

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE  
PULGONES: APLICACIÓN DIRECTA Y ENDOFITISMO

**Tesis**

Que presenta KARLA CRUZ ALDACO  
como requisito parcial para obtener el Grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE  
PULGONES: APLICACIÓN DIRECTA Y ENDOFITISMO

Tesis

Elaborada por KARLA CRUZ ALDACO como requisito parcial para obtener el grado  
de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola



Dr. Sergio René Sánchez Peña

Asesor Principal



Dr. Jerónimo Landeros Flores

Asesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel

Subdirector de Postgrado

UAAAN

## **Agradecimientos**

Quiero agradecer al Dr. Sergio Sánchez Peña, por todo el apoyo y los conocimientos brindados en el transcurso de mi maestría. Ha sido un gran maestro, siempre interesado en el crecimiento de los alumnos y al apoyarme para hacer mi estancia de investigación en Texas A&M University AgriLife Research and Extension en Weslaco, Texas, U. S.

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales, por las atenciones brindadas y revisión de mi tesis.

Al Dr. Jerónimo Landeros Flores, por las atenciones brindadas y revisión de mi tesis.

Al Dr. Raúl T. Villanueva, de Texas A&M University AgriLife Extension and Research, Weslaco, por recibirme en mi estancia de investigación, por su amabilidad, paciencia, por la motivación a finalizar mi estancia y a su familia también por su apoyo.

A la Dra. Gabriela Esparza Díaz, de Texas A&M University AgriLife Extension and Research, Weslaco, por su paciencia y conocimientos brindados, por su apoyo también en mi estancia de investigación y sobre todo por ser una gran amiga.

Al Departamento de Parasitología, por proveerme las instalaciones para la realización de este proyecto.

A Centro Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca académica otorgada durante el periodo de mi Maestría y estancia en el extranjero.

A los alumnos que me apoyaron con la realización de cada uno de mis experimentos, en laboratorio, invernadero y campo:

Verónica Hernández Hernández, también por ser una gran amiga, Paula Angélica Novelo Ramírez, Edgar M. Ibáñez Corona, José Luis Bernabé Becerra, y Gerardo Rojas Lagunés.

A los estudiantes de la Texas A&M University Sergio Dávila, Lauren Fann, Elizabeth Arzola, Samantha, Miguel Arias y Alma Olguín.

## **Dedicatoria**

Quiero agradecer especialmente a Dios y a mi familia por todo el apoyo otorgado para el cumplimiento de mis objetivos y metas, pero sobre todo por el cariño y el amor incondicional gracias mama María del Carmen Aldaco Díaz y a mi papa Sergio Luis Cruz Esquivel por estar siempre conmigo, a mis hermanos Karina Cruz Aldaco y Sergio Luis Cruz Aldaco, por hacerme reír en todo momento, por apoyarme en la resolución de dudas y siempre estar ahí conmigo cuando más lo he necesitado, pues mas no podría esperar, muchísimas gracias.

Resumen

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE  
PULGONES: APLICACIÓN DIRECTA Y ENDOFITISMO

POR

KARLA CRUZ ALDACO

MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. SERGIO RENÉ SÁNCHEZ PEÑA –ASESOR–

SALTILLO, COAHUILA

DICIEMBRE 2015

Los pulgones, *Melanaphis sacchari* y *Rhopalosiphum padi*, afectan a cereales, ambos son vectores que transmiten virus y son de las plagas más serias a nivel mundial. Los hongos entomopatógenos, tienen la capacidad de controlar plagas. En el presente trabajo se evaluaron seis hongos entomopatógenos para determinar su potencial en el control de *M. sacchari* en bioensayos de laboratorio. Posteriormente, tres cepas fueron probadas en invernadero y dos en campo. En el laboratorio, se aplicaron suspensión de los seis hongos en discos de hojas de sorgo, posteriormente, se colocaron diez pulgones adultos en las hojas. Se preparó una suspensión de esporas, se monitoreo el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72h. El porcentaje más alto de mortalidad de *M. sacchari* fue de 90% a las 72h con *B. bassiana*-2879, seguido de *B. bassiana*-2883 con 87.55 %, *M. brunneum*-3738 con 82 %, agua (45.28%). En invernadero, los hongos, *B. bassiana*-2883, *M. brunneum*-3738, y *I. poprawskii*-7028 fueron aplicados a las plantas y se realizaron conteos de las poblaciones de *M. sacchari*. La cepa *M. brunneum*-3738, obtuvo la población más baja de *M. sacchari* (12.16%) en comparación con otros tratamientos. En campo, la población de *M. sacchari* por planta, fue significativamente menor, en el sorgo tratado con *B. bassiana*-2883 (59.35%) de la población áfidos, en comparación con el control (64.94%) y *M. brunneum*-3738 (139.63%). El conteo se llevó a cabo durante 14 días en las plantas de sorgo. *M. brunneum*-3738 y *B. brunneum*-2883 son cepas virulentas que tienen potencial para controlar a *M. sacchari*. También se determinó si el hongo entomopatógeno, *M. brunneum* (6M11), está presente como endófito y si tiene efectos sobre las poblaciones de *R. padi* y se verificó si estaba presente como endófito en las plantas de trigo. Se realizó una suspensión de esporas para las semillas y se colocaron en el sustrato. En invernadero, se colocó un pulgón en plantas de 23 días para iniciar crecimiento de la población. La obtención del hongo en las hojas de las plantas 69.1% en las hojas, mientras que para las raíces fue 139.1 % a la concentración de 0,3 g/L en el CTAB, comparado con los testigos en las hojas de 0.1 % y 0.8 % en las raíces. Para la concentración de 0.15 g/L con la presencia de *M. brunneum*, 1.2 % en hojas y 2.3 % en las raíces y para los testigos del 0%, respectivamente, todos contenían el antibiótico doxiciclina. El hongo endófito *M. brunneum* no tiene un importante efecto en la población acumulada de los pulgones, sin embargo, puede colonizar las plantas de trigo como endófito sin dañar a su hospedero.

**Palabras clave:** Endófito, hongo, pulgones, entomopatógeno, *Beauveria bassiana*  
*Metarhizium brunneum*, *Isaria* spp., control biológico.

Abstract

ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FOR BIOLOGICAL CONTROL OF APHIDS:  
APPLICATION DIRECT AND ENDOPHYTES

BY

KARLA CRUZ ALDACO

MASTER IN SCIENCE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY  
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. SERGIO RENÉ SÁNCHEZ PEÑA -ADVISER-

SALTILLO, COAHUILA

DECEMBER 2015



The aphids, *Melanaphis sacchari* y *Rhopalosiphum padi*, affect to cereals, both are vectors that transmit viruses and pests are more serious at the global level. The entomopathogenic fungi, have the ability to control pests. In the present work, we evaluated six entomopathogenic fungi to determine its potential in the control of *M. sacchari* in laboratory bioassays. Subsequently, three strains were tested in the greenhouse and two in the field. In the laboratory, were applied suspension of the six fungi in leaf discs of sorghum, subsequently, placed ten adult aphids on the leaves. Prepared a spore suspension, is monitoring the percentage of mortality at 24, 48 and 72h. The highest percentage of mortality of *M. sacchari* was 90% at 72 h with *B. bassiana*-2879, followed by *B. bassiana*-2883 with 87.55 %, *M. brunneum*-3738 with 82 %, water (45.28 %). In the greenhouse, fungi, *B. bassiana*-2883, *M. brunneum*-3738, and *I. poprawskii*-7028 were applied to the plants and counts of the populations of *M. sacchari*. The strain, *M. brunneum*-3738, obtained the lowest population of *M. sacchari* (12.16 %) in comparison with other treatments. In the field, the population of *M. sacchari* per plant was significantly lower in the sorghum treaty with *B. bassiana*-2336 (59.35 %) of the aphid population, when compared with the control (64.94 %) and *M. brunneum*-3738 (139.63 %). The count was carried out during 14 days in the sorghum plants. *M. brunneum*-3738 and *B. bassiana*-2883 are virulent strains that have the potential to control *M. sacchari*. It is also determined if the entomopathogenic fungus. Furthermore, It was determined if the entomopathogenic fungus, *M. brunneum* (6M11), it is present as endophyte and if you have effects on the populations of *R. padi* and checked if it was present as endophyte in wheat plants. There was a spore suspension for the seeds and were placed in the substrate. In a greenhouse, was placed in an aphid plants for 23 days to start growth in the population. We obtained of the plants endophytic fungus 69.1 % in the leaves, while for the roots was 139.1 % to the concentration of 0.3 g/L in the CTAB, compared with the control in the leaves of 0.1 % and 0.8 % in the roots. For the concentration of 0.15 g/L with the presence of *M. brunneum*, 1.2 % in leaves and 2.3 % in the roots and to the control of the 0 %, respectively, all contained the antibiotic doxycycline. The endophyte fungus *M. brunneum* does not have a significant effect on the cumulative population of aphids, however, you can colonize the wheat plants as endophyte without damage to its host.

**Key words:** Endophyte, fungus, aphids, entomopathogenic *Beauveria bassiana*  
*Metarhizium brunneum*, *Isaria* spp, biological control.

## Índice General

|   |      |
|---|------|
| Agradecimientos .....   | iii  |
| Dedicatoria .....   | iv   |
| Abstract .....  | viii |
| INTRODUCCIÓN .....  | 1    |
| Objetivos Específicos .....   | 2    |
| REVISIÓN DE LITERATURA.....   | 3    |
| El pulgón amarillo del sorgo, <i>Melanaphis sacchari</i> (Zehnthner, 1897).....                       | 3    |
| Adultos.....  | 3    |
| Ninfa .....   | 3    |
| Distribución geográfica.....  | 4    |
| Clasificación taxonómica.....   | 5    |
| El pulgón de los cereales, <i>Rhopalosiphum padi</i> L .....  | 6    |
| Adulto .....  | 6    |
| Ninfa .....   | 7    |
| Ciclo de vida y biología.....   | 7    |
| Origen y distribución geográfica .....  | 7    |
| Clasificación taxonómica.....   | 8    |
| Control Biológico .....   | 8    |
| Depredadores.....   | 10   |
| Hongos entomopatógenos endófitos .....  | 11   |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 13   |
| Parte 1. Evaluación de aplicaciones de hongos contra el pulgón del sorgo, <i>M. sacchari</i><br>..... | 13   |
| 1 a. Recuperación de cepas de entomopatógenos .....   | 13   |
| 1b. Bioensayo en laboratorio contra <i>M. sacchari</i> .....  | 15   |
| 1c. Pruebas en invernadero (tres cepas) contra <i>M. sacchari</i> .....                               | 16   |
| 1d. Pruebas en campo contra <i>M. sacchari</i> .....  | 16   |
| Parte 2. Inducción de <i>M. brunneum</i> como endófito en plantas de trigo.....                       | 17   |

