuvante líquido miscible por litro de suspensión, y iv) Agua (testigo). Los tratamientos se establecieron en un diseño experimental completamente al azar con seis repeticiones. La parcela experimental

estuvo constituida por cada planta de naranjo. Excepto en el ensayo 3D, el porcentaje de mortalidad se registró después de siete días. Los datos de mortalidad fueron transformados a arco-seno previo al análisis de varianza (Reyes 1978). En los cuadros de resultados se presentan datos sin transformar; los promedios fueron comparados con la prueba de Tukey con 5% de significancia (Minitab 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de cepas

Experimento en vivero. La mortalidad causada por las cepas de los hongos entomopatógenos evaluados sobre *T. citricida*, varió en un rango de 43 a 61%, siendo la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus*, la que causó el mayor porcentaje de mortalidad (Cuadro 2). La diferencia en mortalidad entre los tratamientos no fue significativa ($F = 1.96$; g.l.= 3, 12; $P = 0.173$). Durante el desarrollo del experimento prevaleció una temperatura promedio de 26° C y una humedad relativa promedio de 64%. La mortalidad registrada en condiciones de vivero, para *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* (49 y 61%, respectivamente) fue inferior a la indicada por Poprawski et al. (1999) en condiciones de laboratorio con diferentes cepas de las mismas especies (68-86 y 64-89%, respectivamente).

Experimentos en campo. En el experimento 7D, las cuatro cepas causaron mortalidad sobre *T. citricida* entre 96 y 100%, después de siete días de la aspersion de los hongos entomopatógenos (Cuadro 3). La cepa AMBAS 1 de *P. fumosoroseus* causó mortalidad total en todas las repeticiones, mientras que la mortalidad en el testigo fue del 57%. Durante el desarrollo de este experimento las condiciones que prevalecieron fueron: temperatura promedio de 29° C y humedad relativa promedio de 96%.

Cuadro 2. Mortalidad del pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* causada por hongos entomopatógenos en condiciones de vivero en Chiná, Campeche, México.

Especie	Cepa	Porcentaje promedio de mortalidad ± Desviación Estándar	
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	AMBAS1	61.0	± 18.7
<i>Beauveria bassiana</i>	BbAPH2	49.2	± 8.7
<i>Lecanicillium lecanii</i>	V262	43.5	± 16.5
Testigo	Agua	39.4	± 4.4

Cuadro 3. Mortalidad del pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* causada por hongos entomopatógenos en condiciones de campo, en Huimanguillo, Tabasco, México.

Especie	Cepa	Porcentaje promedio de mortalidad ± Desviación Estándar	
		Experimento 3D	Experimento 7D
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	AMBAS1	96.1 ± 6.3 a	100.0 ± 0.0 a
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	PfAPH	11.7 ± 15.0 b	99.9 ± 0.1 a
<i>Beauveria bassiana</i>	BbAPH2	3.7 ± 2.5 b	96.5 ± 7.1 a
<i>Lecanicillium lecanii</i>	V262	—	98.4 ± 3.2 a
Testigo 1, aspersión de agua	Agua	9.0 ± 6.5 b	57.8 ± 36.9 b
Testigo 2, sin aspersión alguna	—	10.4 ± 5.8 b	—

Promedios seguidos por letras iguales dentro de una misma columna, son estadísticamente similares (Tukey, $\alpha=0.05$).

Las diferencias en mortalidad entre los tratamientos y el testigo fueron altamente significativas ($F = 6.02$; g.l. = 4, 22; $P = 0.002$). En contraste, en el experimento 3D, a diferencia del experimento 7D, solamente la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus* causó mortalidad altamente significativa (96%) ($F = 73.43$; g.l.= 4, 15; $P = 0.000$), mientras que en el resto de los tratamientos la mortalidad fue de 4 a 12%. En este experimento la temperatura promedio fue de 25° C y la humedad relativa fue del 95%. En el experimento 3D realizado en condiciones de campo, la mortalidad causada por la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus* fue mayor a la obtenida por Poprawski et al. (1999) bajo condiciones de laboratorio (96 vs 64-89 %) e incluso la mortalidad en el testigo fue menor

(9-10 vs 17-44%). Es importante señalar que el 96% de mortalidad de *T. citricida* causado por la cepa AMBAS1 en el presente experimento, se registró tan solo tres días después de la aspersión de dicho agente de control biológico. Estos resultados sugieren que la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus* posee un alto potencial para el control de *T. citricida*.

