

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Identidad y Actividad Patogénica del Hongo Entomopatógeno *Aschersonia hypocreoides* (Cooke y Masee) Petch Contra *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en *Phaseolus vulgaris* L.

Por:

GUADALUPE MAYTHE MORALES GALVEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Identidad y Actividad Patogénica del Hongo Entomopatógeno *Aschersonia hypocreoidea* (Cooke y Masee) Petch contra *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en *Phaseolus vulgaris* L.

Por:

GUADALUPE MAYTHE MORALES GALVEZ

TESIS

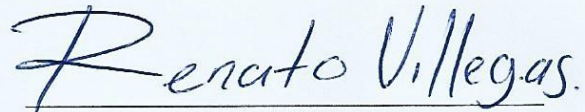
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

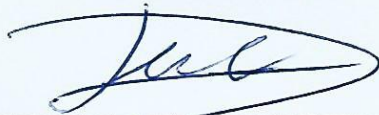
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Sergio René Sánchez Peña
Asesor Principal



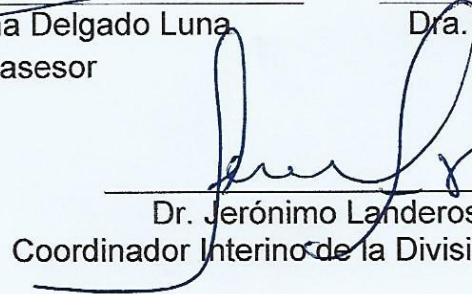
M.C. Renato Villegas Luján
Asesor Principal Externo



M.C. Carolina Delgado Luna
Coasesor



Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza
Coasesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador Interino de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Junio 2023

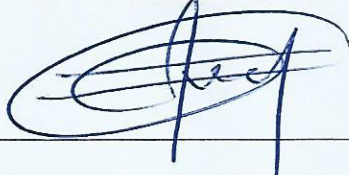
DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante:

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'G' followed by 'M', 'M', and 'G', all written in a cursive, flowing style.

Guadalupe Maythe Morales Gávez

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por permitirme la vida y el tiempo.

A mi Alma Mater la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por la oportunidad de poder pertenecer a esta gloriosa casa de estudios.

Al **Dr. Sergio R. Sánchez Peña**, Gracias por todo el tiempo, por su apoyo, interés y gran dedicación. Por enseñarme gran parte de lo que ahora sé y ser mi Guía en la ciencia, siempre estaré agradecida con usted.

Al **M. C. Renato Villegas Luján** y **M. C. Carolina Delgado Luna**, por todo el tiempo invertido en mí, por compartir su gran conocimiento y dedicación y ser mis modelos a seguir, por siempre gracias.

A la **Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza** por su valioso tiempo y aceptar ser parte de esta tesis, también por ser una gran maestra y admirable persona.

Muchas gracias al **Dr. Jerónimo Landeros Flores** por hablar conmigo cuando estuve a punto de abandonar la carrera y motivarme a seguir adelante, gracias por sus consejos y gracias por los sobres de té.

A todos mis profesores que tuve a lo largo de la carrera, pues fueron clave importante en mi conocimiento y desarrollo profesional, pero, en especial a la **Dra. Berta Civieta**, **Dra. Aida Leal**, **Dra. Yisa Ochoa**, **M. C. Felipa Morales**, **Dr. Luis Samaniego**, **M. C. Genaro Demuner**, **Dr. Ernesto Cerna**, **M. C. Abiel Sánchez**.

A la **Lic. Dora**, muchas gracias por todo el apoyo brindado desde mis inicios en la universidad y hasta la fecha.

A todos mis compañeros de la cámara 9, especialmente **Adriana Félix**, eres mi compañera y amiga, gracias por todo y, por tanto.

Gracias infinitas a todos mis compañeros de la generación CXXXIV.

A mis amigas: **Alejandra**, **Odalís**, **Tere**, **Vania**, **Litzy**, **Jhazeel**. Las quiero mucho, gracias por ser parte de mi vida.

A **Luis Coronado Mata** por su amistad, compañerismo y apoyo incondicional, por siempre escucharme y animarme. Gracias por estar presente cuando más te necesité, por todas las risas y pláticas, te quiero.

Aide Rosales por tu amistad a inicios de la carrera y apoyo que me brindaste.

Una hoja no es suficiente para agradecerles a ustedes mis amores míos: **Carmen Guijón** y **Belem Bravo**, las quiero mucho, gracias por su hermosa amistad, por ayudarme, apoyarme y seguir siendo parte de mi vida, por todas las risas, diversión.

A mis tíos **Gabriel Morales** y su esposa **Valeria López**, por todo el apoyo brindado.

A mis abuelos: **Francisca Matul** y **Martiniano Morales†**, **Urbano Gálvez†**. Gracias todo, Los quiero mucho.

Gracias a todas las personas que e conocido durante mi estancia en la universidad, ya que de una u otra forma he sentido su apoyo.

Gracias infinitas a ti que eres mi mejor Amiga: **Estrella González**, le doy las gracias a Dios por permitirme conocerte aquel día frio y nublado (mi primer día en la nueva primaria).

DEDICATORIAS

A mi hija: **Sofía Vázquez**. Te amo incondicionalmente, fuiste, eres y seguirás siendo mi motivo de todos mis esfuerzos y logros.

A mis padres: **María Luz Gálvez** y **Martin Morales**. Por la educación, apoyo, por todo el cariño, amor y confianza que me han dado, Los amo muchísimo.

A mis hermanos: **Josué**, **Francisco** y **Daniela**. Los amo tanto, también son mi motor de vida.

A mi **Abuelo Urbano†**: Gracias por heredarme el amor al campo y tus enseñanzas.

A mi novio: **Reni**, por llegar de una forma tan inesperada a mi vida, y ser una pieza importante en este trabajo, por darme tu inmenso amor y apoyarme siempre, eres tan inteligente, gracias infinitas por todo hayatım.

A mi hermana de otros padres: **Almendrita** gracias por todo lo que has hecho por mí. Te quiero mucho.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Objetivo General	2
1.2.1 Objetivos específicos.....	3
1.3 Hipótesis.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 El Frijol.....	4
2.1.1 Clasificación taxonómica.....	4
2.1.2 Importancia del cultivo	5
2.1.3 Morfología del frijol	6
2.1.4 Condiciones edáficas, climáticas y establecimiento del cultivo.....	7
2.1.5 Problemas fitosanitarios	7
2.1.6 Enfermedades por transmisión de virus.	8
2.2. Mosquita Blanca de los Invernaderos <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	9
2.2.1 Clasificación Taxonómica	10
2.2.2 Ciclo biológico y comportamiento	11
2.3 Métodos de control.....	12
2.3.1 Control químico.....	12
2.3.2 Control biológico	13
2.4 Genero <i>Aschersonia</i>	15
2.4.1 Clasificación taxonómica.....	15
2.4.2 Biología y ecología.....	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Material vegetal	17
3.2 Insecto.....	17
3.3 Colecta de <i>Aschersonia</i> sp.....	17
3.4 Objetivo 1: Estudiar la Identidad Morfológica y Molecular de <i>A. hypocreoidea</i> , a Través de la Observación Morfológica, y Secuenciación de Marcadores de ADN.....	18
3.4.1 Aislamiento y cultivo.....	18
3.4.2 Identificación morfológica	19

3.4.3 Identificación molecular.....	19
3.4.4 Determinación de la viabilidad de las conidias	19
3.5 Objetivo 2: Determinar la patogenicidad y residualidad de <i>A. hypocreidea</i> en tres concentraciones de conidias contra <i>T. vaporariorum</i> , aplicado en hojas de frijol antes de la oviposición.	19
3.6 Objetivo 3: determinar la patogenicidad y residualidad de <i>A. hypocreidea</i> en tres concentraciones de conidias contra <i>T. vaporariorum</i> aplicado en huevos sobre hojas de frijol.	20
3.6.1 Determinación de la concentración de conidias aplicadas por cm ²	21
3.7 Evaluaciones.....	21
3.8 Análisis Estadístico	22
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1 Objetivo 1: Estudiar la Identidad Morfológica y Molecular de <i>A. hypocreidea</i> , a Través de la Observación de la Estructura y Secuenciación de Marcadores de ADN	23
4.1.1 Aislamiento y cultivo	23
4.1.2 Identificación morfológica	24
4.1.3 Identificación molecular.....	24
4.1.4 Secuencia de ITS4 <i>Aschersonia hypocreidea</i> :.....	25
4.1.5 Sintomatología	25
4.1.6 Determinación de la viabilidad de las conidias	27
4.2 Objetivo 2: Determinar la Patogenicidad y Residualidad de <i>A. hypocreidea</i> en Tres Concentraciones de Conidias Contra <i>T. vaporariorum</i> , Aplicado en Hojas de Frijol Antes de la Oviposición.....	28
4.3 Objetivo 3: Determinar la Patogenicidad y Residualidad de <i>A. hypocreidea</i> en Tres Concentraciones Contra <i>T. vaporariorum</i> , Aplicado en Huevos Sobre Hojas de Frijol.....	29
5. CONCLUSIONES	31
6. LITERATURA CITADA.....	32

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Parámetros fisicoquímicos de algunas variedades de frijol de México	5
Cuadro 2. Productos químicos registrados en México para el control de especies de mosquitas blancas.	12
Cuadro 3. Productos biológicos para el control de <i>T. vaporariorum</i> en el mercado mexicano.....	14

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura general de una planta de frijol.....	6
Figura 2. Planta de frijol con daños a causa de fitopatógenos.	7
Figura 3. Planta de frijol con virus del mosaico dorado.....	8
Figura 4. Adulto de <i>T. vaporariorum</i>	9
Figura 5. Ciclo biológico de <i>T. vaporariorum</i>	11
Figura 6. <i>Aschersonia</i> sp. en hoja de <i>Morus</i> sp	16
Figura 7. Cultivo de <i>A. hypocreoidea</i> en medio PDA.	22
Figura 8. A: Estroma. B: Conidias. C: Micelio	23
Figura 9. Resultado de la comparación de la secuencia obtenida, en GenBank	24
Figura 10. Ninfas infectadas con coloraciones blancas y amarillas (flechas rojas), ninfas no infectadas (flechas amarillas).	25
Figura 11. A: Hoja de frijol con ninfas infectadas. B: Ninfas micosadas en un área de 1.5x1.5cm. C: Micelio procedente de ninfas infectadas, vistas bajo microscopio compuesto en 40X.	26
Figura 12. Efecto de <i>A. hypocreoidea</i> sobre ninfas de <i>T. vaporariorum</i> antes de la infestación en tres concentraciones. Valores promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de 0.05.	28
Figura 13. Efecto de <i>A. hypocreoidea</i> sobre ninfas de <i>T. vaporariorum</i> después de la oviposición, en tres concentraciones. Valores promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de 0.05.	29