|   |    |
|---|----|
| 2a. Preparación de semillas para la obtención del hongo endófito <i>M. brunneum</i> ....      | 17 |
| 2b. Recuperación del endófito en plantas de trigo.....  | 18 |
| 2c. Efecto del hongo endófito <i>M. brunneum</i> sobre poblaciones de <i>R. padi</i> en trigo | 18 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....  | 19 |
| 1a. Bioensayo en laboratorio contra <i>M. sacchari</i> .....                                  | 19 |
| 1b. Experimento en Invernadero de tres cepas .....  | 22 |
| 1 c. Experimento en campo de dos cepas .....  | 23 |
| 2a. Aislamiento de <i>M. brunneum</i> como endófito.....                                      | 25 |
| 2b. Efecto del hongo endófito <i>M. brunneum</i> sobre poblaciones de <i>R. padi</i> .....    | 28 |
| REFERENCIAS .....   | 32 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> El pulgón del sorgo, <i>Melanaphis sacchari</i> , Zehntner.....  | 3  |
| <b>Figura 2.</b> Distribución mundial del pulgón amarillo del sorgo, <i>Melanaphis sacchari</i> .....   | 5  |
| <b>Figura 3.</b> El pulgón de los cereales, <i>Rhopalosiphum padi</i> , L.....  | 6  |
| <b>Figura 4.</b> Distribución cosmopolita del el pulgón de los cereales, <i>Rhopalosiphum padi</i> ...  | 7  |
| <b>Figura 5.</b> El modelo muestra como el hongo entomopatígeno, por medio de las conidias aéreas se adhiere a la cutícula del insecto y se introduce al insecto.....                         | 10 |
| <b>Figura 6.</b> Depredadores de pulgones.....  | 11 |
| <b>Figura 7.</b> Hongo endófito.....  | 12 |
| <b>Figura 8.</b> Los porcentajes de mortalidad más elevados de los pulgones.....  | 22 |
| <b>Figura 9.</b> Población de pulgón del sorgo, <i>Melanaphis sacchari</i> en plantas de sorgo, después de la aplicación de hongos.....   | 23 |
| <b>Figura 10.</b> Cantidad de pulgones en plantas de trigo inoculadas por el hongo endófito <i>M. brunneum</i> (182.9% ± 15.99) y no inoculadas (Testigo) (205.6% ± 26.38) $p < 0.3400$ ..... | 24 |
| <b>Figura 11.</b> El hongo entomopatígeno endófito <i>M. brunneum</i> .....   | 25 |
| <b>Figura 12.</b> Recuperación del hongo endófito <i>M. brunneum</i> de las hojas de la planta de trigo en medio selectivo, CTAB y antibiótico, doxiciclina.....                              | 27 |
| <b>Figura 13.</b> Recuperación del hongo endófito <i>M. brunneum</i> de las raíces de las plantas de trigo en medio selectivo, CTAB y antibiótico, doxiciclina.....                           | 28 |
| <b>Figura 14.</b> A. El pulgón de los cereales ( <i>Rhopalosiphum padi</i> ). B. El pulgón de los cereales infectado por <i>M. brunneum</i> .....   | 29 |
| <b>Figura 15.</b> Cantidad de pulgones en plantas de trigo inoculadas por el hongo endófito <i>M. brunneum</i> (182.9% ± 15.99) y no inoculadas (Testigo) (205.6% ± 26.38) $p < 0.3400$ ..... | 29 |

## Lista de Tablas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Seis cepas de hongos entomopatógenos proporcionadas por el Dr. Richard A. Humber de la USADA-ARS colección de hongos entomopatógenos (Ithaca, NY).....   | 14 |
| <b>Tabla 2.</b> Porcentaje de mortalidad y supervivencia de ninfas, adultos y progenie de <i>M. sacchari</i> , probados con los surfactantes Tritón X-100 y Tween 20 a la concentración 0.05%, para el bioensayo en laboratorio..... | 20 |
| <b>Tabla 3.</b> La media del número de colonias de <i>Metarhizium</i> en 350µl de extractos de plantas (hojas y raíces).....   | 26 |

## INTRODUCCIÓN

Tanto el pulgón amarillo del sorgo, *Melanaphis sacchari*, (Zehntner), como el pulgón de los cereales, *Rhopalosiphum padi*, L., (Hemiptera: Aphididae) afecta a cereales y ambos son un vectores que transmiten el virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV), además es una de las plagas más serias a nivel mundial (Pettersson *et al.*, 1994; Medina *et al.*, 2009). El pulgón, *M. sacchari* afecta a sorgo (*Sorghum bicolor*, L.), otro cultivo importante y relacionado con la misma familia de las Poaceas, es anual de verano tolerante a sequias, presenta panícula abierta y racimos de flores (Dial, 2012). Su producción está en su mayoría enfocada al consumo animal, se utiliza como forraje, ensilaje, heno o para pasto, también se elabora harina, pan, galletas y algunos dulces, tiene una producción de 8,394, 056.77 toneladas y un rendimiento de 4.17 ton/ha (SIAP, 2014), mientras que el pulgón *R. padi* afecta el cultivo del trigo (*Triticum aestivum*, L.), es un planta gramínea anual con espigas, se desarrolla en climas subtropicales, templados o ligeramente fríos. Los granos de este cultivo, pueden ser blandos o duros, se muelen para la obtención de harina para pan. Tiene una producción a nivel nacional de 3,669, 814.71 toneladas con un rendimiento de 5.19 ton/ha (SIAP, 2014). Ambos pulgones poseen un aparato bucal chupador para penetrar en la planta y succionar la sabia, produce clorosis y posteriormente marchitez (Singh *et al.*, 2004; Descamps y Sánchez, 2011), producen una mielecilla que es expulsada por los cornículos como desecho y cae en las hojas propiciando el crecimiento del hongo fumagina (Armstrong *et al.*, 2015; Pettersson *et al.*, 1994).

Los hongos entomopatógenos, tienen la capacidad de controlar plagas (Meyling y Eilenberg, 2007). Estos pueden encontrarse naturalmente en el medio ambiente, como propágulos en el suelo, infectando insectos, como simbioses, formando asociaciones con las raíces de las plantas (Rodríguez *et al.*, 2009) y pasan parte de su ciclo de vida dentro de los tejidos de estas (Vega *et al.*, 2008), sin causarles daño aparente, pueden ser una alternativa para el control biológico de plagas (Meyling y Eilenberg, 2007; Hasana *et al.*, 2012), los hongos, *Metarhizium*, *Beauveria*, *Isaria* y *Lecanicillium*., han sido encontrados como endófitos en diferentes cultivos de interés agronómico y también algunos han sido formulados como productos para el control de plagas (Vega *et al.*, 2008; Radic, 2012). El

control químico está generando contaminación y problemas al medio ambiente, lo cual repercute también en la salud humana, por eso se requieren alternativas como los hongos entomopatógenos. Para estos problemas se buscan alternativas como los hongos entomopatógenos endófitos que proveen de protección a las plantas contra los insectos plaga, nematodos, patógenos y no dañan a la planta (Vega, 2008). Los pulgones, *M. sacchari* y *R. padi*, están causando daños económicos a nivel mundial, en la producción de trigo, debido a sus altas poblaciones se concentra en grandes cantidades sobre los cultivos.

### **Objetivo General**

Evaluar diferentes cepas de hongos entomopatógenos contra *Melanaphis sacchari* y *Rhopalosiphum padi* en plantas de sorgo y trigo.

### **Objetivos Específicos**

1. Evaluar los efectos de hongos entomopatógenos (*Metarhizium*, *Beauveria*, *Isaria*) sobre *Melanaphis sacchari*, bajo condiciones de laboratorio, invernadero y campo.
2. Inducir la presencia de *Metarhizium brunneum* como endófito en hojas de plantas de trigo.
3. Determinar el efecto del hongo endófito *Metarhizium brunneum* sobre *Rhopalosiphum padi*.

### **Hipótesis**

- Los hongos entomopatógenos aplicados directamente reducirán significativamente la población de *Melanaphis sacchari*.
- El hongo *M. brunneum* endófito reducirá significativamente la población de *Rhopalosiphum padi* en trigo.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### **El pulgón amarillo del sorgo, *Melanaphis sacchari* (Zehntner, 1897)**

Es actualmente una de las más recientes plagas a nivel mundial y especialmente en América una de las plagas económicas más importantes que están causando pérdidas económicamente en el cultivo del sorgo (Fig.1).

#### **Adultos**

Los adultos son color amarillo claro a grisáceo, con una longitud de 1.10-1.90 mm, las antenas tiene generalmente 6 segmentos con una longitud mayor a la del cuerpo, se presenta en forma alada y áptera, cornículos de color negro (estas estructuras se encuentran emparejadas con la parte posterior del abdomen) y los tarsos que contrastan con el resto del cuerpo. Todas las hembras viven 28 días (rango de 10-37 días) (Brown *et al.*, 2014; Seiter *et al.*, 2014; Villanueva *et al.*, 2014; Ali y Mzhr, 2012).



**Figura 1.** El pulgón del sorgo, *Melanaphis sacchari* Zehntner (fotografía por Karla Cruz Aldaco, Texas A & M University AgriLife Extension).

#### **Ninfa**

Las ninfas, varían en sus colores y depende de la planta que se alimente y las condiciones ambientales, van desde un amarillo pálido hasta tonalidades verde-grisáceas en las formas más desarrolladas. Pasa por cuatro instares y puede llegar a ser adulto de 5-12 días, los

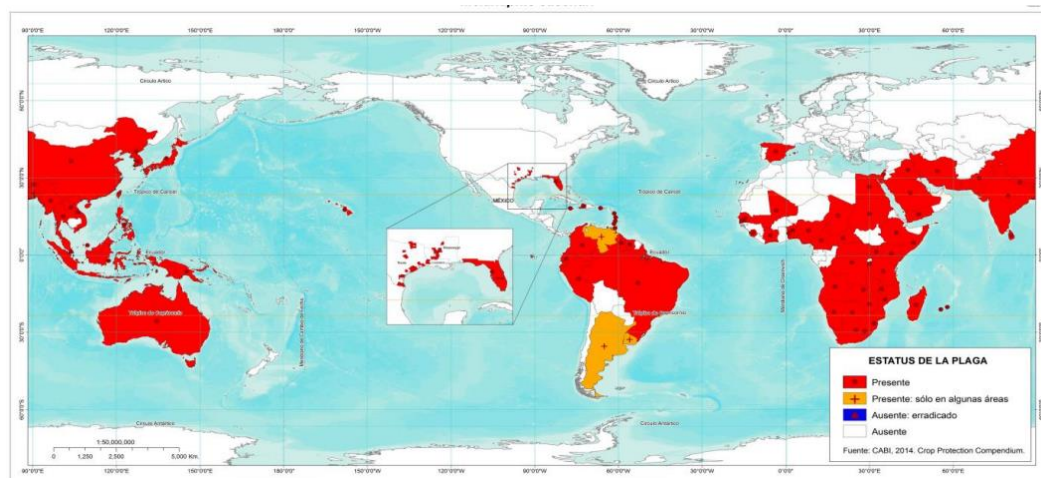
últimos presentan parches marrones distribuidos aleatoriamente sobre el tergo abdominal; a veces las líneas intersegmentadas marrones (Brown *et al.*, 2014; Villanueva *et al.*, 2014).

### **Ciclo de vida y biología**

Su reproducción comienza después de su última muda. La reproducción asexual con adultos ápteros y alados vivíparos hembras, cada hembra puede tener hasta 46 ninfas; la reproducción sexual se presenta por la bajo condiciones del medio ambiente, ambos encuentran el aparte en el envés de la hoja (abaxial), de las plantas de sorgo. Algunos pulgones alados presentan manchas negras en la parte dorsal escleretis (tergitos). La reproducción sexual, se presenta en sorgo, pero no se ha reportado en qué tipo de condiciones ambientales puede surgir y las temperaturas para la proliferación de este pulgón van desde los 15-31°C. Estos pulgones están adaptados tanto al cultivo de la caña (*Saccharum* spp.) como el del sorgo (*Sorghum* spp.), durante el invierno se le pueden encontrar en cultivos alternos como, *S. verticilliflorum*, *S. halepense* (L.), *Panicum maximum.*, *Oryza* spp., *Echinochloa* spp., y *Setaria* spp (Singh *et al.*, 2014; White *et al.*, 2001; ICRISAT, 1985). Causa daños a las hojas e inflorescencias, se alimenta por medio de su aparato bucal chupador, tomando los nutrientes del floema, como consecuencia causa decoloraciones amarillas a cafés y desecha una mielecilla por los sifones que propicia el crecimiento del hongo fumagina, también causa daños a la cosecha de los productores (Armstrong *et al.*, 2015; Seiter *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2014).