Los resultados del presente estudio indican que la mortalidad de *T. citricida* fue influenciada por las condiciones ambientales prevalecientes. En los experimentos de campo 3D y 7D, la elevada humedad relativa favoreció la germinación de las conidias y el proceso de infección, es decir, que fue el factor determinante de la mayor mortalidad causada por las cepas de hongos evaluadas (Cuadros 2 y 3). Por otro lado, durante el período en que

Cuadro 4. Esporulación de hongos entomopatógenos sobre el pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida*.

Especie	Cepa	Porcentaje promedio de esporulación ± Desviación Estándar
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	AMBAS1	54.8 ± 10.5 a
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	PfAPH	64.8 ± 3.7 a
<i>Beauveria bassiana</i>	BbAPH2	29.3 ± 8.3 b
<i>Lecanicillium lecanii</i>	V262	35.4 ± 16.1 b
Testigo	Agua	0.0 ± 0.0 c

Promedios seguidos por letras iguales dentro de una misma columna, son estadísticamente similares (Tukey, $\alpha=0.05$).

Cuadro 5. Mortalidad de *Toxoptera citricida* con diferentes vehículos de aplicación de la cepa AMBAS1 de *Paecilomyces fumosoroseus*, en condiciones campo.

Tratamiento	Porcentaje promedio de mortalidad ± Desviación Estándar
AMBAS1 + agua + aceite mineral	95.3 ± 5.4 a
AMBAS1 + agua + polvo humectable	94.5 ± 3.3 a
AMBAS1 + agua	80.7 ± 2.7 b
Agua (testigo)	64.6 ± 2.2 c

Promedios seguidos por letras iguales dentro de una misma columna, son estadísticamente similares (Tukey, $\alpha=0.05$).

se desarrolló el experimento 7D de campo, la temperatura media diaria se mantuvo fuera del rango favorable para el desarrollo y supervivencia del *T. citricida* (Komazaki 1982, Tsai et al. 1996, Wang y Tsai 2001, Xia et al. 2004).

En los experimentos de campo se observó que el embolsado de los brotes para prevenir el ataque de enemigos naturales de *T. citricida*, impidió el desplazamiento de los pulgones en búsqueda de brotes tiernos, lo cual pudo influir indirectamente para incrementar su mortalidad. Las condiciones anteriores ocasionaron un estado de debilitamiento y estrés en los áfidos que incrementó la susceptibilidad al ataque de las cepas de hongos evaluadas (Donegan y Lighthart 1989); además, la humedad relativa alta favoreció el

desarrollo de estos entomopatógenos y en consecuencia, una mayor virulencia contra *T. citricida*. Se asume que los factores ambientales prevalecientes durante el experimento contribuyeron a la alta mortalidad observada; sin embargo, la diferencia entre las cepas de hongos con respecto al testigo, se atribuye al efecto *per se* sobre *T. citricida*. El hongo *P. fumosoroseus* cepa AMBAS1 fue el más eficiente para el control de *T. citricida*, tanto en vivero como en campo.

Las cepas PfAPH y AMBAS1 de *P. fumosoroseus* resultaron con el mayor porcentaje de cadáveres que presentaron esporulación (64.8 y 54.8%, respectivamente) (Cuadro 4). Distintas cepas de este mismo hongo entomopatógeno han mostrado una esporulación entre el 49 y el 69% (Poprawski

et al. 1999; Berlanga-Padilla 2003). Respecto a la cepa V262 de *L. lecanii*, que resultó con 35.4% de esporulación, ciertos aislamientos han indicado niveles del 16 al 41% (Berlanga-Padilla, 2003). Poprawski et al. (1999) señalan que distintas cepas de *B. bassiana* causaron esporulación entre 51 a 78%, lo cual contrasta con el 29.3% registrado en el presente estudio para la cepa BbAPH2. Los cadáveres de pulgones que presentaron esporulación, mostraron estructuras propias de la especie del hongo aplicado, mientras que otros solo mostraron signos característicos de la presencia de toxinas del hongo, prueba de que los pulgones murieron por efecto del hongo aplicado. Los cadáveres del tratamiento testigo no presentaron esporulación. En algunos ejemplares, el desarrollo del micelio y la esporulación se inhibieron posiblemente por múltiples heridas producidas al penetrar el hongo, lo que facilitó la invasión de bacterias y posterior septicemia (Vey y Fargues 1977). Las cepas que presentan mayor capacidad de emerger y esporular, tienen mayores posibilidades de dispersarse a otras colonias y, de esta manera, infectar y matar a otros pulgones y acentuar una enzootia (Poprawski et al. 1999).