RESUMEN

La mosquita blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, (1856) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una plaga de gran importancia económica que afecta el cultivo de tomate, pepino, melón, frijol, entre otros. Para el control de *T. vaporariorum*, en el cultivo de frijol y demás cultivos, se realizan aplicaciones de insecticidas químicos como neonicotinoides y piretroides. Sin embargo, se buscan opciones sustentables de manejo, como el uso de hongos del género *Aschersonia*. Ésta es una opción de interés, ya que *Aschersonia* incluye patógenos específicos de moscas blancas y escamas que ocasionan epizootias de manera natural. En este estudio se investigó la identidad, patogenicidad y residualidad contra ninfas de *T. vaporariorum* en plantas de frijol, de una cepa de *Aschersonia* aislada de una huerta de naranja (*Citrus sinensis*) en el estado de Tamaulipas, México. Se identificó al hongo morfológicamente y molecularmente, por marcadores de ADN de la región ITS4. Se efectuaron dos experimentos con tres concentraciones de conidias. En el primer experimento se utilizaron las concentraciones; 1.71×10^6 , 1.71×10^7 y 1.71×10^8 conidias/mL; el hongo se aplicó de forma tópica antes de la oviposición. En el segundo experimento se aplicaron las concentraciones 1.25×10^6 , 1.25×10^7 y 1.25×10^8 conidias/mL de forma asperjada, después de la oviposición (48h) de *T. vaporariorum*. La cepa aislada fue identificada con el 99.02% de similitud y 99% de cobertura como *Aschersonia hypocreoidea*. En ambos experimentos se obtuvo una mortalidad mayor al 80% en la concentración más alta (10^8) y un rango residual de 32-41 días. El entomopatógeno *A. hypocreoidea* es una opción que posiblemente es factible agrónomicamente, y sustentable dentro de un esquema de manejo integrado de poblaciones de mosquita blanca.

Palabras clave: control biológico, plaga, persistencia

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la importancia alimentaria, económica y cultural del cultivo de frijol en México va en aumento (Borja-Bravo *et al.*, 2018). En 2022 la superficie nacional sembrada aumentó un 12%, pasando de 1.51 a 1.69 millones de hectáreas, posicionando el país en noveno lugar a nivel mundial, por debajo de Myanmar, India y Brasil que son los tres primeros productores con más de cinco millones de toneladas cosechadas (SADER, 2022). En 2021 se cosecho más de un millón doscientas mil toneladas, siendo el estado de Zacatecas el principal productor nacional con una producción de 451,019.67 toneladas del grano (SIAP, 2023)

Las limitantes en la producción de frijol se deben en gran parte a problemas fitosanitarios que incluyen enfermedades tales como, roya (*Uromyces phaseoli*), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), pudrición de la raíz (*Fusarium oxysporum* y *F. solani*), virus del mosaico dorado del frijol transmitido por mosquita blanca (Baker, 1983; Araya, 1989; Morales, 2000). Plagas de insectos, tales como: conchuela (*Epilachna varivestis*), minadores de la hoja (*Liriomyza* spp.), chicharrita (*Empoasca fabae*), picudo de la vaina (*Apion godmani*), gallinas ciegas (géneros: *Anomala*, *Cyclocephala* y *Phyllophaga*), gusanos de alambre (*Agriotes* sp.), mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y mosquita blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) (Schwartz, 1978; Pinto *et al.*, 2004; Singh y Schwartz, 2010; Castrejón, 2012).

Trialeurodes vaporariorum Westwood, (1856) (Hemiptera: Aleyrodidae) es plaga de gran importancia a nivel mundial, ocasiona daños directos al alimentarse e indirectos al transmitir virus como Crinivirus y Torradovirus (Navas-Castillo *et al.*, 2011). Russell (1977) reporta 249 géneros en 82 familias de plantas hospedantes de mosquita blanca, siendo el frijol uno de estos. Las plantas afectadas por *T. vaporariorum* presentan reducción de clorofila, debilitamiento general y establecimiento de hongos causantes de fumagina (Yee *et al.*, 1998).

El control de este insecto plaga está basado en aplicaciones intensivas de insecticidas, el uso indiscriminado de estos productos ha ocasionado que el insecto desarrolle resistencia, contamina el medio ambiente y afecta la salud humana (López *et al.*, 2010). Debido a esto, se buscan alternativas de control ecológicamente viables (Macías *et al.*, 2013), como el uso de hongos entomopatógenos; *Beauveria*, *Metarhizium* y *Aschersonia*, éste último es conocido por su alta eficiencia reduciendo poblaciones de mosca blanca y escamas (Vargas *et al.*, 1995).

El hongo entomopatógeno del género *Aschersonia* (Hypocreales: Clavicipitaceae) es conocido por su alta especificidad contra Coccoidea y Aleyrodidae (Hemiptera: Sternorrhyncha). El primer reporte de *Aschersonia* como agente de control biológico se registró en el año 1921 en Florida (Aragão *et al.*, 2021), donde se empleó *A. aleyrodís* para el control de *Dialeurodes citri* Ashmead (1885) (Hemiptera: Aleyrodidae), desde entonces a sido de gran interés dentro de estudios de entomopatógenos.

1.1 Justificación

El estudio de microorganismos (hongos, bacterias, virus y nematodos) como agentes de control biológico en agricultura, alternativas al control químico, cada vez es más necesario; para evitar resistencia a plaguicidas, desequilibrios ecológicos y aumento en costos de producción.

1.2 Objetivo General

Identificar el hongo entomopatógeno *Aschersonia hypocreioidea*, su patogenicidad y residualidad contra la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* en plantas de frijol, mediante depósitos de conidias.

1.2.1 Objetivos específicos

1. Estudiar la identidad morfológica y molecular de *A. hypocreoides*, a través de la observación morfológica, sintomatología producida y secuenciación de marcadores de ADN.
2. Determinar la patogenicidad y residualidad de *A. hypocreoides* en tres concentraciones de conidias (1.71×10^6 , 1.71×10^7 y 1.71×10^8 conidias/mL) contra *T. vaporariorum*, aplicadas en hojas de frijol antes de la oviposición.
3. Determinar la patogenicidad y residualidad de *A. hypocreoides* en tres concentraciones de conidias (1.25×10^6 , 1.25×10^7 y 1.25×10^8 conidias/mL) contra *T. vaporariorum*, aplicadas en huevos sobre hojas de frijol.

1.3 Hipótesis

La aplicación de suspensiones del hongo *Aschersonia* sp. producirá una mortalidad en ninfas de *T. vaporariorum* superior al 50% respecto al testigo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El Frijol

Phaseolus vulgaris L. (Fabales: Fabaceae), cultivo originario de las regiones tropicales de América (SADER, 2020), corresponde a una de las leguminosas más importantes en el mundo (FAO, 2018). Se puede encontrar en los cinco continentes, principalmente en Centroamérica y Sudamérica (Ulloa *et al.*, 2011). Actualmente, se conocen 150 especies aproximadamente, de las cuales 70 se pueden encontrar en México, mismo que es centro de origen según estudios de las formas ancestrales silvestres del frijol (Gepts *et al.*, 1986; Koenig *et al.*, 1990; Koinange y Gepts, 1992).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Tribu: Phaseoleae

Subtribu: Phaseolinae

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris* Linneo 1753

2.1.2 Importancia del cultivo

Es el cultivo más importante de las leguminosas en el mundo, después de la soya y el cacahuate (Singh *et al.*, 1999). En México, debido al alto contenido de proteína que posee (8.86 g de proteína por cada 100 gramos), se considera que el frijol representa el 36% del consumo diario según Flores (2017).

A continuación, se presenta una tabla (cuadro 1) tomada y modificada del contenido nutricional de distintas variedades de frijol producidas y consumidas en México. Fuente: Fernández *et al.* (2017).

Cuadro 1. Parámetros fisicoquímicos de algunas variedades de frijol de México

Variedades de frijol	Parámetros fisicoquímicos				
	Grasa (%)	Fibra (%)	Carbohidratos (%)	Proteína (%)	Energía (Kcal)
Bayo	0.93	5.55	39.18	43.58	337.46
Pinto	0.85	7.18	39.02	48.98	326.56
Peruano	0.48	7.09	60.09	28.32	322.25
Negro	0.97	12.22	39.21	39.76	284.53
Alubia	1.64	19.86	38.07	35.43	222.93
Flor de Mayo	0.99	7.57	46.80	40.95	328.48
Ejote entero	1.30	18.60	34.67	36.33	221.55
Vaina	0.59	13.24	38.19	39.09	261.13
Semilla	1.38	11.35	26.87	49.30	207.13

2.1.3 Morfología del frijol

El tallo es delgado, débil y cuadrangular, dependiendo de la variedad, generalmente tiene un diámetro mayor al de las ramas y puede crecer erguido, semiprostrado o prostrado y alcanzar una altura de 30cm hasta los 3m de longitud, aunque también hay plantas enanas que van de los 15 a 25cm; hojas trifoliadas de forma ovalada de 7 a 15cm de longitud y ancho de 3 a 11cm que crecen de forma alterna a lo largo del tallo y ápice acuminado; las flores son hermafroditas con colores que van desde blanco a morado; el fruto son vainas con curvas débiles, convexas o en forma de S, según sea el caso el tamaño puede ir de 8 a 20cm de largo, con semillas de 1 a 3cm de longitud en forma de riñón, ovals o redondeadas y raíces principales pivotantes con muchas ramificaciones (García *et al.*, 1997; Berrocal-Ibarra *et al.*,2002; González *et al.*, 2008; Celis-Velázquez *et al.*,2010; Peña Valdivia *et al.*,2012; García *et al.*, 2014; Magalhaes *et al.*, 2015; Morales-Santos *et al.*, 2017).



Figura 1. Estructura general de una planta de frijol.