### **Distribución geográfica**

Su distribución geográfica alrededor del mundo, comprenden Asia, África, Angola, Brasil, China, Colombia, Ecuador, Egipto, Etiopía, Haití, Hawái, India, Indonesia, Japón, Jamaica, Nigeria, Pakistán, Perú, Filipinas, Sudan, Tailandia, Trinidad, Tobago y Venezuela. Donde causan importantes daños económicos, en China, Japón, India, Sudáfrica, Estados Unidos y recientemente en México (Fig.2) (Singh *et al.*, 2004; Villanueva y Sekula, 2014).



**Figura 2.** Distribución mundial del pulgón amarillo del sorgo, *Melanaphis sacchari*. SENASICA, 2014.

### Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Familia: Aphididae

Género: *Melanaphis*

Especie: *Melanaphis sacchari* Zehntner

### **El pulgón de los cereales, *Rhopalosiphum padi* L**

Es considera uno de los insectos plaga más importante que afectan los cereales alrededor del mundo. Se alimentan del trigo en cualquier etapa de su crecimiento, de la savia de la planta por medio de su aparato bucal chupador a través del floema por el cual transmiten el virus enanismo amarillo de la cebada (BDYV), los síntomas que produce son amarillamiento de las hojas, las plantas se atrofian en el caso de las plantas de avena se vuelven rojizas y no se desarrollan; y al producir mielecilla como desecho esta produce el famoso hongo fumagina que hace que las hojas se tornen pegajosas y negras finalmente (Pettersson *et al.*, 1994; Descamps y Sánchez, 2011).

#### **Adulto**

Los adultos son de tamaño medio oval, con coloraciones variadas que van desde verde, oliva, amarillo oscuro a verde oscuro, una característica que los distingue, es las dos manchas color rojo, que se encuentran al final de la parte dorsal de el abdomen cerca de los sifones que son de color oscuro, las antenas son cortas y se dividen de 5-6 segmentos, los ápteros miden 1.65 mm de largo y los alados 1.5 -2.20 mm (Ali y Mzhr, 2012).



**Figura 3.** El pulgón de los cereales, *Rhopalosiphum padi*, L (fotografía por Karla Cruz Aldaco, UAAAN).

### **Ninfa**

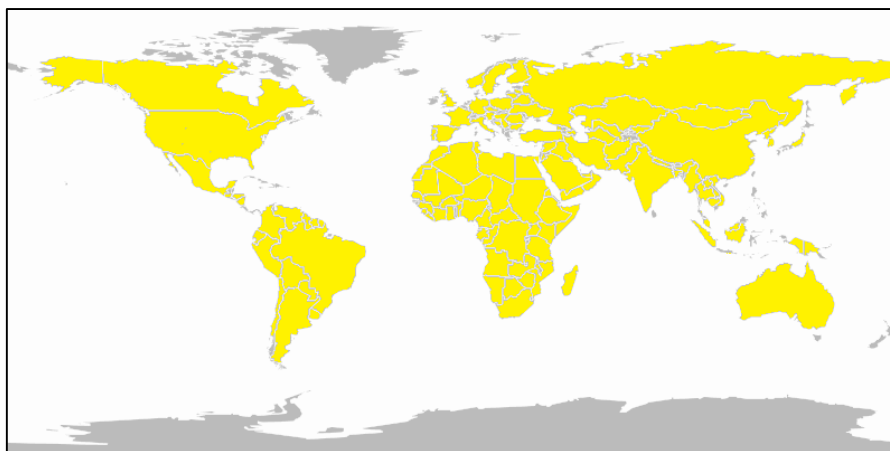
Las ninfas son parecidas al adultos, el color varia de amarillo o verde pálido, presenta cuatro estadios ninfales, el primer instar presenta cuatro segmentos, el segundo, presenta cinco segmentos el tercero seis segmentos al igual que el cuarto (pupa) (Patch, 1917) de 10-14 días dependiendo de la temperatura pasan a ser adultos capaces de reproducirse.

### **Ciclo de vida y biología**

Se presume que tienen ambos tipos de reproducción, tanto la sexual como la asexual (partenogénesis), se han encontrado áfidos machos dentro de las poblaciones (Van Emden y Harrington, 2007), hiberna en tiempo exclusivamente en la etapa de huevo en *Prunus* spp., en el cual es plaga primaria durante el otoño, en los meses de Mayo a principios de Junio, los alados emigran a los cereales, donde son plagas secundarias, comienzan su crecimiento en primavera, durante esta etapa se establece, donde las hembras ápteras comienzan a generar poblaciones con crecimiento exponencial, finalmente baja la población al punto del decline (Leather y Dixon, 1981; Chiverton, 1987). Otros hospederos secundarios, pueden encontrarse en el cultivo de la avena (*Avena sativa* L.) maíz (*Zea mays* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L) (Ruíz *et al.*, 2013).

### **Origen y distribución geográfica**

Este puede tener un origen neártico, como lo son varias especies de América del Norte, y tiene una distribución cosmopolita (Fig.4) (Van-Emden y Harrington, 2007).



**Figura 4.** Distribución cosmopolita del el pulgón de los cereales, *Rhopalosiphum padi*.

### **Clasificación taxonómica**

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Familia: Aphididae

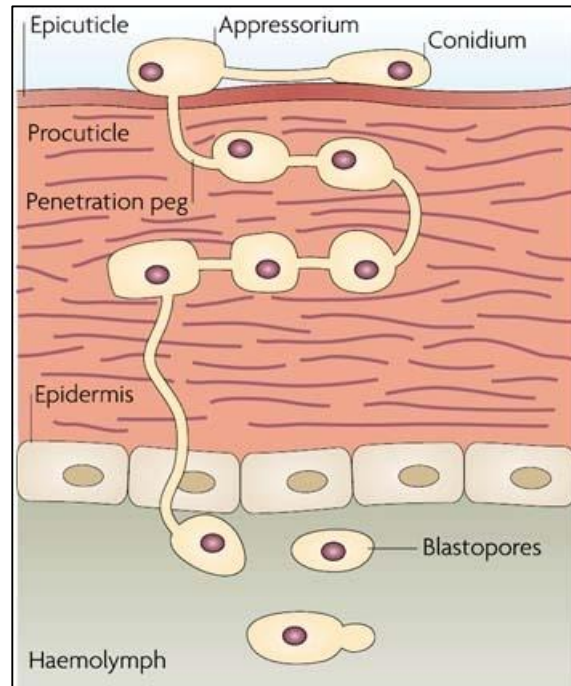
Género: Rhopalosiphum

Especie: *Rhopalosiphum padi*, L.

### **Control Biológico**

Los hongos entomopatógenos comenzaron a ser estudiados a principios de 1800, cuando afectaron a la industria de los gusanos de seda en Francia; Angostino Bass, demostró que *Beauveria bassiana*, era quien causaba lo que en ese tiempo se conocía como la enfermedad muscardina del gusano de seda, posteriormente en Rusia, fue descubierto en un estudio otro hongo que llamaron muscardina verde, que hoy es conocido como *Metarhizium anisopliae* y fue descubierto por Metchnikoff y así fue como comenzó el campo de investigación para los hongos entomopatógenos (Vega *et al.*, 2009). Estos hongos, son capaces de controlar plagas en forma natural y puede llegar a ser una alternativa atractiva para evitar el uso de pesticidas químicos, no afectan a las plantas, animales y medio ambiente (Sevim *et al.*, 2012). Todos los hongos entomopatógenos son únicos, se estiman aproximadamente 750-1000 especies de hongos que han sido descritos, entre ellos destacan los géneros de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea*, los cuales tienen la capacidad de ser patógenos para un variado número de insectos que se encuentren alimentándose de la plantas, la temperatura adecuada para el desarrollo de estos hongos es de los 25°-30°C. El ciclo de vida de estos hongos se lleva a cabo dentro de los insectos y plantas como endófitos. En el caso de los insectos, primero una espora se adhiere a la cutícula del insecto y por medio de enzimas (proteasas, quitinasas, y lipasas), posteriormente desarrolla un tubo germinativo, seguido de un apresorio, el cual desarrolla cadenas de hifas y se introducen en las capas epidérmicas del

insecto, llegando a la última capa conocida como hemocele que es la cavidad estomacal del insecto, donde se desarrollan las blastosporas que comienzan a crecer desarrollar hifas y tomar los nutrientes, finalmente estas emergen, se producen esporas y comienza de nuevo el ciclo (Fig. 5) (Vega y Kaya, 2012). Existen problemas para combatir a los pulgones, debido a que su reproducción es partenogenética tienden a convertirse en grandes masas, que posteriormente son difíciles de controlar; sin embargo ahongos que se entomopatógenos que se encuentran naturalmente infectando a los áfidos como *Pandora neoaphidis* que infectan a *Aphis pisum*, este hongo no afecta a los depredadores de los pulgones, por el contrario se dice que los depredadores propician a su propagación como es el caso de *C. septempunctata* y *A. ervi*; en el caso del pulgón *Microlophium carnosum* y *A. nemorum* que dispersan *B. bassiana*. En el campo 87.6% de las muertes son propiciadas por micosis, 94.4% por Entomophorales e Hypocreales (Barvestock *et al.*, 2010), se han probado algunos hongos entomopatógenos tanto en laboratorio como a nivel invernadero contra pulgones, como *Beauveria* (Hypocreales: Cordycipitaceae), *Metharhizium* (Hypocreales: Clavicipitaceae), *Isaria* (Hypocreales: Cordycipitaceae) y *Lecanicillium* (Hypocreales: Cordycipitaceae) (algunas de estas cepas son comerciales) contra *Myzus persicae*, *Aphis gossypii* y *Aulacorthum solani*, donde el hongo que causo más mortalidad para *M. persicae* fue *Beauveria* con un 62 % seguido de *Metarhizium* con un 47% e *Isaria* con un 24%; de igual manera para *A. gossypii*, 57% con *Beauveria*, *Metarhizium* 49% y 31 % con *Isaria* (Jandricic *et al.*, 2014). En otro trabajo se aplicó *V. lecanii* (*L. lecanii* actualmente) contra *R. padi*, donde la mayor mortalidad fue alcanzada por el hongo fue 95% a la temperatura de 21°C o 27°C (Hsiao *et al.*, 1992).