Evaluación de vehículos de aplicación

Todos los tratamientos con diferentes vehículos de aplicación del hongo *P. fumosoroseus* causaron porcentajes superiores de mortalidad respecto al tratamiento testigo (Cuadro 5). Las diferencias en la mortalidad fueron altamente significativas ($F = 3.26$; g.l.= 3, 17; $P = 0.047$). Los aceites pueden presentar un efecto de sinergismo cuando se combinan con hongos entomopatógenos, ya que incrementan la eficacia contra el insecto plaga en comparación con aplicaciones en agua (Prior et al. 1988, Womack et al. 1996). Esto se confirmó en el presente estudio, ya que cuando la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus* se aplicó con aceite mineral como vehículo, la mortalidad sobre *T. citricida* fue de 95%,

mientras que cuando se aplicó solo con agua, la mortalidad fue del 80% (Cuadro 5). El aceite mineral en emulsión y el polvo humectable fueron los mejores vehículos de aplicación de la cepa AMBAS1 para el control de *T. citricida*. Poprawski et al. (1999) al evaluar en campo la cepa GHA de *B. bassiana* (Mycontrol: lote no. ESO980204; Mycotech) preparada en una suspensión (5×10^3 conidias ml^{-1}) de aceite emulsificable, observó 89% de mortalidad sobre *T. citricida* a los cinco días de la aplicación, mientras que cuando lo aplicaron con polvo humectable en laboratorio, la mortalidad a los 10 días fue de 70%.

Las formulaciones con aceites emulsificables protegen a las conidias de la radiación UV y contra la desecación en condiciones de baja humedad relativa (Alatorre 2006), durante y después de la aplicación en campo, lo cual es elemental para el éxito de los hongos entomopatógenos en el control de plagas (Daoust et al. 1983, Bateman et al. 1993, Kassa 2003). Además, el aceite asperjado fluye y se extiende sobre la cutícula del insecto para permitir que las conidias del hongo sean depositadas en sitios donde se favorece su germinación e infección, lo que posteriormente se refleja en una mayor mortalidad del insecto (Geden et al. 1995, Inglis et al. 1995, Ibrahim et al. 1999, Kassa 2003), a diferencia de la aspersión en agua donde el hongo permanece en las gotas (Ibrahim et al. 1999). En el presente estudio, aunque se careció de observaciones sobre la supervivencia o el depósito de las conidias sobre la cutícula del insecto, se observó que el aceite mineral influyó en el incremento de mortalidad.

Implicaciones en el control biológico del pulgón café de los cítricos

El uso potencial de hongos entomopatógenos para el control de *T. citricida* ha sido considerado previamente por Rondón et al. (1981), Poprawski et al. (1999) y Peña et al. (2000). *Paecilomyces fumosoroseus*

es un hongo asociado frecuentemente a infecciones de áfidos (Humber 1991), cuya evaluación en campo en el presente estudio demostró alto potencial para ser utilizado en el control del pulgón café de los cítricos. Además, la cepa AMBAS1 de *P. fumosoroseus*, es nativa de México (Berlanga-Padilla y Núñez-Camargo 2006) y en estudios previos realizados en laboratorio, careció de efectos negativos sobre especies de depredadores de la plaga (Berlanga-Padilla y López-Arroyo 2006). Lo anterior favorece aún más el posible uso extensivo de esta cepa como agente de control biológico de *T. citricida* en México, lo que aunado al potencial del uso de vehículos para incrementar la efectividad en campo, este hongo entomopatógeno constituye una medida efectiva para ser integrado en programas de manejo de la plaga.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a: Dr. Mario A. Miranda Salcedo, Dr. Víctor W. González Lauck, M.C. P. Alejandro López Andrade, M.C. Pablo Ruiz Beltrán, Ing. Sabel Barrón Freyre, Ing. Ivis Quintana Domínguez, Dr. Lorenzo Aceves Navarro, Dr. Rodolfo Mendoza Hernández, M.C. Roberto Canales Cruz y M.C. Pedro Francisco Velásquez Ehuán, por la información proporcionada y el apoyo en los experimentos de vivero y campo. El Dr. Fernando Bahena Juárez, Dr. Mario A. Urias López y Dr. Jaime Mena Covarrubias realizaron valiosas sugerencias y observaciones al documento. El estudio fue financiado por el Fondo Sectorial CONACYT-SAGARPA, mediante el proyecto 2002-C01-1249.