2.1.4 Condiciones edáficas, climáticas y establecimiento del cultivo

Aunque el cultivo prospera en terrenos con pH de 4.5 a 5.5, las condiciones óptimas fluctúan entre 6.5 y 7.5 con preferencia por suelos franco-arenosos de textura ligera y buen drenaje. El frijol es muy susceptible a temperaturas extremas, por ello, el clima óptimo para el desarrollo oscila entre 10 y 27°C (Araya y Hernández, 2003). Antes de sembrar el suelo debe humedecerse uniformemente para asegurar la germinación de las semillas. La siembra se realiza de 3 a 5cm de profundidad, 6cm de distancia entre planta y 60 a 80cm de distancia entre hileras. En las etapas de floración hasta el llenado de grano (etapa reproductiva), el riego es esencial para un buen desarrollo, éstos deben de ser ligeros y no mayores a 150m para evitar problemas de pudriciones de raíces (Acosta-Díaz et al., 2008; Flores et al., 2017).

2.1.5 Problemas fitosanitarios

En el país, el cultivo de frijol se ve afectado por diversos patógenos que bajan los rendimientos de cosecha, en donde encontramos enfermedades como la roya del frijol (*Uromyces phaseoli*), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), pudrición de raíces (*Fusarium solani*) (Navarrete y Acosta, 2015) y plagas de insectos tales como: conchuela de frijol (*Epilachna varivestis*), minadores de la hoja de frijol (*Liriomyza* spp.), chicharritas (*Empoasca fabae*), picudo de la vaina de frijol (*Apion godmani*), gallinas ciegas (géneros: *Anomala*, *Cyclocephala* y *Phyllophaga*), gusanos de alambre (*Agriotes* sp.), mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y mosquita blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) (Pinto et al., 2004; Castrejón, 2012, SENASICA, 2021).



Figura 2. Planta de frijol con daños a causa de fitopatógenos.

2.1.6 Enfermedades por transmisión de virus.

En frijol se presentan enfermedades como el virus del mosaico dorado (BGMV) y el mosaico dorado amarillo (BGYMV) del grupo de los geminivirus (Morales, 2000; Echemendía, 2010), éste último considerado de los más importantes en América Central (SICTA, 2008), transmitidos por vectores como mosquitas blancas. Actualmente el mosaico dorado es la enfermedad viral más notable en el estado de Sinaloa (Perea, 2006). Para evitar los daños a causa de dichas enfermedades, es muy

importante controlar las poblaciones en la mayor medida posible, de mosquitas blancas como *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Rodríguez, 1983; Jones 2003).



Figura 3. Planta de frijol con virus del mosaico dorado.

2.2. Mosquita Blanca de los Invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*

Trialeurodes vaporariorum Westwood 1856 (Hemiptera: Aleyrodidae), conocida como mosquita blanca de los invernaderos, originaria del continente americano, es una plaga de distribución cosmopolita y de gran importancia económica por su gran número de hospedantes y los daños directos e indirectos que les causa a éstos (Byrne *et al.* 1990; Bueno *et al.*, 2005).



Figura 4. Adulto de *T. vaporariorum*.

2.2.1 Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Artropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Esternorrhyncha

Familia: Aleyrodidae

Género: *Trialeurodes*

Especie: *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856.

2.2.2 Ciclo biológico y comportamiento

T. vaporariorum es un insecto de metamorfosis hemimetábola (metamorfosis incompleta), su ciclo consta de seis etapas: huevo, ninfas de primer, segundo y tercer estadio, pseudopupa y adulto; este a su vez va a depender a la temperatura y humedad ambiental, entre 15-40 días. Por lo general dentro de los primeros cinco estadios se van a encontrar en el envés de las hojas de las plantas hospedantes y los adultos pueden estar o no, siempre y cuando no sean perturbadas o les falte alimento. Las hembras pueden ovipositar un promedio de 127 huevecillos en temperaturas de 19°C, según estudios realizados por Manzano *et al.*, 2009. En cuanto a hembras no fecundadas pueden presentar partenogénesis del tipo arrenotoquia (partenogénesis en la cual la progenie es masculina).

A continuación, se describe brevemente cada estadio de acuerdo con Carapia y Castillo (2013).

Huevo: son ovalados, miden entre 0.20 – 0.25 mm de largo y 0.1mm de ancho, son de color amarillento que se tornan oscuros cuando están próximos a eclosionar, comúnmente son ovipositados de forma semicircular o circular.

Primer estadio ninfal: las ninfas son móviles durante las primeras horas después de su eclosión hasta encontrar un lugar conveniente para su alimentación. Miden 0.24-0.27mm de largo y 0.15mm de ancho.

Segundo estadio ninfal: la ninfa mide 0.42mm de largo y 0.33 de ancho, el cuerpo es redondeado.

Tercer estadio ninfal: el tamaño de la ninfa va de 0.56 a 0.60mm de largo y 0.40mm de ancho y el margen del cuerpo granulado de manera uniforme.

Cuarto estadio: pseudopupa de 0.78- 0.80mm de largo y 0.51mm de ancho con superficie dorsal elevada por palizada de la superficie ventral, con cubierta de varillas de cera blanquecina.

Adulto: los adultos poseen cuerpo con una coloración levemente amarilla, alas inmaculadas, ojos compuestos divididos, medidas de 0.75 1.10 mm de largo.

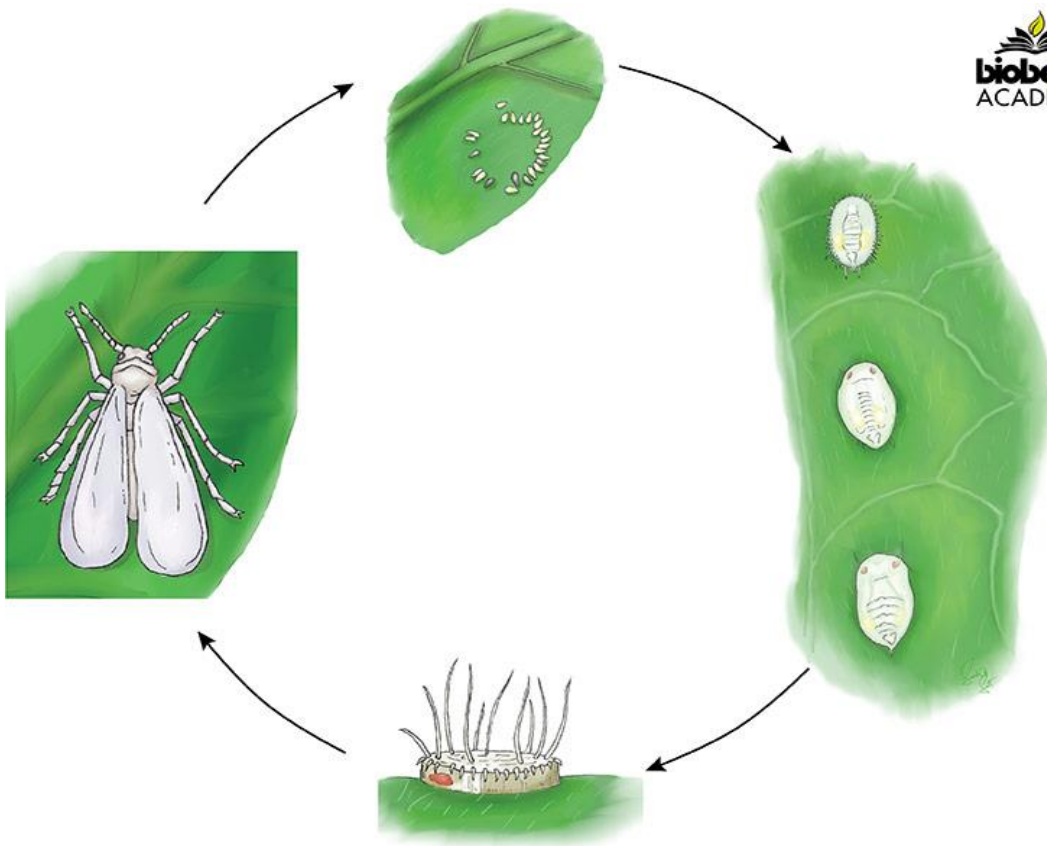


Figura 5. Ciclo biológico de *T. vaporariorum*.

2.3 Métodos de control

Existe diversos tipos de control, estos consisten en reducir los niveles poblacionales en la mayor medida posible, para evitar pérdidas económicas. A continuación, se mencionan dos de ellos.

2.3.1 Control químico

En Mexico existe una extensa cantidad de productos químicos para controlar las poblaciones de mosquita blanca en distintos cultivos. A continuación de enlistan los siguientes.

Cuadro 2. Productos químicos registrados en México para el control de especies de mosquitas blancas (Ruiz *et al.*, 2011).

Grupo químico	Ingrediente activo	Nombre comercial	Dosis
Neonicotinoides	Imidacloprid	Confidor®	0.3-0.6L/ha
		Stark®	0.75-1.25L/ha
Tidiazinas	Buprofezin	Applaud® 40SC	0.5-0.7L/ha
Acidos tetrámicos	spirotetramat	Movento® 150OD	0.4-0.6L/ha
Piretroides	lambda-cyhalothrina	Karate Zeon® 5 CS	0.5-0.7L/ha
Ácido Tetrónico	Spiromesifen	Oberon®	0.4-0.6L/ha
Neonicotinoides/ Piretroides	Imidacloprid + Betacyflutrin	Muralla Max® 300 OD	0.1-0.2L/ha
Piretroides	Fenpropatrin	Herald® 375 CE	0.4-0.5L/ha

2.3.2 Control biológico

Los métodos de control biológico van encaminados a la reducción de poblaciones plaga mediante el empleo de enemigos naturales (parasitoides, depredadores, nematodos, hongos, bacterias, virus). Dada la amenaza que representa la mosquita blanca hacia los cultivos a nivel mundial, la búsqueda de métodos de control mediante organismos vivos va en aumento (Arredondo y Rodríguez, 2008; Mascarín *et al.*, 2013).

En el presente podemos encontrar diversos organismos que nos ayudan a controlar dicha plaga como lo son:

Insectos depredadores: *Macrolophus caliginosus*, *Macrolophus pygmaeus*, *Chrysoperla carnea*, *Delphastus pusillus*, *Hippodamia convergens* (Araya y Cáceres, 2018)

Insectos parasitoides: *Encarsia formosa*, *Eretmocerus eremicus*, *Dyciphus hesperus* (Toledo-Perdomo, 2019).

Ácaros depredadores: *Amblyseius swirskii*, *Transeius montdorensis*, *Amblydromalus limonicus* (Calvo et al., 2015).

Hongos entomopatógenos: *Lecanicillium lecanii*, *Isaria fumosoroseus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Aschersonia aleyrodis* (Scorsetti et al., 2008)

En la siguiente tabla se enlistan las soluciones biológicas comerciales más utilizadas para el control biológico de *T. vaporariorum*.