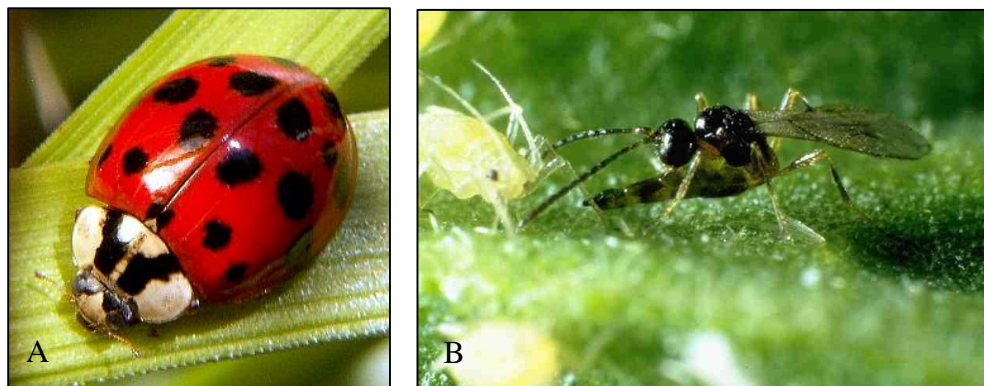


**Figura 5.** El modelo muestra como el hongo entomopatógeno, por medio de las conidias aéreas se adhiere a la cutícula del insecto y se introduce al insecto, Thomas y Read, 2007.

### Depredadores

Los depredadores y patógeno que se han registrado y controlan el pulgón amarillo de la caña de azúcar, son patógeno, *Lecanicillium lecanii*, predadores *Diomus terminatus* Say (Coleoptera: coccinellidae), *Allograpta exotica* (Wiedemann) (Diptera: Syrphidae), *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), *Chrysoperla externa* (Hagan) (Neuroptera: Hemerobiidae) *Coleomegilla maculata fuscilabris* (Mulsant), *Cycloneda sanguinea* (L.), *Hippodamia convergens* Guerin y *Ola v-nigrum* Mulsant (Coleoptera: Coccinellida) (White *et al.*, 2001) y para el pulgón de los cereales, son *Aphidius colemani* (Vierec), *Aphidius matricariae* Haliday, *Diaeretiell rapae* M'Intoch, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson), *Tetragnatha laboriosa* Ilemtz y *Clubiona pikei* Certsh (Ruiz *et al.*, 2013).



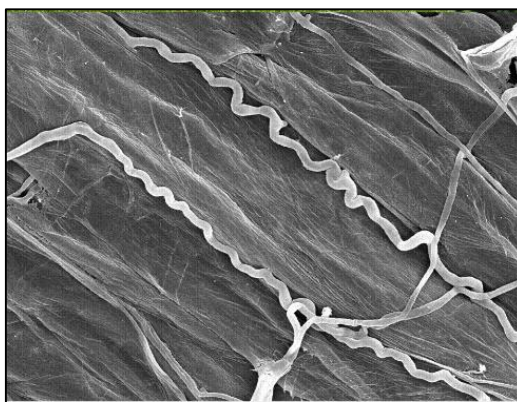


**Figura 6.** Depredadores de pulgones. A) *Harmonia axyridis* (Fotografía por Bruce Marlin, [http://www.wou.edu/~baumgare/Asian\\_Ladybird\\_Beetle.html](http://www.wou.edu/~baumgare/Asian_Ladybird_Beetle.html)). B) *Aphidius collemanni* (Fotografía por KOPPERT, [http://www.entocare.nl/english/products\\_aphids.htm](http://www.entocare.nl/english/products_aphids.htm)).

### **Hongos entomopatógenos endófitos**

Los hongos han pasado por procesos evolutivos para la sobrevivencia, algunos son saprofitos, heterótrofos, otros son parásitos obligados o no obligados u otros forman relaciones simbióticas con otros organismos. Los hongos entomopatógenos endófitos, juegan un papel importante dentro del medio ambiente, se encuentran dentro de los tejidos de las plantas, en las hojas, tallos y raíces, no causan daños aparentes y forman asociaciones simbióticas (Rodríguez *et al.*, 2009). Algunos hongos han sido aislados de tejidos de plantas y pueden ser inducidos al endofitismo de manera artificial, como *Beauveria* spp, *Metarhizium* spp., *Isaria* spp., y *Lecanicillium* spp., otros pueden ser antagonistas o producir antibiosis de insectos plaga y patógenos de plantas, brindándoles protección, también se los conoce por ser promotores del crecimiento (Vega *et al.*, 2009; Castillo *et al.*, 2014). Se han llevado a cabo estudios sobre los hongos que han sido probados contra insectos, encontrándose de manera endófitica en plantas, ya sea naturalmente o inducido artificialmente al endofitismo; existe un hongo que se conoce como endófito de raíces, *Acremonium strictum*, se inocularon en las plantas de *Vicia faba* con *A. strictum* de una suspensión de conidios de  $10^6$  y plantas no inoculadas; encontraron que reduce la alimentación de *A. fabae* y también se detectó un aumento en la producción de néctar en las plantas (Jaber y Vidal, 2009). En otro estudio, se utilizó *Neotyphodium*

*coenophialum* como endófito y *Adalia bipunctata* en las gramíneas *Lolium arundinacea* contra *R. padi*, ambos hongos afectaron a los pulgones, se descubrió que las colonias de pulgón que se establecieron en las plantas con hongo, no producen pulgones alados y se disminuía la población en general (Züst *et al.*, 2008). En un estudio que se realizó en invernadero, se utilizaron los hongos *B. bassiana* y *P. lilacinum*, se inocularon semillas de las plantas de algodón, con la suspensión de conidios de  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$ , probado tres ensayos con la cepa *B. bassiana* como endófitos en plantas de algodón contra *A. gossypii*, en el primer ensayo *B. bassiana* no se afectó significativamente el testigo, pero si fueron encontrados como endófito, al igual que en el segundo y el tercer experimento, observaron los mismos resultados, *B. bassiana* como endófitos no fue efectivo contra *A. gossypii*, por el contrario para el hongo *P. lilacinum*, el número de pulgones presentó variabilidad y fue significativo con relación al tiempo, sin embargo como endófito no se obtuvo un valor significativo (Castillo *et al.*, 2014), algunos hongos podrían tener mayor compatibilidad con sus hospederos y variar el grado de endofitismo en cada uno, pero también los pulgones dañan menos a las plantas cuando el endófito se encuentra presente, seis especies de pastos probadas en un estudio, *P. alsodes* con un hongo endófito, fue el único pasto que redujo la preferencia de *R. padi*, sin embargo no presentó ningún efecto sobre el pulgón, sabemos también que esto se presenta también en campo (Crawford *et al.*, 2010), esto se convierte en un beneficio que abre más el interés en la investigación de este tipo de hongos.



**Figura 7.** Hongo endófito (Fotografía por Dennis W. Hancock, Department of Crop and Soil Sciences, <http://extension.uga.edu/publications/detail.cfm?number=C861>).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Parte 1. Evaluación de aplicaciones de hongos contra el pulgón del sorgo, *M. sacchari***

#### **1 a. Recuperación de cepas de entomopatógenos**

Las seis cepas de los hongos entomopatógenos utilizados, fueron seleccionadas de 9 cepas (recuperadas de muestras liofilizadas), proporcionadas por el Dr. Richard A. Humber del USDA-ARS de la colección de cultivos de hongos entomopatógenos (Ithaca, NY) (Tabla 1). Estas cepas fueron inoculadas en 100 mL de caldo Luria (triptona al 1%, extracto de levadura al 0.5%, y NaCl al 1%) en el matraz Erlenmeyer de 250 mL y se incubaron a una temperatura de 27 °C a 160 rpm durante 14 días. Después de la incubación, los hongos entomopatógenos fueron inoculados con una asa bacteriológica estéril en medio de agar papa dextrosa (infusión de papa 4.0, dextrosa a 20.0 mg, agar 15.0 mg) y extracto de levadura en polvo (proteína 69.69 %) durante 20 días en la oscuridad a 27 °C, para obtener diez cajas de Petri para cada cepa (Kim *et al.*, 2013).

| <b>Cepa</b>  | <b>Clave y Autor</b>                       | <b>Descripción (hospedero y origen)</b>   |
|--|--|---|
| <i>Beauveria bassiana</i>                                | 2336 [ARSEF 2883]<br>MG Feng<br>(SGBB8601) | <i>Schizaphis graminum</i> [Hemiptera:<br>Aphididae] en trigo. 9 Jul 1986.<br>USA: Apple Valley Rd. & Klahr.,<br>Parma, Idaho.  |
| <i>Beauveria bassiana</i>                                | 2879 MG Feng<br>(DN8805).                  | <i>Diuraphis noxia</i> [Hemiptera:<br>Aphididae] en cebada. 27 Jul 1988.<br>USA: Parma, Idaho.  |
| <i>Isaria fumosorosea</i><br>Wize                        | 3322 Yoder Bros. Inc<br>(F2-4 BR).         | <i>Bemisia tabaci</i> [Hemiptera:<br>Aleyrodidae] on Gerbera sp. Dec<br>1990. USA: Fort Myers, Florida.   |
| <i>Isaria fumosorosea</i><br>Wize                        | 5260 SARL (10) –SP<br>Wraight (SPW-16)     | <i>Bemisia tabaci</i> [Hemiptera:<br>Aleyrodidae] Broccoli. 18 Nov<br>1992. USA: Santa María, Texas.  |
| <i>Isaria poprawskii</i> ,<br>Humber, de León<br>& Jones | 7028 HE Cabanillas.                        | <i>Bemisia argentifolii</i> [Hemiptera:<br>Aleyrodidae] en <i>Solanum</i><br><i>melongena</i> L., berenjena en<br>invernadero. 28 Sep 2001. USA:<br>Kika de la Garza Subtropical<br>Agricultural Reserch Center,<br>Weslaco, Texas. CULTURE EX<br>TYPE. |
| <i>Metarhizium</i><br><i>brunneum</i> Petch              | 3738 SR Sánchez<br>Peña.                   | Alado, <i>Solenopsis invicta</i><br>[Hymenoptera: Formicidae]. 6 Jul<br>1992. USA: Texas A&M<br>University, campus, College Station,<br>Texas.  |

**Tabla 1.** Seis cepas de hongos entomopatógenos proporcionadas por el Dr. Richard A. Humber de la USADA-ARS colección de hongos entomopatógenos (Ithaca, NY).

### **1b. Bioensayo en laboratorio contra *M. sacchari***

Se realizó un estudio preliminar para seleccionar el surfactante que no afectara el bioensayo principal. Comparamos Triton® X-100 (aMResco® Poly (-1, 2 ethanedily Oxy), alfa.-[4-(1, 1, 3, 3-tetrametilo de butilo) fenil]-. Omega.-hidroxi) contra Tween® 20 (Poly (oxy-1, 2-ethanediy) aMResco®). Porta objetos alargados, se colocaron en las esquinas de cada uno un cinta adhesiva transparente de doble cara, cinco adultos y cinco ninfas del 2-3 de *M. sacchari* fueron pegados a la cinta por el dorso utilizando un pincel de 5/0. Los adultos y ninfas, ya montados sobre los porta objetos, fueron inmediatamente sumergidos en 3 soluciones (Triton® X-100, Tween® 20 y Agua destilada estéril) diferentes por cinco segundos. La solución contenía los dos agentes tensioactivos (Tween® 20 (0.05%) y Triton® X-100 (0.05%) descritas anteriormente y agua destilada fue utilizada para comparar como testigo. El número de repeticiones fueron cuatro. Todos los portaobjetos, con los pulgones ya montados y tratados con las tres soluciones, fueron colocados en una cámara de crecimiento a  $25 \pm 1.5^\circ \text{C}$  y  $64 \pm 2\% \text{RH}$  (Kim *et al.*, 2013; Quesada *et al.*, 2006). Los porcentajes de mortalidad y reproducción se registraron a las 24 y 48 horas.