LITERATURA CITADA

- Al-Rouechdi, K., J. M. Bove, D. Dimou, A. M. D'Onghia, K. Djelouah, F. Ilharco, G. Nolasco, A. Percoco, C. Roistacher, S. Cerni & R. Yokomi. 2005.** A report on the new presence of the brown citrus aphid *Toxoptera citricida* in Portugal and Spain. *In: Citrus tristeza virus and Toxoptera citricida: Development of management and control strategies in the Mediterranean region.* A conference in Faro, Portugal, April 8-9, 2005. <<http://ecoport.org/ep?SearchType=slideshowList&ID=194>>
- Alatorre R., R. 2006.** Insecticidas microbianos en el manejo de insectos plaga, p. 1-9. *In: Memorias del Taller de Hongos entomopatógenos (Ascomycetes anamórficos (Deuteromycota), Entomophthorales): Control de calidad.* Sociedad Mexicana de Control Biológico. Manzanillo, Colima, México.
- Bateman, R. P., M. Carey, D. Moore, & C. Prior. 1993.** The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. *Ann. Appl. Biol.* 122: 145-152.
- Berlanga-Padilla, A. M. 2003.** Avances en el control microbiano del pulgón café de los cítricos en México, p. 215-225. *In: Memorias del Primer Simposio Internacional de Limas Ácidas.* Colima, México.
- Berlanga-Padilla, A. M. & J. I. López-Arroyo. 2006.** Efecto de hongos entomopatógenos en depredadores del pulgón café de los cítricos (Homoptera: Aphididae), p. 384-388. *In: Memorias del XXIX Congreso Nacional de Control Biológico.* Manzanillo, Colima, México.
- Berlanga-Padilla, A. M. & M. C. Núñez-Camargo. 2006.** Susceptibilidad de *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae) a hongos entomopatógenos, p. 349-352. *In: Memorias del XXIX Congreso Nacional de Control Biológico.* Manzanillo, Colima, México.
- Bucher, G. E. 1964.** The regulation and control of insects by fungi. *Ann. Soc. Entomol. Quebec.* 9: 30-42.
- Al-Rouechdi, K., J. M. Bove, D. Dimou, A. M. D'Onghia, K. Djelouah, F. Ilharco, G. Nolasco, A. Percoco, C. Roistacher, S.**

- Daoust, R. A., M. G. Ward, & D. W. Roberts. 1983.** Effect of formulation on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. *J. Invertebr. Pathol.* 41: 151-160.
- Denmark, H. A. 1978.** The brown citrus aphid *Toxoptera citricida* (Kirkaldy). Entomology Circular No. 194. Florida Department of Agriculture & Consumer Services. Division of Plant Industry. Gainesville, Fl.
- Donegan, K. & B. Lighthart. 1989.** Effect of several stress factors on the susceptibility of the predatory insect *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), to the fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.* 54: 79-84.
- Feng, M. G, J. B. Johanson, & L. P. Kish. 1990.** Survey of entomopathogenic fungi naturally infecting cereal aphids (Homoptera: Aphididae) of irrigated grain crops in southwestern Idaho. *Environ. Entomol.* 19: 1534-1542.
- Geden C. J., D. A. Rutz, & D. C. Steinkraus. 1995.** Virulence of different isolates and formulations of *Beauveria bassiana* for house flies and the parasitoid *Muscidifurax raptor*. *Biol. Control* 5: 615-621.
- Hill, S. L. & M. A. Hoy. 2003.** Interactions between the red imported fire ant *Solenopsis invicta* and the parasitoid *Lipolexis scutellaris* potentially affect classical biological control of the aphid *Toxoptera citricida*. *Biol. Control* 27: 11-19.
- Humber, R. A. 1991.** Fungal pathogen of aphids, p. 45-56. *In:* Peters, D. C., J.A. Webster and S.C. Chlouber (eds.), *Proceedings Aphid-Plant to Molecules*. USDA/Agricultural Research Service. Oklahoma State University.
- Ibrahim, L., T. M. Butt, A. Beckett, & S. J. Clark. 1999.** The germination of oil-formulated conidia of the insect pathogen *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research* 103: 901-907.
- Inglis, G. D., M. S. Goettel, & D. L. Johnson. 1995.** Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Biol. Control* 5: 581-590.
- Kassa, A. 2003.** Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers and stored product insect pests. Ph.D. dissertation. Georg-August-University. Göttingen. 171 p.
- Komasaki, S. 1982.** Effects of constant temperatures on population growth of three aphid species, *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy), *Aphis cítricola* van der Goot and *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on citrus. *Appl. Entomol. Zool.* 17: 75-81.
- López-Arroyo, J. I., A. Berlanga, R. Canales, M. A. Miranda & J. Loera-Gallardo. 2004.** Avances en la Investigación para el Control Biológico del Pulgón Café de los Cítricos en México. *In:* *Memorias del Simposio Internacional de Citricultura*. Mayo de 2004. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. CD-ROM.
- Marroquín, C., A. Olmos, M. T. Gorris, E. Bertolini, M. C. Martínez, E. A. Carbonell, A. Hermoso de Mendoza & M. Cambra. 2004.** Estimation of the number of aphids carrying citrus tristeza virus that visit adult citrus trees. *Virus Research* 100: 101-108.
- Michaud, J. P. 1998.** A review of the literature on *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). *Fla. Entomol.* 81: 37-61.
- Michaud, J. P. & R. Alvarez. 2000.** First collection of brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Quintana Roo, Mexico. *Fla. Entomol.* 83: 357-358.