Cuadro 3. Productos biológicos para el control de *T. vaporariorum* en el mercado mexicano (Koppert, 2023).

Enemigos naturales	Especie	Modo de acción
Insectos depredadores	<i>Chrysoperla carnea</i>	Las larvas se alimentan de los primeros estadios.
Avispas parasitoides	<i>Encarsia formosa</i> <i>Eretmocerus eremicus</i>	Las avispas adultas parasitan las ninfas de tercer y cuarto estadio.
Ácaros depredadores	<i>Amblydromalus limonicus</i> <i>Amblyseius swirskii</i>	Perforan a su presa en sus primeros estadios con su aparato bucal y succionan su contenido.
Hongo entomopatógeno	<i>Isaria fumosorosea</i>	Las esporas de los hongos se adhieren y colonizan a su hospedero.

2.4 Genero *Aschersonia*

Los hongos del género *Aschersonia* (Hypocreales: Clavicipitaceae), son entomopatógenos anamorfos específicos de hemípteros de la superfamilia Coccoidea y la familia Aleyrodidae (Hemiptera: Sternorrhyncha). Los primeros reportes del uso de *Aschersonia* surgieron con experimentos realizados por Berger (1921), utilizando el hongo *Aschersonia aleyrodis* para el control de la mosca blanca de los cítricos (*Dialeurodes citri*), desde entonces este género ha sido estudiado por su enorme potencial como controlador de moscas blancas y actualmente se aceptan 44 especies (Hywel-Jones, 1993).

2.4.1 Clasificación taxonómica

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Aschersonia*

2.4.2 Biología y ecología

Todas las especies del género *Aschersonia* se encuentran en zonas tropicales y subtropicales del mundo (Petch, 1921), donde comúnmente causan epizootias en hemípteros hospederos (Hywel-Jones, 1993; Meekes *et al.*, 2002). Dentro de la familia Aleyrodidae que son atacadas por *Aschersonia*, son infectadas en las etapas de ninfa

(Meekes *et al.*, 2002), las conidias germinan con una o varias capilioconidias que posteriormente producen estromas cubiertos de mucílago de tonalidades amarillas o naranjas en la parte superior (Evans, 1994; Chaverri *et al.*, 2008)

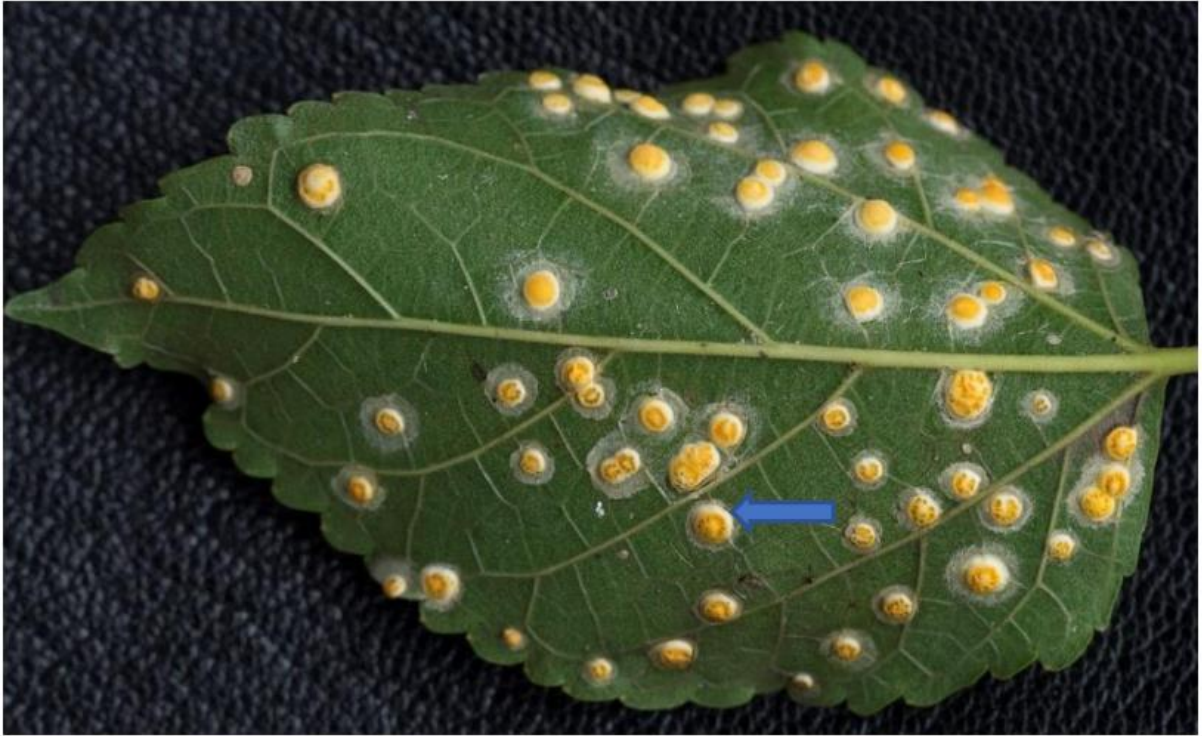


Figura 6. *Aschersonia* sp. en hoja de *Morus* sp.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Se emplearon semillas de frijol *P. vulgaris* variedad Pinto Saltillo. Se colocaron en charolas plásticas (Gama Pack, GPB-2618-55) con papel estroza humedecido para su germinación; a las 72h se trasplantaron en vasos plásticos de 350mL con sustrato peat moss (Premiere Horticulture Inc., Canadá) y perlita proporción aprox. 1:1. Las plantas se mantuvieron a una temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 35% durante los primeros 14 días hasta su uso.

3.2 Insecto

Los adultos de *T. vaporariorum* utilizados en los experimentos se colectaron de plantas de *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl (1930) (Cucurbitaceae) en la UAAAN.

3.3 Colecta de *Aschersonia* sp.

El hongo *Aschersonia* sp. se obtuvo de hojas de naranja dulce, *Citrus sinensis* colectadas en un huerto ubicado en el municipio de Güémez, Tamaulipas, en el mes de mayo de 2021, por el Ing. Ricardo Álvarez Ramos y la M.C. Carolina Delgado Luna, posteriormente las muestras se trasladaron al Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, para su aislamiento en laboratorio.

3.4 Objetivo 1: Estudiar la Identidad Morfológica y Molecular de *A. hypocreoides*, a Través de la Observación Morfológica, y Secuenciación de Marcadores de ADN.

3.4.1 Aislamiento y cultivo.

Se preparó medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar, 39g/L Bioxon®, Becton Dickinson and Company®, 39g/L) + extracto de levadura (5g/L) con CTAB (Bromuro de Hexadeciltrimetilamonio, 0.15g/L) y antibiótico Emicina® (Oxitetraciclina, Pfizer, 200µL/mL) (Ramírez-Rodríguez y Sánchez-Peña, 2016). Se tomaron cinco estromas del hongo de las hojas de naranjo, y se desinfectaron con alcohol (etanol al 70%) por 10 segundos, posteriormente se enjuagaron con agua purificada estéril, se fragmentaron en 4 partes con un bisturí y se transfirieron al medio de cultivo. Las placas de Petri se mantuvieron a temperatura de $26^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 35-50%, hasta observar el crecimiento y desarrollo del hongo.

Una vez obtenido el hongo puro se prepararon seis diferentes medios de cultivo para determinar cuál era el más adecuado para su crecimiento y desarrollo. Se probaron los siguientes: 1) medio comercial deshidratado de PDA, 2) medio papa artesanal (extracto de papa 200g/L, azúcar de mesa 20g/L, agar 20g/L), 3) PDA + extracto de levadura (5g/L), 4) extracto de soya (200g/L) con extracto de levadura (5g/L), 5) extracto de frijol (5%) + extracto de levadura (5g/L) y 6) ADS (Agar-Dextrosa-Sabouraud, Bioxon®, Becton Dickinson and Company®, 66g/L) + extracto de levadura (5g/L). Con la ayuda de una aguja de insulina estéril se tomaron conidias y se colocaron en los medios de cultivo en cuatro diferentes puntos dentro de la caja, se incubaron a temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $35\pm 50\%$, con luz natural difusa.

3.4.2 Identificación morfológica

Se prepararon laminillas para observación de material de campo y cultivos del hongo en medio de cultivo en microscopio compuesto (CX21LEDFS1, Olympus Corporation, Tokio, Japon). Las observaciones se compararon con los resultados reportados en estudios previos de Meeke *et al.*, 2002, Chaverri *et al.*, 2008 y Homrahud *et al.*, 2016.

3.4.3 Identificación molecular

De acuerdo con metodología empleada por Acosta *et al.* (2006), se amplificó y se obtuvo la secuencia de la región ITS 4. Con la secuencia obtenida se comparó la identidad de especie (BLAST) con secuencias de GenBank y se determinó la especie de acuerdo con el mayor porcentaje de similitud con el que se asociaba.

3.4.4 Determinación de la viabilidad de las conidias

Este paso consistió en la siembra del hongo por estría en medio papa artesanal y medio PDA. Se elaboraron placas de Petri con una delgada capa de medio (de acuerdo al paso anterior) para facilitar su observación en el microscopio compuesto.

3.5 Objetivo 2: Determinar la patogenicidad y residualidad de *A. hypocreioidea* en tres concentraciones de conidias contra *T. vaporariorum*, aplicado en hojas de frijol antes de la oviposición.

Este experimento consistió en inocular el envés de hojas de frijol no infestadas, de 14 días de edad; se evaluaron tres suspensiones a diferente concentración (1.71×10^6 ,

1.71X10⁷ y 1.71X10⁸ conidias/mL) más un testigo (agua estéril). Por cada suspensión a evaluar se establecieron 20 repeticiones (cada repetición constó de medio foliolo de frijol). Las suspensiones a evaluar se prepararon de la siguiente manera; se raspó la matriz mucilaginosa de los estromas del hongo aislado en PDA (de dos meses de edad) con la hoja de un bisturí para obtener las conidias; Éstas se depositaron en un tubo Eppendorf con agua purificada estéril y se agitaron vigorosamente por tres minutos de forma manual. Enseguida se realizó un conteo de conidias en una cámara de Neubauer (BRAND®, BR717810, Alemania) y microscopio compuesto para saber la cantidad de conidias/mL, y obtener una concentración madre. Las hojas se inocularon con las suspensiones a evaluar con ayuda de un pincel de cerdas naturales, se humedeció toda la superficie de la hoja y posteriormente se marcaron en el haz con el número de repetición. Se siguió el mismo procedimiento para el testigo. Una vez inoculadas las plantas, se dejó secar la suspensión y en el mismo día, se infestaron con adultos de *T. vaporariorum* (25 adultos por planta). Enseguida las plantas fueron cubiertas con tela de organza y colocadas dentro de una jaula cubierta de plástico transparente, para mantener la humedad. Posteriormente los adultos se retiraron de las plantas a las 48 horas, con el fin de obtener una cohorte (grupo de insectos que tienen la misma edad) se verificó la oviposición y la tela fue retirada.