Para preparar la suspensión de esporas de las seis cepas, se utilizó el protocolo siguiente. La concentración fue cambiada al 0.02% del surfactante, Triton® X-100 (para prevenir la interferencia de esta con la mortalidad de los pulgones) fue agregado en agua destilada estéril y se añadió en la caja Petri, donde se recuperó la suspensiones de esporas (Jandricic *et al.*, 2014). Para determinar el número total de esporas por mililitro, fueron contadas en cámara de Neubauer (Hausser Scientific Neubauer, 0.1 mm de profundidad). De las suspensiones de esporas, se tomaron 50  $\mu\text{l}$  para aplicarlos a una hoja de sorgo en forma de disco (20 mm de diámetro). La hoja de sorgo en forma de disco fueron desinfectadas con NaClO al 0.1% durante 30 segundos, seguido de alcohol (95%) durante 30 segundos, y se hicieron lavados con agua destilada estéril, para eliminar los desechos. Posteriormente, la hoja de sorgo (con la superficie abaxial) se colocó sobre un pedazo de algodón (BBA Fiberweb) dentro de una caja Petri (35 de diámetro x 10 mm de profundidad, Corning Life Sciences, N.Y.). Las hoja previamente tratadas con las suspensiones de hongos, fueron colocadas en la campana de flujo laminar y se dejaron las cajas Petri abiertas, para que la suspensión de esporas se secase con el aire estéril.

Posteriormente, los diez pulgones adultos de *M. sacchari* (pulgones adultos que fueron obtenidos en el campo experimental de AgriLife, son la primera generación de pulgones que produjo ninfas, estas fueron tomadas y colocadas en plantas de sorgo en el laboratorio y todas las ninfas tenían aproximadamente la misma edad, se les dejó crecer durante cinco días, estos estaban libres de parasitoides y otras contaminaciones) fueron colocados en la hoja de sorgo. Las mortalidades de *M. sacchari* fueron evaluadas a las 24, 48 y 72 h a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$  y  $64 \pm 0.4$  % de HR. Los estudios fueron realizados del 14 al 24 de julio de 2015 (durante 11 días). Los datos de mortalidad fueron analizados con la prueba de Fisher (LSD) ( $p \leq 0.05$ ), ANOVA (Statistica 12, StatSoft inc., Tulsa, EE.UU.).

### **1c. Pruebas en invernadero (tres cepas) contra *M. sacchari***

Las plantas individuales de sorgo (semillas de Pioneer B3G19, no tratadas) fueron cultivadas en macetas el 5 de junio de 2015 y emergieron una semana después. Dos pulgones adultos de *M. sacchari* fueron colocados en las plantas individuales el 24 de julio de 2015. Estas plantas fueron colocadas estantes que tenían una cubierta de maya, para evitar la entrada de otros insectos y estaban divididos en cuatro secciones en invernadero a  $24^{\circ}\text{C} \pm 0.7$  % y  $63 \pm 0.6$  % de HR. Después de cinco días, se realizó un conteo previo de las poblaciones de pulgones sobre las hojas. Posteriormente, las suspensiones de esporas fueron preparadas con *B. bassiana*-2883 a la concentración de  $6.882 \times 10^7$  esporas/mL, *Metarhizium brunneum*-3738 a la concentración de  $5.190 \times 10^7$  esporas/mL, e *Isaria poprawskii* -7028 a la concentración de  $5.465 \times 10^7$  esporas/mL y aplicadas por aspersión a las plantas, junto con el testigo (agua). Los conteos de pulgones vivos fueron realizados durante el 4, 7, 11 y 14 días después de las aplicaciones de los hongos. Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento.

### **1d. Pruebas en campo contra *M. sacchari***

Las pruebas de campo, se efectuaron en los terrenos experimentales de Texas A&M University, AgriLife, ubicado en Weslaco, Texas, USA. Se aplicaron dos cepas, *B. bassiana*-2883 y *M. brunneum*-3738. Se realizó un conteo previo en las plantas de sorgo de la población de *M. sacchari*, el 5 de agosto del 2015. Un día después, se prepararon las suspensiones de esporas, para obtener  $7.025 \times 10^7$  esporas/mL de *M. brunneum*-3738 y

$6.907 \times 10^7$  esporas/mL de *B. bassiana*-2883, en comparación con el agua como testigo. Las parcelas estaban conformadas por cuatro filas de plantas del cultivo de sorgo, que tenían 120 días de haber emergido. Posteriormente, fueron rociadas en la parte foliar, con bomba agrícola montada en tractor, el 6 de agosto de 2015. El cultivo de sorgo (DKS37-07) se encontraba localizado al Oeste de la estación (FT1027-1 8.608/AC) y las plantas tenían 101.6 cm de separación entre hileras. Las condiciones del clima (temperatura y la humedad relativa), al momento de ser aplicadas las suspensiones de esporas fueron de 29 °C y 77 %, respectivamente. Para el conteo, dos hojas fueron tomadas por planta (hoja posterior e inferior de la planta) al azar por parcela y se comenzó desde la parte oriente de la parcela en dos filas de cada parcela, durante el 6, 8, 14 días posteriores a la aplicación y el conteo previo.

## **Parte 2. Inducción de *M. brunneum* como endófito en plantas de trigo**

### **2a. Preparación de semillas para la obtención del hongo endófito *M. brunneum***

La cepa *Metarhizium brunneum*, fue proporcionada por el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, está identificada en una colección de hongos como 6M11, posteriormente en un bioensayo este hongo se recuperó de plantas de limón (*Citrus*) (Fig.6 A y B). Las semillas de trigo que se utilizaron para la inoculación del hongo *M. brunneum* y testigo, fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 %, alcohol al 70 % durante 1 minuto y posteriormente se hicieron lavados cinco veces con agua destilada estéril. Se hizo una suspensión de esporas (100 mL de agua estéril y  $3.475 \times 10^7$  esporas/mL); posteriormente el conteo de esporas en la cámara de Neubauer Marienfeld (0.1 mm). Las semillas se remojaron en la suspensión de esporas (10 minutos) y también se espolvorearon en cajas Petri con esporas secas (Tefera y Vidal, 2009), luego se colocaron en el sustrato (suelo). En el testigo, las semillas de trigo fueron desinfectadas, pero no inoculadas con el hongo. Después de 7 a 8 días, las plantas de trigo (presumiblemente colonizadas por el endófito) fueron obtenidas. Para comprobar que la cepa fúngica fue en efecto patogénica, los pulgones alados adultos fueron inoculados por inmersión en una suspensión de esporas ( $1 \times 10^8$  esporas/mL) y se colocaron en cajas Petri

con secciones de hoja de trigo y mantuvieron húmeda durante siete días; el desarrollo de hongos y mortalidad de los pulgones fueron observados.

### **2b. Recuperación del endófito en plantas de trigo**

Para el aislamiento del endófito de las plantas de trigo, hojas y raíces fueron desinfectadas en alcohol al 70%, hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%, durante 30 segundos y se realizaron cinco lavados con agua destilada estéril. Posteriormente, se licuaron hojas y raíces por separado durante un 1 min en 40 mL de agua destilada estéril con Bionex<sup>®</sup> al 0.5 % (componente comercial alcohol tridecílico polioxietileno 20.2%, Nonil fenol polioxietileno 5.20%, propilenglicol 5.50%, Arysta LifeScience, México, S.A. de C. V.). 350 µL del extracto de plantas (hojas y raíces) licuadas fueron agregadas a cajas de Petri con CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (C<sub>19</sub> H<sub>42</sub> NBr), aMResco<sup>®</sup>, Ohio, U. S.) a la concentración de 0.3 g/L y 0.15 g/L y antibiótico doxiciclina al 1 g/L (Valsyn<sup>®</sup>NF, Pisa, México, S.A. de C. V.) y PDA (Agar Papa Dextrosa). Dos semanas después de procesar en el laboratorio los extractos de las plantas inoculadas de trigo en medios selectivos, las colonias de los hongos se observaron al microscopio, donde se confirmaron las características taxonómicas del hongo, posteriormente las colonias de *M. brunneum* fueron contadas en el tratamiento y el testigo.

### **2c. Efecto del hongo endófito *M. brunneum* sobre poblaciones de *R. padi* en trigo**

El pulgón, *R. padi*, fue obtenido en el bajío de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Las plantas de trigo (*Triticum* spp), junto con los pulgones, fueron propagadas a nivel de invernadero y asegurándose que estuvieran libres de parasitoides. Posteriormente, para el experimento un pulgón hembra (tomado de las colonias de pulgones) fue colocado en plantas inoculadas con endófito de 23 días de haber emergido (20 plantas/maceta) para iniciar el crecimiento de la población a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  y humedad relativa de  $21.2 \pm 3\%$  (parámetros del experimento).

Diez macetas para testigo y diez macetas con plantas inoculadas con el hongo fueron utilizadas. Los conteos de las poblaciones de pulgones fueron tomadas en cinco fechas distintas dentro de los 17 días después de la infestación, para determinar el crecimiento de la población en el tratamiento (plantas con el hongo) y plantas de control.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

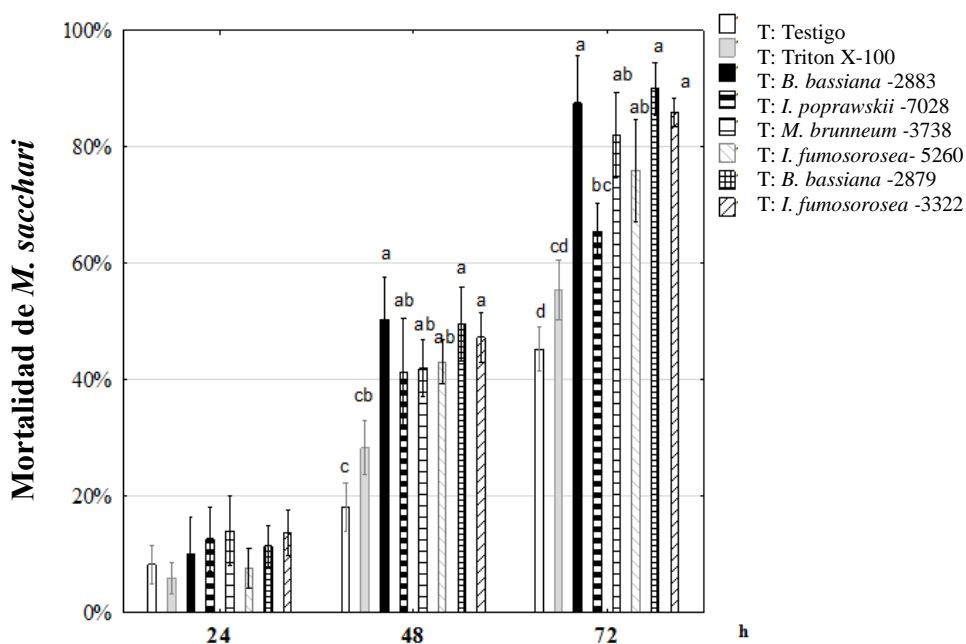
### 1a. Bioensayo en laboratorio contra *M. sacchari*