- Minitab Inc. 1996.** MINITAB reference manual, release 11 for Windows, State College, PA.
- Peña E., L. Villazón, S. Jiménez, L. Vázquez & L. Licor. 2000.** Alternativas para el control biológico del pulgón pardo de los cítricos (*Toxoptera citricidus* Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). Fitosanidad 4: 75-78.
- Poprawski, T. J., P. E. Parker & J. H. Tsai. 1999.** Laboratory and field evaluation of hyphomycete insect pathogenic fungi for control of brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae). Environ. Entomol. 28: 315-321.
- Prior, C., P. Jollands, & G. le Patourel. 1988.** Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest (*Pantorhytes plutus*). J. Invertebr. Pathol. 52: 66-72.
- Reyes, C., P. 1978.** Diseños Experimentales Agrícolas, p. 302-309. Primera Edición. Ed. Trillas S. A. México, D. F.
- Rocha-Peña, M. A., R. F. Lee, R. Lastra, C. L. Niblett, F. M. Ochoa-Corona, S. M. Garnsey & R. K. Yokomi. 1995.** Citrus tristeza virus and its aphid vector, *Toxoptera citricida*. Threats to citrus production in the Caribbean and Central and North America. Plant Disease 79: 437-445.
- Rondón, A.G., E. Arnal & F. Godoy. 1981.** Comportamiento del *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas, patógeno del áfido *Toxoptera citricidus* (Kirk.) en fincas citrícolas de Venezuela. Agro. Trop. 30: 201-212.
- Tsai, J. H., R. F. Lee, Y. H. Liu & C. L. Niblett. 1996.** Biología y control del áfido negro de los cítricos (*Toxoptera citricida* Kirkaldy) y la tristeza de los cítricos. In: E.B. Radcliffe y W.D. Hutchison (eds.), Texto mundial de MIP Radcliffe's. <<http://ipmworld.umn.edu>>
- Vey, A. & J. Fargues. 1977.** Histological and ultrastructural studies of *Beauveria bassiana* infection in *Leptinotarsa decemlineata* larvae during ecdysis. J. Invertebr. Pathol. 30: 207-215.
- Wang, K. H. & J. H. Tsai. 2001.** Development, survival and reproduction of black citrus aphid, *Toxoptera aurantii* (Hemiptera: Aphididae) as a function of temperature. Bull. Entomol. Research 91: 477-489.
- Womack, J. G., G. M. Eccleston & M. N. Burge. 1996.** A vegetable oil-based invert emulsion for mycoherbicide delivery. Biol. Control 6: 23-28.
- Xia, J. Y., W. van der Werf & R. Rabbigne. 2004.** Influence of temperature on bionomics of cotton aphid, *Aphis gossypii*, on cotton. Entomol. Exp. Appl. 90: 25-35.
- Yokomi, R. K. 1994.** Potential for biological control of *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), p. 1-11. In: USDA, ARS. Horticultural Research Laboratory. Orlando, FL.
- Yokomi R. K., R. Lastra, M. B. Stoetzel, V. C. Damsteegt, R. F. Lee, S. M. Garnsey, T. R. Gottwald, M. A. Rocha-Peña & C. L. Niblett. 1994.** Establishment of the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and Caribbean Basin and transmission of citrus tristeza virus. J. Econom. Entomol. 87: 1078-1085.
- Yokomi, R. K., P. A. Stansly, E. A. Rodríguez & T. R. Gottwald. 1995.** Chemical mitigation of brown citrus aphid populations in Puerto Rico, p. 75-76. In: Proceedings of the Third International Workshop on Citrus Tristeza Virus and Brown Citrus Aphid in the Caribbean Basin: Management strategies. Lake Alfred, FL. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences.

Recibido: 19 de diciembre del 2006
 Aceptado: 24 de septiembre del 2007