3.6 Objetivo 3: determinar la patogenicidad y residualidad de *A. hypocreoidea* en tres concentraciones de conidias contra *T. vaporariorum* aplicado en huevos sobre hojas de frijol.

El experimento tuvo como objetivo determinar la patogenicidad y residualidad de *A. hypocreoidea*, sobre ninfas de *T. vaporariorum* aplicado en la etapa de huevos. Por lo tanto, se evaluaron tres suspensiones del hongo *A. hypocreoidea*: 1.25X10⁶, 1.25X10⁷ y 1.25X10⁸/mL y un testigo absoluto (agua estéril). Cada tratamiento consistió en 20 repeticiones (medio foliolo, al igual que el experimento anterior). Antes de la inoculación, las plantas se infestaron con adultos de *T. vaporariorum* y posteriormente

se cubrieron con tela de organza y fueron colocadas dentro de una jaula. Transcurridas 48 horas, se sacaron de la jaula, se retiró la tela de organza y se verificó la oviposición para obtener una cohorte. Enseguida se prepararon los tratamientos a evaluar (siguiendo la metodología anterior) y se aplicaron con un atomizador a una distancia de 10 cm de las hojas, posterior a ello éstas fueron marcadas para su seguimiento.

3.6.1 Determinación de la concentración de conidias aplicadas por cm²

Para el conteo de conidias depositadas en hojas de frijol del primer experimento (aplicación de *A. hypocreoidea* antes de la infestación con *T. vaporariorum*) se preparó una suspensión de 6.4×10^8 y posteriormente se aplicó a las hojas con ayuda de un pincel de cerdas naturales, después se recortaron cinco cuadros de hoja de un área de 1 cm². En un vaso plástico de 60 mL se agregaron 5 mL de agua purificada en donde se pusieron los cinco cuadros de 1 cm² previamente inoculadas y se agitaron vigorosamente. Después se tomaron 100 µL de la suspensión y se colocaron en una cámara de Neubauer. La cámara con suspensión se examinó en el microscopio compuesto para el conteo, resultando un promedio de 1,800,000 (1.8×10^6) conidias por cm² (n=5). Para el segundo experimento (aplicación de *A. hypocreoidea* a huevos de *T. vaporariorum*) se realizó la misma metodología, a diferencia que la aplicación de la suspensión que se realizó con un atomizador y éste resultó con un promedio de 2.55×10^6 conidias por cm² (n=5).

3.7 Evaluaciones

Las plantas fueron revisadas con un microscopio de disección (Carl Zeiss Micromalding GmbH 37081, Alemania). Para el registro de la mortalidad se realizaron cinco evaluaciones; para el objetivo 2 (aplicación del hongo antes de la oviposición) se realizaron observaciones a los 20, 24, 27, 31 y 41 días después de la inoculación del

hongo; para el objetivo 3 (aplicación del hongo en huevecillos, las observaciones fueron a los 10, 14, 17, 21 y 31 días después de la inoculación en las evaluaciones se contabilizaron todas las ninfas con síntomas de infección y muerte causada por el hongo aplicado, encontradas en medio foliolo. Se identificaron ninfas con apariencia anormal comparándolas con ninfas no tratadas con las suspensiones de conidias.

3.8 Análisis Estadístico

Los datos de porcentaje de mortalidad fueron sometidos a una prueba de normalidad (Shapiro-Wilks); al no cumplir dicho supuesto, éstos fueron convertidos a su valor de arcoseno (Rani *et al.*, 2019; Sisay *et al.*, 2019) para después someterlos a un análisis de varianza de un factor por cada experimento establecido con un nivel de confianza de 0.05. Posteriormente se llevó a cabo una prueba post-hoc (diferencia honesta significativa, HSD por sus siglas en inglés) para la separación múltiple de las medias. La etapa estadística se ejecutó con el programa R project, versión 4.2.2.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Objetivo 1: Estudiar la Identidad Morfológica y Molecular de *A. hypocreoidea*, a Través de la Observación de la Estructura y Secuenciación de Marcadores de ADN

4.1.1 Aislamiento y cultivo.

El hongo cultivado en PDA creció de manera circular, alcanzando un diámetro promedio de 1.6 cm después de 26 días, y formando estromas con tonalidades naranjas y amarillas con una gran cantidad de conidias. Este crecimiento es similar a los reportados por Van Eijk *et al.*, (1986) y Chaverri *et al.*, (2008) donde se menciona que los hongos crecen con coloraciones brillantes debido a la presencia de carotenoides que ayudan al hongo a resistir la exposición a la radiación solar.

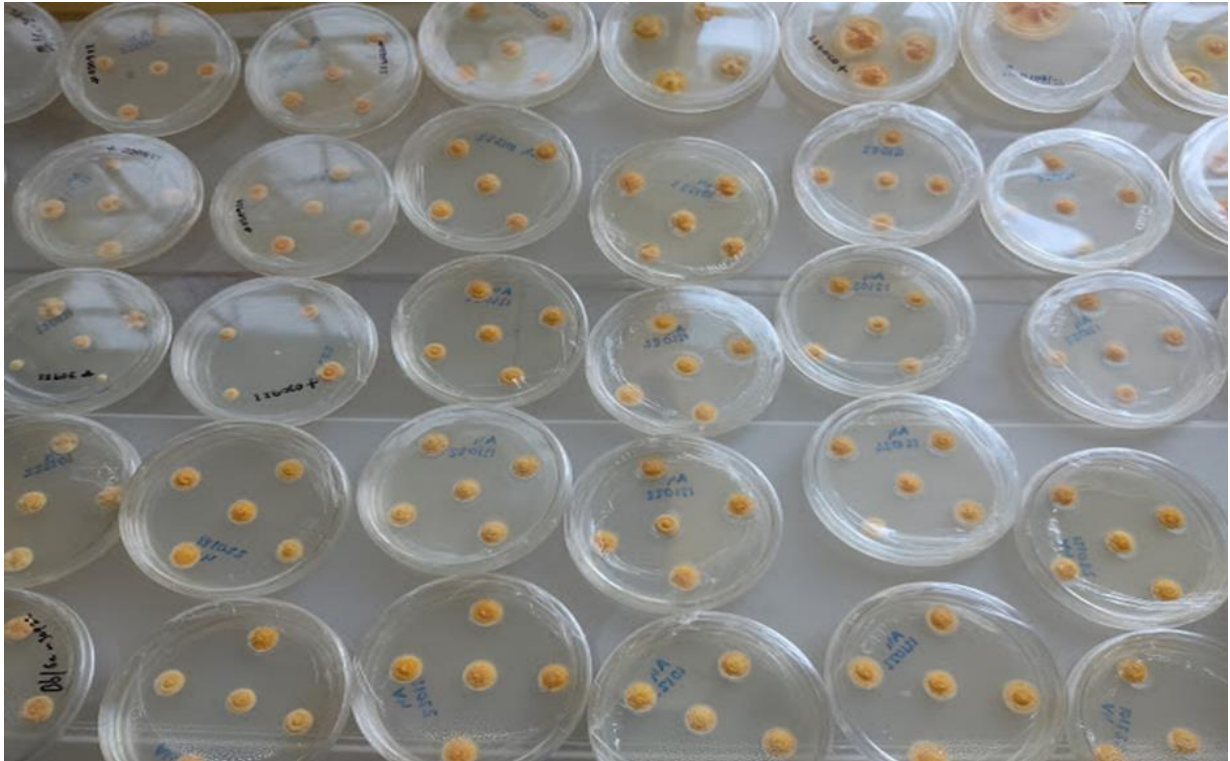


Figura 7. cultivo de *A. hypocreoidea* en medio PDA.

4.1.2 Identificación morfológica

La esporulación en las colonias se produce en la parte superior, formando anillos o bandas concéntricas, dicha esporulación se encuentra inmersa en una matriz de material mucilaginoso/gelatinoso en cavidades que son consideradas esporodoquios o picnidios (Chaverri *et al.*, 2008). La forma de las conidias es alargada-fusiforme, con terminaciones puntiagudas de 11.82µm de largo x 2.73µm de ancho en promedio. Las hifas de *A. hypocreoidea* son hialinas, multiseptadas, de pared muy gruesa y forma irregular.

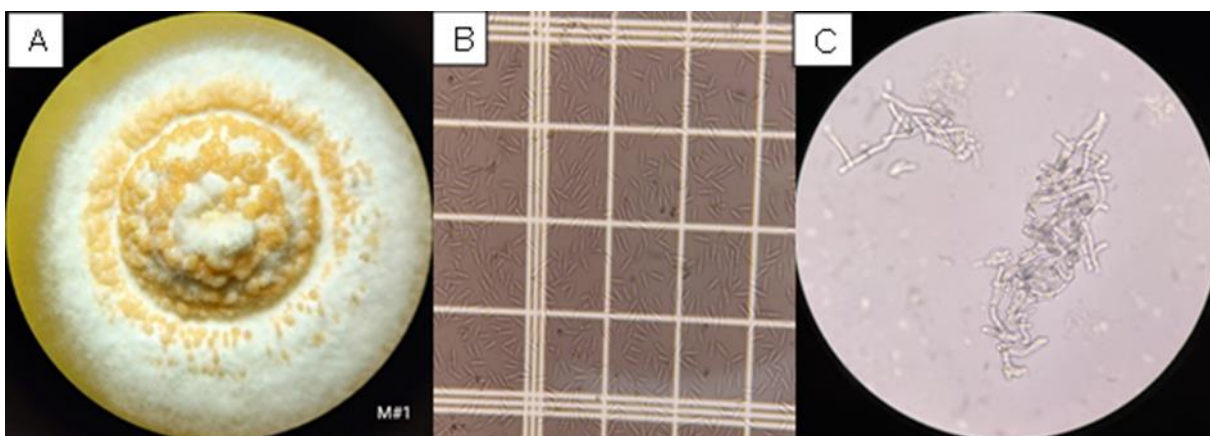


Figura 8. A: Estroma. B: Conidias. C: Micelio

4.1.3 Identificación molecular

De acuerdo con la comparación de la secuencia y BLAST de GenBank con una similitud de 99.02% y un 99% de cobertura con la especie más cercana, la cepa se identificó como *Aschersonia hypocreoidea*.