Los bioensayos con porta objetos mostraron una mortalidad baja de *M. sacchari* con Triton® X-100 en comparación con Tween® 20 para ambos adultos y ninfas de *M. sacchari*, a las 24 h (Tabla 2). La mortalidad para los pulgones adultos a las 24 h fue de 65 %, 15 % y 20.1 % con Tween®20, Triton® X-100 y el testigo (agua), respectivamente y con una ( $p < 0.05$  and  $F_{(2,9)} = 7.18$ ) a las 24 h. Las ninfas mostraron un alto porcentaje de mortalidad del 100% a las 48 h en todos los casos. La progenie de los pulgones adultos mostraron sobrevivencia del  $65 \pm 0.17$  % con Triton® X-100 en comparación con Tween® 20, ( $0 \pm 0\%$ ) (Tabla 2). Los surfactantes utilizados, son para humedecer las esporas y romper la tensión superficial del agua, debido a que en algunos casos las esporas pueden ser hidrofóbicas (Sevim *et al.*, 2012); estos no deben matar a los insectos, por esta razón se utilizó el surfactante Triton® X-100 a una concentración más baja.

| Tratamiento     | Concentración de los surfactante | Mortalidad de los adultos (%)<br>( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) | Mortalidad de las ninfas (%)<br>( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) | Progenie/hembras ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) |
|-----------------|----------------------------------|---|--|---|
| <b>24 horas</b> |                                  |   |  |   |
| Testigo         | 0                                | 20.1 $\pm$ 8.16 a   | 46.2 $\pm$ 8.51a   | 0.5 $\pm$ 0.23                                |
| Tween 20        | 0.05%                            | 65.0 $\pm$ 15.2 b   | 95.1 $\pm$ 5.4 b   | 0 $\pm$ 0                                     |
| Triton X-100    | 0.05%                            | 15.1 $\pm$ 5.3 a  | 60.3 $\pm$ 14.1 a  | 0.65 $\pm$ 0.17                               |
| <i>F- valor</i> |                                  | 7.18 ( $F_{2,9}$ )  | 6.37 ( $F_{2,9}$ )   |   |
| <i>p- valor</i> |                                  | 0.01365   | 0.000015   |   |
| <b>48 horas</b> |                                  |   |  |   |
| Testigo         | 0                                | 70 $\pm$ 19.14  | 100 $\pm$ 0  | 0.65 $\pm$ 0.21 a                             |
| Tween 20        | 0.05%                            | 85 $\pm$ 9.57   | 100 $\pm$ 0  | 0 $\pm$ 0 b                                   |
| Triton X-100    | 0.05%                            | 80 $\pm$ 0  | 100 $\pm$ 0  | 0.55 $\pm$ 0.13 a                             |
| <i>F- valor</i> |                                  |   |  | 6.3 ( $F_{2,9}$ )                             |
| <i>p- valor</i> |                                  |   |  | 0.01945                                       |

**Tabla 2.** Porcentaje de mortalidad y supervivencia de ninfas, adultos y progenie de *M. sacchari*, probados con los surfactantes Tritón® X-100 y Tween® 20 a la concentración 0.05%, para el bioensayo en laboratorio. Letras diferentes son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ), ANOVA y prueba de LSD.  $\bar{x}$  representa la media, SEM, el error estándar y el % de mortalidad de *M. sacchari*.

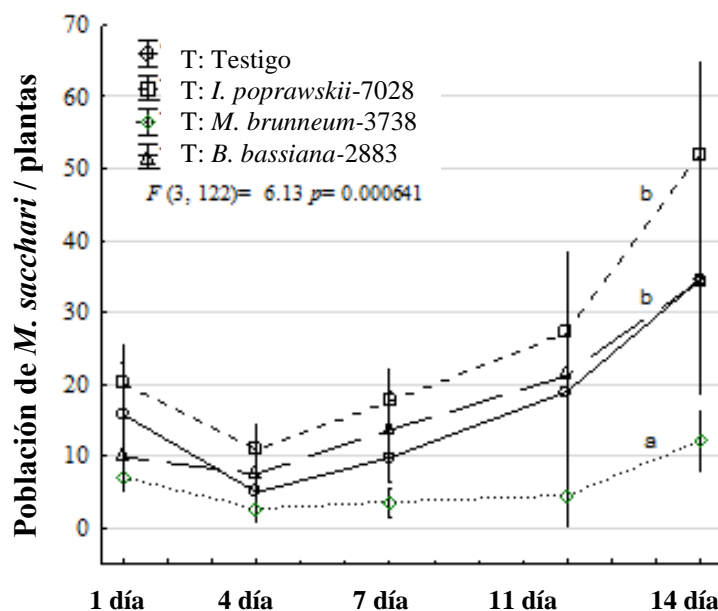
Para el bioensayo en laboratorio con las seis cepas de hongos entomopatógenos, se redujo la concentración al 0.02% del surfactante Triton® X-100, la cual no afectó las esporas de los hongos y los pulgones. Donde se encontró diferencia significativa ( $p < 0.0001$  y  $F_{(7, 126)} = 12.96$ ). Los porcentajes de mortalidad más altos ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) de *M. sacchari* a las 72 h fueron obtenidos por *B. bassiana*-2879 ( $90\% \pm 0.81$ ), seguido de *B. bassiana*-2883 ( $87.55\% \pm 0.81$ ), *M. brunneum*-3738 ( $82\% \pm 0.73$ ), *I. fumorosea*-5260 ( $76.0\% \pm 0.87$ ), *I. fumorosea*-3322 ( $86\% \pm 0.24$ ), *I. poprawskii* -7028 ( $65.55\% \pm 0.48$ ) en comparación con el testigo (agua) ( $45.28\% \pm 0.37$ ), y el Triton® X-100 ( $55.51\% \pm 0.51$ ) (Fig. 8), el efecto de los hongos fue mejor a las 72 horas en comparación con los otros tiempos, esto indica que es más efectivo a largo plazo.



**Figura 8.** Los porcentajes de mortalidad más elevados de los pulgones: *B. bassiana* (90.0%), *I. fumosorosea* (86.0%), *M. brunneum* (82.0%); testigo (45.2%) a las 72 horas. Letras diferentes = dif. significativas (LSD  $p < 0.05$ ). Análisis de Fisher y ANOVA.

### 1b. Experimento en Invernadero de tres cepas

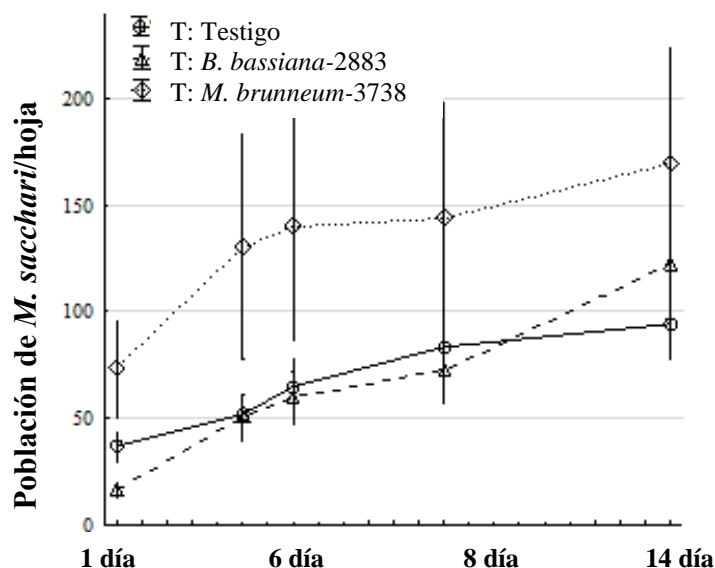
En este estudio se utilizaron cinco plantas por tratamiento, la cepa *Metarhizium brunneum*-3738 tuvo baja población por planta de *M. sacchari* ( $F_{(3,122)} = 6.13$ ;  $p = 0.000641$ ) ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ )  $12.16\% \pm 4.26$  comparado con *B. bassiana*-2883 ( $34.60\% \pm 12.92$ ) e *I. poprawskii*-7028 ( $51.80\% \pm 13.18$ ), donde la población era alta e indistinto con el testigo ( $34.60 \pm 15.79$ ), se muestra efectividad con *M. brunneum*-3738 para invernadero en 14 días después de la aplicación del hongo.



**Figura 9.** Población de pulgón del sorgo, *Melanaphis sacchari* en plantas de sorgo, después de la aplicación de hongos en invernadero. Se obtuvo menor población en *M. brunneum* ( $12.16\% \pm 4.26$ ). Las letras diferentes muestran diferencia significativa (LSD,  $p < 0.05$ ).

### 1 c. Experimento en campo de dos cepas

En el estudio en campo, la población por planta de *M. sacchari*, fue significativamente baja ( $F_{(2,57)} = 4.08$ ;  $p = 0.022$ ), en las plantas de sorgo tratadas con *B. bassiana*-2883 ( $59.35\% \pm 12.44$ ), en comparación con el testigo ( $64.94\% \pm 13.39$ ) y *M. brunneum*-3738, ( $139.63\% \pm 53.33$ ). Antes de hacer las aplicaciones de los hongos, se contaron las poblaciones de *M. sacchari* en las plantas de sorgo, en la parte superior e inferior de las plantas en el campo de Texas A&M University AgriLife Extension, durante los días 6, 8, y 14.



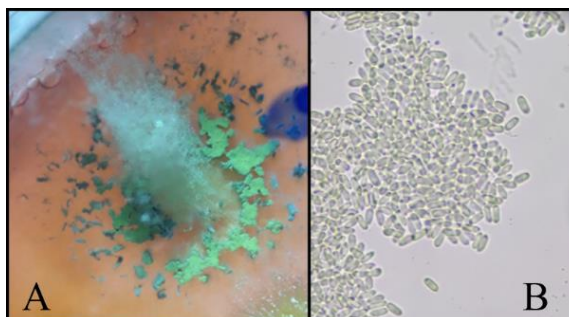
**Figura 10.** Población de pulgón del sorgo, *Melanaphis sacchari* en plantas de sorgo, después de la aplicación de hongos en campo. Hubo diferencias significativas solamente entre *Beauveria* y el testigo para una fecha Análisis de Fisher (LSD).

En un estudio similar en laboratorio, *B. bassiana* fue probado contra diferentes especies de pulgones, donde obtuvieron mortalidades altas de *Schizaphis graminum* (90 %) en el 2 día, *R. padi*, *Brevicoryne brassicae* (100%) en el 7 día, *Lipaphis erysimi* (50%) en el cuarto día a diferentes concentraciones de hongo ( $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$ ) al aplicarlo (Akmal, et al., 2013). En otro estudio probaron 23 aislados de *M. anisopliae*, *M. acridum*, *M. anisopliae* var. *acridum* and *anisopliae* var. *majus* contra el pulgón verde, *Myzus persicae*, obteniendo un 50 % de mortalidad a los 8 días (Shan y Feng, 2010). *Isaria fumosorosea* fue probada contra el pulgón café de los cítricos, *Toxoptera citridus*, a una concentración  $10^7$ , donde no se observó diferencia significativa en comparación con el testigo (Pick et al., 2012), en algunos estudios se indica que la temperatura y la humedad relativa pueden afectar la virulencia de los hongos (Vu et al., 2007). En un experimento en el invernadero, *Beauveria bassiana* y *Lecanicullium lecanii*, fueron probados contra seis pulgones: *Diuraphis noxia*, *Schizaphis graminum*, *Metapolophium dirhodum*, *Sitobion avenae*, *Rhopalosiphum maidis* y *R. padi*, donde el hongo con mayor efectividad en cuanto a LC50

fue *B. bassiana* (Feng *et al.*, 1990). En el experimento en campo. En un experimento en campo, tres cepas de *B. bassiana* fueron aplicadas contra *Myzus persicae*, en cultivos de col, en dos fechas diferentes a una concentración de  $2.0 \times 10^6$ , controlaron a un 87 % la población de pulgones (Michereff *et al.*, 2011).

### 2a. Aislamiento de *M. brunneum* como endófito

Las plantas que fueron inoculadas (350  $\mu$ L/20 plantas) con *Metarhizium*, presentaron una media de  $69.1 \% \pm 32.1$  (los valores son  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) colonias del hongo recuperadas de las hojas y  $139.1 \% \pm 27.48$  de las raíces de la colonia de recuento y extractos vegetales que no se inocularon con el hongo *Metarhizium*, tenían una media de  $0.1\% \pm 0.1$  en hojas y  $0.08\% \pm 0.32$  raíces de las colonias del hongo en CTAB a una concentración de 0.3 g/L en comparación ( $p < 0.0083$ ,  $F_{(3, 36)} = 4.56$ ); y a la concentración de 0.15 g/L de CTAB, la media fue de  $1.2\% \pm 1.19$  en las hojas, para las raíces  $2.3\% \pm 2.29$  y los tratamientos no inoculados  $0\% \pm 0$  ambos (hojas y raíces) comparados ( $p < 0,0001$ ,  $F_{(3, 36)} = 25.06$ ) (Tabla 3) en 10 cajas Petri por tratamiento, indicando que el hongo está presente como endófito en hojas y raíces después de ser inoculado la semilla de trigo; en comparación con el testigo (Fig. 12 y 13). Esto indica que el hongo puede permanecer en la planta durante un mes o incluso más, los datos fueron procesados en el análisis de la varianza (ANOVA) de SAS 9.0, con pruebas de comparación (Tukey y LSD).



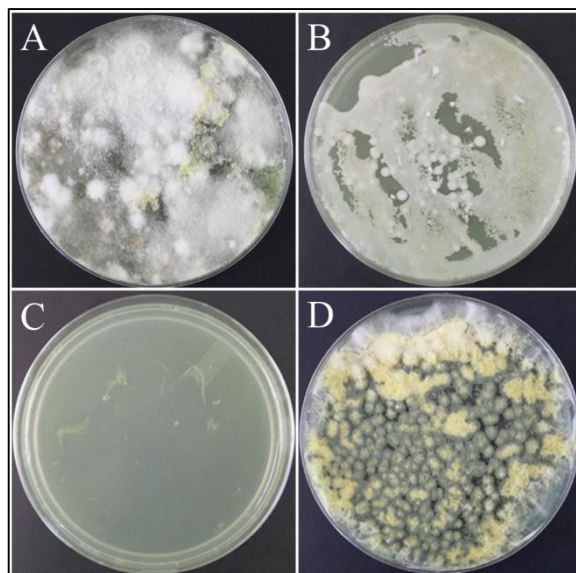
**Figura 11.** El hongo entomopatógeno endófito *M. brunneum*. A) Colonia de *M. brunneum* en medio con antibiótico, doxiciclina. B). Esporas de *M. brunneum*, en forma de bastones (Humber, 2005).

| Tratamientos                       | Concentración de CTAB y Doxiciclina | No. de tratamientos | Colonias del hongo endófito (%) ( $\bar{x} \pm SE$ ) Hojas |
|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------|--|
| <i>Metarhizium</i>                 | 0.3 g/L +1 g/L                      | 10                  | 69.1 $\pm$ 32.1 a  |
| Testigo                            | 0.3g/L + 1g/L                       | 10                  | 0.1 $\pm$ 0.10 b   |
| <i>Metarhizium</i>                 | 0.15 g/L +1 g/L                     | 10                  | 1.2 $\pm$ 1.19 b   |
| Testigo                            | 0.15 g/L +1 g/L                     | 10                  | 0 $\pm$ 0 b  |
| $p < 0.0083$ $F_{(3, 36)} = 4.56$  |                                     |                     |  |
| Raíces                             |                                     |                     |  |
| <i>Metarhizium</i>                 | 0.3 g/L +1 g/L                      | 10                  | 139.1 $\pm$ 27.48 a  |
| Testigo                            | 0.3g/L + 1g/L                       | 10                  | 0.8 $\pm$ 0.32 b   |
| <i>Metarhizium</i>                 | 0.15 g/L +1 g/L                     | 10                  | 2.3 $\pm$ 2.29 b   |
| Testigo                            | 0.15 g/L +1 g/L                     | 10                  | 0 $\pm$ 0 b  |
| $p < 0.0001$ $F_{(3, 36)} = 25.06$ |                                     |                     |  |

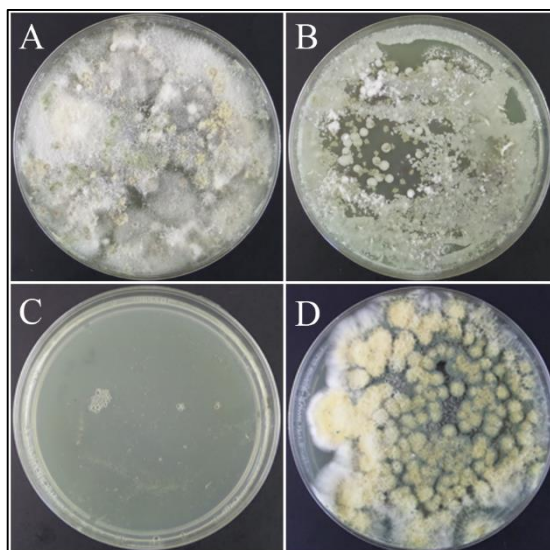
**Tabla 3.** La media del número de colonias de *Metarhizium* en 350 $\mu$ l de extractos de plantas (hojas y raíces). Dentro de las columnas, números de colonias seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.0001$ ). No existe comparación entre hojas y raíces. El símbolo  $\bar{x}$  representa la media, SEM y el % de error estándar de las colonias obtuvo en placa de Petri de *M. brunneum*.





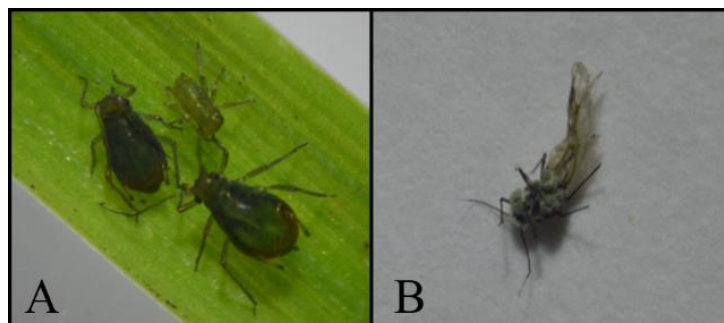
**Figura 12.** Recuperación del hongo endófito *M. brunneum* de las hojas de la planta de trigo en medio selectivo, CTAB y antibiótico, doxiciclina. El testigo (hojas, 12 A (0.3 gr/L) y 12 C (0.15 gr/L)), las plantas no inoculadas con el hongo, el endófito, *M. brunneum*, no surgió de las plantas. En plantas inoculadas con el hongo *M. brunneum* emerge de las hojas, 12 B (hifas sólo en 0.15gr/L), 12 D (colonias con escasa esporulación, en 0.3gr/L).



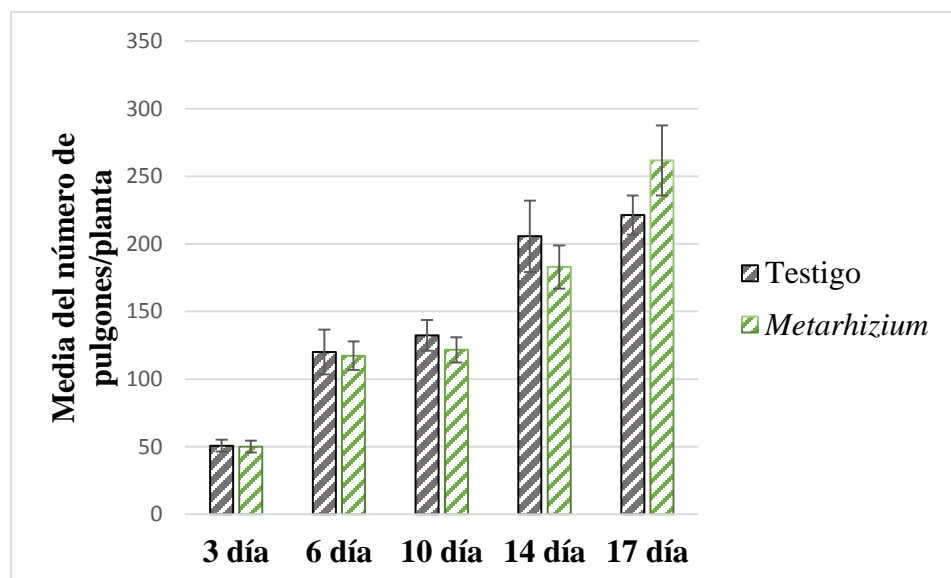
**Figura 13.** Recuperación del hongo endófito *M. brunneum* de las raíces de las plantas de trigo en medio selectivo, CTAB y antibiótico, doxiciclina. El testigo (raíces, 13 A (0.15 gr/L) y 13 C (0.3 gr/L)) las plantas no inoculadas, *M. brunneum* no surgen a partir de extractos de plantas. En las plantas inoculadas, *M. brunneum* surgido (raíces, 13 B (hifas sólo, en 0.15 gr/L), 13 D). Abundante esporulación y desarrollo de numerosas colonias (13 D en 0.3 gr/L).

### **2b. Efecto del hongo endófito *M. brunneum* sobre poblaciones de *R. padi***

En invernadero, un pulgón hembra fue colocado en las plantas de trigo y se contaron las poblaciones durante 17 días. El hongo endófito *M. brunneum* no tiene efecto significativo en la población acumulada del pulgón de los cereales, el pulgón de la avena de la media de  $182.9 \pm 15.99$  y el control  $205.6 \pm 26.38$  comparar con  $p < 0.3400$ ,  $F_{(9, 90)} = 0.15$ , en el día 14 hubo diferencias significativas  $p < 0.0001$   $F_{(9, 90)} = 43.86$ , pero no para el tratamiento  $p < 0.9424$   $F_{(4, 90)} = 0.01$  (Fig.15) en el análisis Tipo III SS y comparación de medias (Tukey y LSD), el endófito no tiene efecto sobre los pulgones indirectamente. Cuando las esporas del hongo se aplican directamente a los pulgones, la cepa infecta claramente los pulgones causando infecciones letales y matando a los pulgones de 3-4 días.



**Figura 14.** A. El pulgón de los cereales (*Rhopalosiphum padi*). B. El pulgón de los cereales infectado por *M. brunneum*.



**Figura 15.** Cantidad de pulgones en plantas de trigo inoculadas por el hongo endófito *M. brunneum* ( $182.9\% \pm 15.99$ ) y no inoculadas (Testigo) ( $205.6\% \pm 26.38$ )  $p < 0.3400$ . ANOVA SAS 9.0, Tukey y LSD.