4.1.4 Secuencia de ITS4 *Aschersonia hypocreoides*:

ATACCTGNTTCGAGGTCACTTCAGAAGAGTTGGGCGTTTTGCGGCCGTGGCCGC
 CGCCTGGCTCCCGGTGCGGTCGTGTTTGTCAACGTGGTTGGCTTCTACTACGCA
 GGGGGTCGCGCGAGGGCGCTGCCGCCGATCCATTTGGGGGGCGGCCGTGGCG
 GGCACGGCCGGTCCCCAGCACCAGGCGCCCTGGGGCGCCTGAGGGGTGTAAT
 GACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGAGTGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCA
 AAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGC
 GTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTT
 CCGGGTGCCCTCGCACCGCGGGATAGACTCAGACGTGCGCGGCCCCCCCCCCCG
 GGGCGCGGCCGCGGCTCGACATACAGAGTTTCGTTCCGGGTCCCCGGCGGGC
 CCTGCGGGGCGCCCGCCGAAGCAACGTACAG

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Aschersonia hypocreoides isolate ROKI2705 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spa...	Aschersonia hyp...	913	913	99%	0.0	99.02%	646	EF190280.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Moelleriella libera isolate L1H1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and inter...	Moelleriella libera	911	911	99%	0.0	98.83%	575	OL584004.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Moelleriella libera strain ARSEF.7617 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene a...	Moelleriella libera	891	891	99%	0.0	98.24%	592	MK135470.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Hypocrella raciborskii isolate SBI-Ap01 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene...	Hypocrella racibo...	852	852	99%	0.0	97.05%	573	MT586700.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Aschersonia sp. isolate CECC55873 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	Aschersonia sp.	850	850	99%	0.0	96.87%	591	OM638885.1

Figura 9. Resultado de la comparación de la secuencia obtenida, en GenBank

4.1.5 Sintomatología

Las ninfas tratadas de primer y segundo estadio presentaban una coloración amarillenta con apariencia acuosa en todo el cuerpo; algunas de estas ninfas murieron sin generar micelio de forma interna, mientras que otras produjeron micelio que se desarrolló gradualmente, con una apariencia blanca cremosa que cubría toda la ninfa sin salir del cuerpo de ésta. Se observó que el hongo produce mortalidad en las ninfas sin esporular, con las condiciones presentes en este experimento, como lo hace en

condiciones naturales en campo, tal resultado es similar a lo reportado por Vargas *et al.* (1995), donde se menciona mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* sin producción de esporas de *A. aleyrodis*. Las ninfas del testigo a las que solamente se les aplicó agua, no presentaron mortalidad y completaron su ciclo biológico.



Figura 10. Ninfas infectadas con coloraciones blancas y amarillas (flechas rojas), ninfas no infectadas (flechas amarillas).

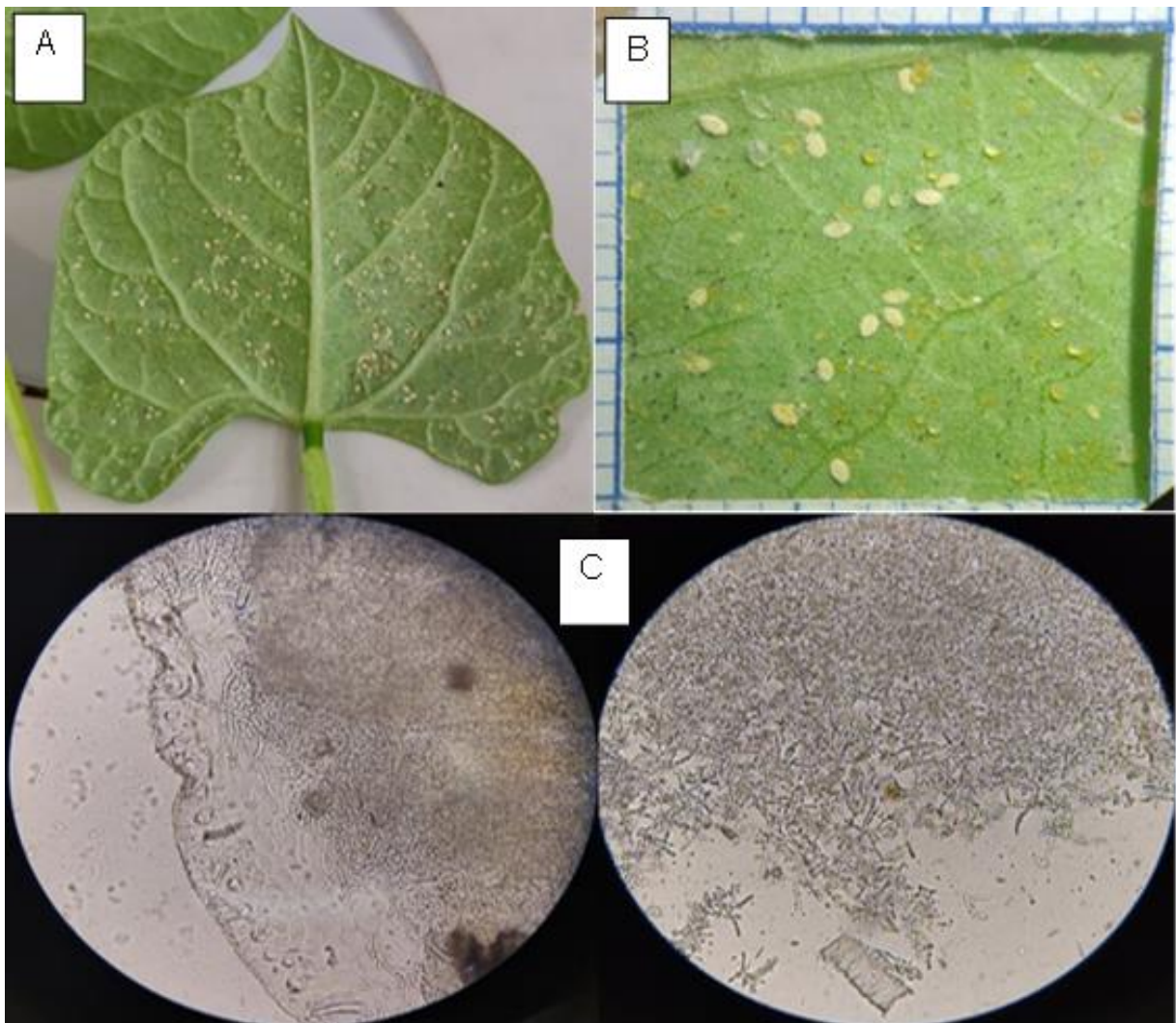


Figura 11. A: Hoja de frijol con ninfas infectadas. B: Ninfas micosadas en un área de 1.5x1.5cm. C: Micelio procedente de ninfas infectadas, vistas bajo microscopio compuesto en 40X.

4.1.6 Determinación de la viabilidad de las conidias

Este paso consistió en la siembra del hongo por estría en medio papa artesanal y medio PDA. Se evaluó 24h después de la siembra en el microscopio compuesto, obteniendo como resultado 82.73% para papa artesanal y 98.59% para PDA.

4.2 Objetivo 2: Determinar la Patogenicidad y Residualidad de *A. hypocreoidea* en Tres Concentraciones de Conidias Contra *T. vaporariorum*, Aplicado en Hojas de Frijol Antes de la Oviposición

En forma general, la mortalidad aumentó al aumentar la concentración de conidias aplicadas, la cual varió entre 0.32-84.43%, también se incrementó a través del tiempo (fig. 11). La mayor mortalidad se alcanzó a los 32 días después de la aplicación con la concentración de 1.25×10^8 conidias/mL. Las dos suspensiones más altas indujeron en una mortalidad estadísticamente significativa con respecto a la más baja y el control en todas las evaluaciones a través del tiempo. La relación directa entre la concentración y la mortalidad medida a lo largo del tiempo, también fue encontrada por Qiu *et al.*, (2013), quienes reportaron un similar efecto al estudiar diferentes concentraciones de *A. placenta* sobre ninfas de *Bemisia tabaci*. Sin embargo, la mortalidad causada en el primer intervalo (a los 10 días) con la concentración media (1.25×10^7) con respecto a lo reportado por Fransen *et al.* (1995), quienes obtuvieron una mortalidad de 98% cuando fue aplicada una concentración de 1×10^7 esporas/mL de *A. aleyrodis* a tres días antes de la oviposición. Esta diferencia quizás sea debida a la variabilidad de la patogenicidad entre especies. Por otro lado, el hongo no presentó ningún efecto aparente sobre los huevos, situación también reportada por Fransen *et al.* (1987).

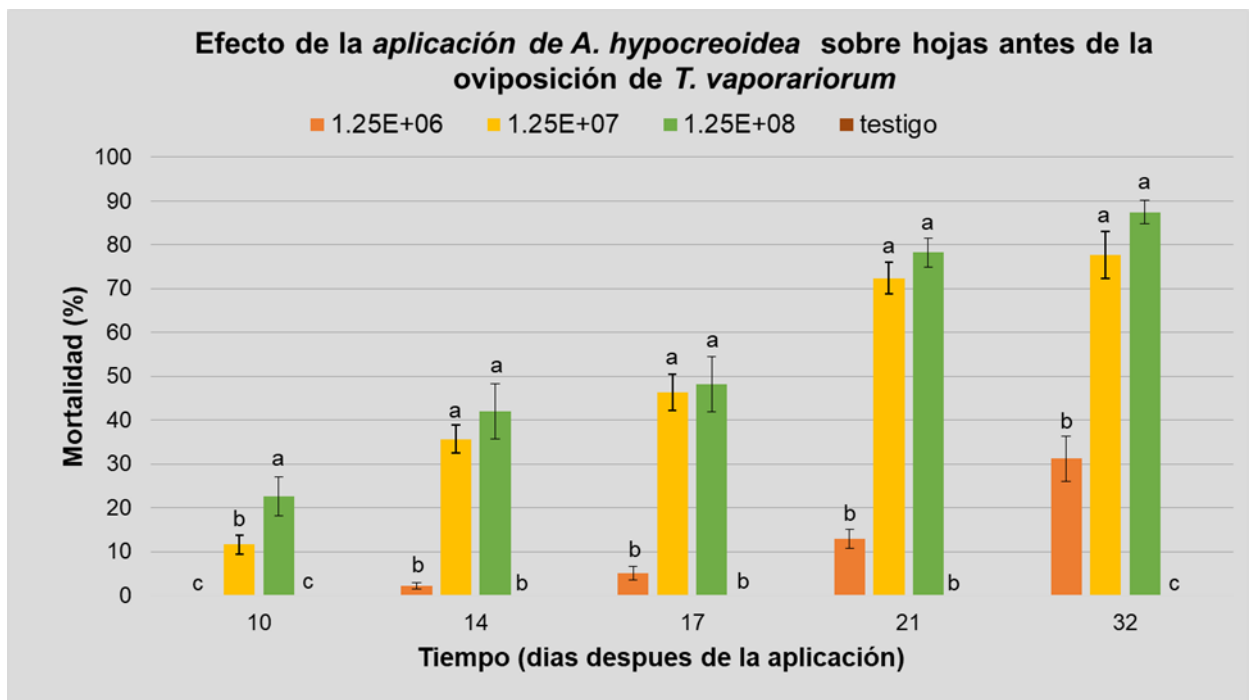


Figura 12. Efecto de *A. hypocreioidea* sobre ninfas de *T. vaporariorum* antes de la infestación en tres concentraciones. Valores promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de 0.05.

4.3 Objetivo 3: Determinar la Patogenicidad y Residualidad de *A. hypocreioidea* en Tres Concentraciones Contra *T. vaporariorum*, Aplicado en Huevos Sobre Hojas de Frijol

Como en el experimento descrito anteriormente, la mortalidad aumentó al incrementar la cantidad de conidias depositadas; así como el tiempo de exposición al hongo (Fig. 12). Dicho efecto osciló entre 2.11 y 87.42%; la mayor mortalidad fue observada a los 32 días después de la aplicación con la concentración más alta (1.25×10^8). Qiu *et al.* (2013) reportó rangos similares de mortalidad a los producidos en este experimento, pero en periodos más cortos de evaluación (12 días). Los tratamientos más altos fueron estadísticamente diferentes al más bajo y al control a partir de los 14 días. En ambos experimentos, el hongo no produjo esporas sobre los cadáveres. Esto es una

diferencia importante respecto a lo reportado por Qiu *et al.* (2013) quienes indican esporulación a los 11 días después de la aplicación. Esta condición, observada en ambos experimentos, nos permitió atribuir mortalidad registrada a lo largo del periodo de evaluación a una residualidad real de las aplicaciones de conidias; en otras palabras, las conidias aplicadas inicialmente fueron causantes de la mortalidad observada a lo largo de las observaciones durante varias semanas. Esto difiere radicalmente del comportamiento común que se puede observar en otros hongos entomopatógenos usados en forma experimental, los cuales esporulan sobre los cadáveres y producen de esta manera más inóculo infeccioso que sigue matando a los insectos que sobreviven a las inoculaciones iniciales (Maketon *et al.*, 2009; Mascarín *et al.*, 2013).

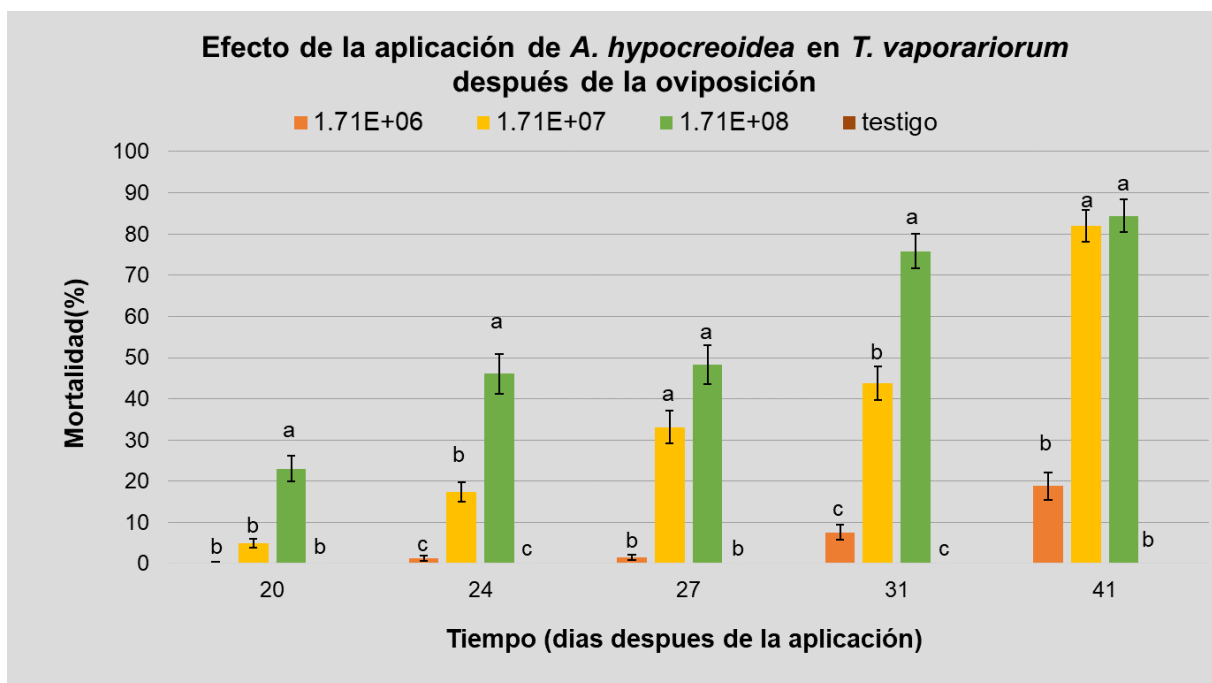


Figura 13. Efecto de *A. hypocreoides* sobre ninfas de *T. vaporariorum* después de la oviposición, en tres concentraciones. Valores promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de 0.05.

5. CONCLUSIONES

La cepa aislada de hongo entomopatógeno en este trabajo fue identificada como la especie *Aschersonia hypocreoidea*, por lo tanto, se confirma la presencia de este organismo en Güémez, Tamaulipas en huertas de naranjo.

En los dos experimentos (Aplicación de tres concentraciones de conidias antes y después de la oviposición), una pequeña cantidad de ninfas que sobrevivieron a la aplicación de conidias, lograron completar su ciclo y se reprodujeron. Éstas dieron lugar a una nueva progenie de ninfas que posteriormente se infectaron por el hongo aplicado al inicio de los experimentos, lo cual indica una residualidad de 30 a 45 días. Por lo tanto, el empleo de éste patógeno es una opción viable en términos económicos en comparación al costo de los insecticidas químicos, ya que presenta una residualidad considerable para integrarlo en un esquema de manejo.

La especificidad de las especies del género *Aschersonia*, permite emplear otros organismos de control biológico (parasitoides y depredadores) sin que sean afectados por el hongo, lo cual puede contribuir a reducir las poblaciones de mosquitos blancos en los cultivos.

6. LITERATURA CITADA

- Acosta Díaz, E., Acosta Gallegos, J. A., Amador Ramírez, M. D., & Padilla Ramírez, J. S. (2008). Relación entre índice de área foliar y rendimiento en frijol bajo condiciones de secano. *Agricultura Técnica en México*, 34(1), 13-20.
- Aragão, T. M., dos Santos, J. V., Santos, T. S., Souto, E. B., Severino, P., Jain, S., & da Costa Mendonça, M. (2021). Scientific-technological analysis and biological aspects of entomopathogenic fungus *Aschersonia*. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 24, 100562.
- Araya, C. M. (1989). La antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* Número 13 (septiembre 1989), páginas 83-91.
- Araya, J. E., & Cáceres, R. (2018). Heterópteros míridos depredadores de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), en particular *tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) observado en Chile central. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 28(2), 6-19.
- Arredondo Bernal, H. C., & Rodríguez del Bosque, L. A. (2008). Casos de control biológico en México
- Baker, C. J., Stavely, J. R., Thomas, C. A., Sasser, M., & MacFall, J. S. (1983). Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology*, 73(8), 1148-1152.
- Berger, E. W. (1921). Natural enemies of scale insects and whiteflies. *Quarterly Bulletin of Florida State Plant Board.*, 5, 141-154.
- Berrocal-Ibarra, S., Ortiz-Cereceres, J., & Peña-Valdivia, C. B. (2002). Yield components, harvest index and leaf area efficiency of a sample of a wild population and a domesticated variant of the common bean *Phaseolus vulgaris*. *South African Journal of Botany*, 68(2), 205-211.
- Borja-Bravo, M., Osuna-Ceja, E. S., Arellano-Arciniega, S., García-Hernández, R. V., & Martínez-Gamiño, M. Á. (2018). Competitividad y eficiencia en la producción de frijol

en condiciones de temporal con tecnología tradicional y recomendada. *Revista fitotecnia mexicana*, 41(4), 443-450.

Bueno, J. M., Cardona, C., & Chacon, P. (2005). Fenología, distribución espacial y desarrollo de métodos de muestreo para *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (líptera: Aleyrodidae) en habichuela y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 161-169.

Byrne, D. N.; Bellows, T.S.; Parrella, M.P. 1990. Whiteflies in agricultural systems, pp. 227-251. In: Whiteflies: Their Bionomics. Pest Status and Management (D. Gerling, Ed.). Intercept, Ltd., Andover, Hants, UK.

Calvo, F. J., Knapp, M., van Houten, Y. M., Hoogerbrugge, H., & Belda, J. E. (2015). *Amblyseius swirskii*: what made this predatory mite such a successful biocontrol agent? *Experimental and Applied Acarology*, 65(4), 419-433.

Carapia Ruiz, V. E., & CASTILLO-GUTIÉRREZ, A. (2013). Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta zoológica mexicana*, 29(1), 178-193.

Castrejón Antonio, J. E. (2012). Potenciación de la producción de enzimas degradadoras de cutícula a partir de dos aislamientos monospóricos de *beauveria bassiana* (BALS) vuillemin para mejorar el biocontrol de la conchuela del frijol, *epilachna varivestis* (MULSANT) (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Celis-Velázquez, R., Peña-Valdivia, C. B., Luna-Cavazos, M., & Aguirre, R. (2010). Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 27, 61-87.

Chaverri, P., Liu, M., & Hodge, K. T. (2008). Neotropical *Hypocrella* (anamorph *Aschersonia*), *Moelleriella*, and *Samuelsia* (No. 60). *CBS Fungal Biodiversity Centre*.

Echemendía Gómez, A. L., Ramos González, P. L., Villarreal, N., Martínez, A. K., González Arias, G., & Morales, F. J. (2010). Caracterización del virus del mosaico amarillo dorado del frijol en Cuba. *Fitosanidad*, 14(1), 11-17.

- Evans, H. C. (1994). Spore germination in the entomopathogenic genus *Aschersonia*. *Mycological Research*, 98(2), 165-168.
- F. A. O. (2018). Legumbres; Pequeñas semillas, grandes soluciones. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*, 33-37.
- Fernández Valenciano, A. F., & Sánchez Chávez, E. (2017). Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México. *Nova Scientia*, 9(18), 133-148.
- SENASICA, 2021. Fichas técnicas de plagas de frijol
<https://www.gob.mx/senasica/documentos/fichas-tecnicas-de-plagas-del-cultivo-de-frijol?state=published>(Ultima acceso: enero 2023).
- Flores, J. L. R., Moreno, M. T., Moreno, M. A. T., & Brito, J. E. C. (2017). Eficiencia y productividad del cultivo de frijol en un sistema de riego por bombeo en Zacatecas, México. *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 24(2), 152-163.
- Fransen, J. J., Winkelman, K., & van Lenteren, J. C. (1987). The differential mortality at various life stages of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae), by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodís* (Deuteromycotina: Coelomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology*, 50(2), 158-165.
- Fransen, J. J. (1995). Survival of spores of the entomopathogenic fungus *Aschersonia aleyrodís* (Deuteromycotina: Coelomycetes) on leaf surfaces. *Journal of Invertebrate Pathology*, 65(1), 73-75.
- García, E. H., Peña-Valdivia, C. B., Aguirre, J. R., & Muruaga, J. S. (1997). Morphological and Agronomic Traits of a Wild Population and an Improved Cultivar of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany*, 79(2), 207-213.
- García, N. J. R., García, E. A., Kohashi, S. J., Uscanga, M. E., & Peña, V. C. B. (2014). Seed yield and its components of wild and cultivated *Phaseolus vulgaris* L. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 57, 303-304.

- Gepts, P. and Bliss, F.A., 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Econ. Bot.*, 40: 469-478
- González Torres, G., Mendoza Hernández, F. M., Covarrubias Prieto, J., Morán Vázquez, N., & Acosta Gallegos, J. A. (2008). Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del Bajío. *Agricultura Técnica en México*, 34(4), 421-430.
- Hywel-Jones, N. L. (1993). A systematic survey of insect fungi from natural, tropical forest in Thailand. *Aspects of Tropical Mycology*, 300-301.
- Homrahud, D., Uraichuen, S., & Attathom, T. (2016). Cultivation of *Aschersonia placenta* Berkeley and Broom and its efficacy for controlling *Parlatoria ziziphi* (Lucas) (Hemiptera: Diaspididae). *Agriculture and Natural Resources*, 50(3), 179-185.
- Jones, D. R. (2003). Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109(3), 195-219.
- Koenig, R.L., Singh, S.P. and Gepts, P., 1990. Novel phaseolin types in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris* Fabaceae). *Econ. Bot.*, 44: 50-60.
- Koinange, E. M. K., & Gepts, P. (1992). Hybrid weakness in wild *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Heredity*, 83(2), 135-139.
- Koppert, 2023 [Cómo erradicar la mosca blanca de los invernaderos](https://www.koppert.mx/retos/control-de-plagas/moscas-blancas/mosca-blanca-de-los-invernaderos/)<https://www.koppert.mx/retos/control-de-plagas/moscas-blancas/mosca-blanca-de-los-invernaderos/>(ultima accesoión: enero 2023).
- López, SN, Riquelme, MB y Botto, E. (2010). Integración del control biológico y químico de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 36 (2), 190-194.
- Macías, A. F., Díaz, M. P., Ramos-López, M. A., Navarro, S. R., Espinosa, G. R., & Ruiz, D. J. (2013). Estudio del hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* como control microbiológico de la mosquita blanca *Bemisia tabaci*. *Interciencia*, 38(7), 523-527.

- Magalhaes Amade M., J. Auke Postma and J. Paul Lynch. (2015). Phene Synergism Between Root Hair Length and Basal Root Growth Angle for Phosphorus Adquisition. *Plant Physiology*. 167: 1430-1439
- Manzano, M. R., & van Lenteren, J. C. (2009). Life history parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) at different environmental conditions on two bean cultivars. *Neotropical Entomology*, 38, 452-458.
- Maketon, M., Orosz-Coghlan, P., & Hotaga, D. (2009). Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* for controlling Mulberry whitefly *Pealius mori* Takahashi (Homoptera: Aleyrodidae) in mulberry (*Morus alba* Linn). *Journal of Pest Science*, 82, 251-259
- Mascarin, G. M., Kobori, N. N., Quintela, E. D., & Delalibera Jr, 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(3), 209-218.
- Meekes, E. T., Fransen, J. J., & van Lenteren, J. C. (2002). Pathogenicity of *Aschersonia* spp. against whiteflies *Bemisia argentifolii* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 81(1), 1-11.
- Morales-Santos, M. E., Peña-Valdivia, C. B., García-Esteva, A., Aguilar-Benítez, G., & Kohashi-Shibata, J. (2017). Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, domesticado y su progenie. *Agrociencia*, 51(1), 43-62.
- Morales, F. J. (2000). Bean golden mosaic and other diseases of common bean caused by whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivé, E., & Sánchez-Campos, S. (2011). Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual review of phytopathology*, 49, 219-248.
- Navarrete-Maya, R., & Acosta-Gallegos, J. Reaction of common bean varieties to *Fusarium* spp. and *Rhizoctonia solani* in Mexican Highlands.

- Peña Valdivia, C. B., Aguirre, R., Rogelio, J., & Arroyo-Peña, V. B. (2012). El frijol silvestre: Síndrome de domesticación.
- Perea Araujo, L. L. (2006). *Diversidad genética de Begomovirus en cultivos de importancia agrícola en Sinaloa* (Doctoral dissertation).
- Petch, T. (1921). Studies in entomogenous fungi: II. The genera *Hypocrella* and *Aschersonia*. *Annals of the Royal Botanic Gardens, Peradeniya.*, 7, 169-279.
- Pinto, V. M., Carrada, P. O. C., Alarcón, S. R., Aguilar, J. F. S., & Márquez, L. E. C. (2004). Evaluación de alternativas para el manejo integrado de plagas del frijol ejotero en Chapingo, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(4), 385-389.
- Qiu, J., Song, F., Mao, L., Tu, J., & Guan, X. (2013). Time–dose–mortality data and modeling for the entomopathogenic fungus *Aschersonia placenta* against the whitefly *Bemisia tabaci*. *Canadian Journal Of Microbiology*, 59(2), 97-101.
- Ramírez-Rodríguez, D., & Sanchez-Peña, S. R. (2016). Recovery of endophytic *Beauveria bassiana* on a culture medium based on cetyltrimethylammonium bromide. *Biocontrol Science and Technology*, 26(4), 570-575.
- Rani, S. S., Justin, C. G. L., Gunasekaran, K., & Roseleen, S. S. J. (2019). Efficacy of green synthesized silver nanoparticle, plant powders and oil against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) on sorghum seeds. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(5), 38-42.
- Rodríguez, R. R. J. (1983). Resistencia varietal al mosaico dorado del frijol y control químico del vector (mosca blanca) en Papantla, Veracruz. (Tesis licenciatura).
- Ruiz Nájera, R. E., Ruiz Nájera, J. A., Guzmán González, S., & Pérez Luna, E. D. J. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. *Revista internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2), 129-137.
- Russell, L.M. 1977. Hosts and distribution of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Homoptera: Aleyrodidae). U.S. *Department of Agriculture Cooperation of Plant Pest Report*, 2: 449- 458.

- SADER, 2022. La importancia de la producción de frijol en México | <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-importancia-de-la-produccion-de-frijol-en-mexico?idiom=es> (ultima accesoión: Enero, 2023).
- SADER, 2020. Frijol, historia y sabor | <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/frijol-historia-y-sabor> (ultima accesoión: Octubre, 2022).
- SIAP, 2023| Acciones y Programas| Cierre de la producción agrícola | <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>(ultima accesoión: Enero, 2023).
- SICTA, P. R. (2008). Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central
- Singh, S. P., Terán, H., Muñoz, C. G., & Takegami, J. C. (1999). Two cycles of recurrent selection for seed yield in common bean. *Crop Science*, 39(2), 391-397.
- Sisay, B., Tefera, T., Wakgari, M., Ayalew, G., & Mendesil, E. (2019). The efficacy of selected synthetic insecticides and botanicals against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in maize. *Insects*, 10(2), 45.
- Singh, S., & Schwartz, H. (2010). Breeding common bean for resistance to insect pests and nematodes. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(2), 239-250.
- Scorsetti, A. C., Humber, R. A., De Gregorio, C., & López Lastra, C. C. (2008). New records of entomopathogenic fungi infecting *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum*, pests of horticultural crops, in Argentina. *BioControl*, 53, 787-796.
- Schwartz, H. F., Gálvez E, G. E., Schoonhoven, A. V., Howeler, R. H., Graham, P. H., & Flor Montoya, C. A. (1978). Problemas de campo en los cultivos de frijol en America Latina.
- Toledo-Perdomo, C. E. (2019). Enemigos naturales nativos de mosca blanca (Hemiptera: Aleyrodidae) en el cultivo de ejote francés en Chimaltenango, Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 6(2), 98-106.
- Torres, R. I. A., Humber, R. A., & Sánchez-Peña, S. R. (2016). *Zoophthora radicans* (Entomophthorales), a fungal pathogen of *Bagrada hilaris* and *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Pentatomidae and Triozidae): prevalence, pathogenicity, and interplay of

environmental influence, morphology, and sequence data on fungal identification. *Journal of Invertebrate Pathology*, 139, 82-91.

Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. CONACYT.

Vargas, M. M. S., & Sanabria, J (1995). Ensayo de diferentes dosis de *Aschersonia aleyrodis* Webber y parasitismo de *Encarsia formosa* Gahan en ninfas de tercer y cuarto instar de la mosca blanca de los invernaderos. *Revista Colombiana de Entomología*.

Van Eijk, G. W., Roeijmans, H. J., & Seykens, D. (1986). Hopanoins from the entomogenous fungus *Aschersonia aleyrodis*. *Tetrahedron letters*, 27(22), 2533-2534.

Yee, W. L., Toscano, N. C., Hendrix, D. L., & Henneberry, T. J. (1998). Effects of insecticide applications on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) densities and honeydew production. *Environmental entomology*, 27(1), 22-32