Otros trabajos similares en donde se utilizaron tres diferentes concentraciones de suspensión de esporas de tres diferentes cepas del hongo *Metarhizium*, aplicaron las suspensiones de esporas en la base de plantas de 14 días de haber emergido e inocularon las suspensiones en cajas Petri con PDA con cloranfenicol 0.5 g/L y agar de malta, los extractos de hojas, tallos y raíces, obtuvieron el 33 % de las cepa Ma 8 en hojas, el 83% Ma 8 y 50% de Ma 2 en raíces (García *et al.*, 2011). En un estudio similar, donde inocularon semillas de sorgo en  $1 \times 10^8$  esporas/mL de suspensión de hongos y se les dejó sobre sustrato estéril durante 20 días, posteriormente los extractos de las hojas y raíces, fueron aplicados a medio de cultivo con agar y Dodine, donde recuperaron un 32% de las hojas y un 48% de las raíces colonizadas por el hongo entomopatógeno *B. bassiana* (Tefera y Vidal, 2009). Probaron el hongo *Acremonium strictum*, que está restringido a raíces; lo inocularon en plantas de *Vicia faba* con una suspensión de esporas de  $10^6$  mL, esto redujo la alimentación de *Aphis fabae* (Jaber y Vidal, 2009). En invernadero, fueron inoculadas cepas de *B. bassiana* y *P. lilacinum*, en semillas de plantas de algodón, en una suspensión esporas de  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$ , en los que se probaron tres experimentos con cada uno los hongos como endófitos contra *Aphis gossypii*. Hubo una alta mortalidad por *B. bassiana* (57%) y *P. lilacinum* (60%) en comparación con el testigo (10%) (Castillo *et al.*, 2014). En un estudio, un hongo endófito *Neotyphodium coenophialum* probado en gramíneas de *Lolium arundinacea* contra pulgón *R. padi*, no afectó a estos pulgones, pero consiguieron que las colonias de pulgón que se encontraban en las plantas con los hongos, no produjeran áfidos alados (Züst *et al.*, 2008).

## CONCLUSIONES

Los hongos entomopatógenos pueden ser aplicados directamente a los insectos plaga y causar infección, dependiendo de las especies de hongos puede variar la virulencia y la patogenicidad. Varias cepas de *Beauveria bassiana*-2879, *Beauveria bassiana*-2883, *Isaria fumosorosea*-3322 y *Metarhizium brunneum*-3738 tienen potencial para controlar *M. sacchari*. La mortalidad más alta fue a las 72 horas en el laboratorio, en invernadero puede tardar 7-14 días. Para campo, hubo pocas diferencias significativas entre los hongos y el testigo; sólo *B. bassiana* produjo reducciones.

Estos hongos también son capaces de colonizar como endófitos en las plantas; pueden estar de manera natural dentro de ellas o se puede inducir al endofitismo en éstas. El hongo entomopatógeno endófito *Metarhizium brunneum* es capaz de colonizar y desarrollarse dentro de las plantas durante al menos 40 días después de la inoculación de hongos; puede colonizar las plantas de trigo como endófito tanto en hojas como en raíces, pero no causar daño a los pulgones, en plantas colonizadas y no colonizadas. Es necesario continuar investigando las interacciones entre hongos entomopatógenos y plagas agrícolas.

## REFERENCIAS

- Armstrong, J. S., Rooney, W. L., Peterson, G. C., Villanueva, R. T., Brewer, M. J., y D. Sekula-Ortiz. 2015. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): host range and sorghum resistance including cross-resistance from greenbug sources. *J. Econ. Entomol.* 108: 576–582.
- Akmal, M., Freed, S., Malik, M. N., y H. T. Gul. 2013. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina : Hypomycetes ) Against different aphid species under laboratory conditions. *Pakistan J. Zool.* 45(1): 71–78.
- Ali, H. B., y N. N. Mzhr. 2012. Pictorial Key to Apterous Aphids Species ( Homoptera : Aphididae , Aphidinae ) Infested grasses (Gramineae ) from several provinces of Iraq *تصلاخلا*. *Mustansiriyah J. Sc.* 23. 201. 57-74.
- Baverstock, J., Roy, H. E., y Judith K. Pell. 2010. Entomopathogenic fungi and insect behavior: from unsuspecting hosts to tag targeted vectors. *The Ecology of Fungal Entomopathogens*. Roy, E. H. Vega, E. F. Chandler, D. Goettel, M. S., Pell, J. K., and Wajnberg eds. Dordrecht Heidelberg London New York, Springer. *Bio. Control.* 55:89-102. 94-96 pp.
- Behie, S. W., Jones, S. J. y M. J. Bidochka. 2015. Plant tissue localization of the endophytic, insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecol.* 13: 112-119.
- Brown, S., Kerns, D., y Julien Beuzelin. 2014. Sugarcane aphids an emerging pest of grain sorghum. *The LSU AgCenter. Lousiana, US.* Pub. 3369.
- Castillo, L. D., Salzam, Z. K., Ramos, E. M. J., y Gregory A. Sword. 2014. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. *PLoS One.* 9 (8): e103891.
- Chiverton, P. A. 1987. Predation of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) by polyphagous predatory arthropods during the aphids' pre-peak period in spring barley. *Ann. Appl. Biol.* 111: 257–269.
- Crawford, K. M., Land, J. M., y J. A. Rudgers. 2010. Fungal endophytes of native grasses decrease insect herbivore preference and performance. *Oecologia.* 164: 431–444.

- Descamps, L. R., y C. Sanchez Chopa. 2011. Population growth of *Rhopalosiphum padi* L. (Homoptera: Aphididae) on different cereal crops from the semiarid pampas of Argentina under laboratory conditions. *Chil. J. Agric. Res.* 71: 390–394.
- Feng M. G., Johnson, B. J., y Leslie P. Kish. 1990. Virulence of *Verticillium lecanii* and an aphid-derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal-infesting aphids (Homoptera: Aphididae). *J. Environ. Entomol.* 19 (3): 815-820.
- García, E. J., Posada, B. J., Peticari, A., y R. E. Lecuona. 2011. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. *Adv. Biol. Res. (Rennes)*. 5 (1): 22–27.
- Golo, P. S., Gardner, D. R., Grilley, M. M., Takemoto, J. Y., Krasnoff, S. B., Pires, M. S., Fernandes, É., K. K. Bittencourt, V. R. E. P., y D. W. Roberts. 2014. Production of destruxins from *Metarhizium* spp. fungi in artificial medium and in endophytically colonized cowpea plants. *PLoS One*. 9 (8): e104946.
- Gonçalves, K., Toigo, E., Ascoli, B., Von, P. G., y V. L. Sardá Ribeiro. 2007. Effects of solvents and surfactant agents on the female and larvae of cattle tick *Boophilus microplus*. *J. Parasitol Res.* 100: 1267-1270.
- Hasana, W. A., Assaf, L. H., y S. K. Abdullah. 2012. Occurrence of entomopathogenic and other opportunistic fungi in soil collected from insect hibernation sites and evaluation of their entomopathogenic potential. *Plant Protection Depart. Bull. Iraq Nat. Hist. Museum*. 12: 19–27.
- Hesler, L. S. 2005. Resistance to *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) in three triticale accessions. *J. Econ. Entomol.* 98(2): 603–610.
- Hsiao, W. F., Bidochka, M. J., y G. G. Khachatourians. 1992. Effect of temperature and relative humidity on the virulence of the entomopathogenic fungus, *Verticillium lecanii*, toward the oat-bird berry aphid, *Rhopalosiphum padi* (Hom., Aphididae). *J. Appl. Entomol.* 114: 484–490.
- Humber, R. A. 2005. Entomopathogenic Fungal Identification. USDA-ARS Plant Protection Research Unit US Plant, Soil & Nutrition Laboratory Tower Road Ithaca, NY. 1-32.
- ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics). 1985. Proceedings of the International Sorghum Entomology Workshop, 15-21 July 1984, Texas A&M University, College Station, TX, USA. Patancheru, A.P. 502 324, India: ICRISAT. Workshop.

- Jaber, L. R., y S. Vidal. 2009. Interactions between an endophytic fungus, aphids and extrafloral nectaries: do endophytes induce extrafloral-mediated defences in *Vicia faba*? *Functional Ecology*. 23: 707–714.
- Jandricic, S. E., Filotas, M., Sanderson, J. P., y Wraighr. 2014. Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae). *J. Invertebr. Pathol.* 118: 34–46.
- Jin, X., Street, D. A., Dunlap, C. A., y M. E. Lyn. 2008. Application of hydrophilic-lipophilic balance (HLB) number to optimize a compatible non-ionic surfactant for dried aerial conidia of *Beauveria bassiana*. *Biol. Control*. 46: 226–233.
- Kim, J., Jeong, G., Han, J., y S. Lee. 2013. Biological control of aphid using fungal culture and culture filtrates of *Beauveria bassiana*. *Mycobiology*. 41(4): 221–224.
- Leather, S. R., y A. F. G. Dixon. 1981. Growth, survival and reproduction of the bird-cherry aphid, *Rhopalosiphum padi*, on its primary host. *Annu. Appl. Biol.* 99: 115–118.
- Medina, O. K. J., Bosque, P. N. A., Ngumbi, Jimenez, M. E. S., y S. D. Eigenbrode. 2009. *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) responses to volatile cues from barley yellow dwarf virus-infected wheat. *Environ. Entomol.* 38: 836–845.
- Meyling, N. V., y J. Eilenberg. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biol. Control*. 43. 145–155.
- Michereff, F. M, Olivera, S. O. D., DE Liz, R., y M. Faria. 2011. Cage and field assessments of *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticides for *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) control in cabbage. *Neotrop. Entomol.* 40. 470–476.
- Mishra, S., Kumar, P., y A. Malik. 2013. Evaluation of *Beauveria bassiana* spore compatibility with surfactants. *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*. 7. 1–5.
- Patch, E. M. 1917. The aphid of choke cherry and grain. *Maine Agricultural Experiment Station. Bulletin.* 267:293-297. Available: <http://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=hvd.32044107206195;view=1up;seq=3>
- Pettersson, J., Pickett, J. A., Pye, B. J., Quiroz, A., Smart, L. E., Wadhams, L. J., y C. M. Woodcock. 1994. Winter host component reduces colonization by bird-cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera, Aphididae), and other aphids in cereal



- fields. *J. Chem. Ecol.* 20: 2565–2574.
- Pick, D. A., Avery, P. B., Hunter, W. B., Powell, C. A., y S. P. Arthurs. 2012. Effect of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) and *lysiphlebus testaceipes* , (Hymenoptera: Braconidae) on the brown citrus aphid: preliminary assessment of a compatibility study. *Florida Entomol.* 95: 764–766.
- Tefera, T., y S. Vidal. 2009. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl.* 54: 663–669.
- Torres, M. S., White, J. F., Zhang, X., Hiton, D. M., y C. W. Bacon. 2012. Endophyte-mediated adjustments in host morphology and physiology and effects on host fitness traits in grasses. *Fungal Ecol.* 5: 322–330.
- Quesada-Moraga, E., Ruíz-García, A., y C. Santiago Álvarez. 2006. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Against Puparia and Adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* Vol. 99(6): 1955-1966.
- Rodríguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., y R. S. Redman. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 182: 314–330.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A., y Antonio P. Terán. 2015. *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae): A New Sorghum Insect Pest in Mexico. *J. Southwestern Entomologist.* 40 (2). 433-434.
- Ruíz, C. J. A., Bravo, M. E., Ramirez, O. G., Baez, G. A. D., Álvarez, C. M., Ramos, G., Camberos, N. U., y K. F. B. Murphy. 2013. Plagas de importancia económica en México: Aspectos de su biología y ecología. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro. SAGARPA. Libro tecnico No.2. ISBN: 978-607-37-0127.
- Seiter, N., Lorenz, G., Studebaker, G., y J. Kelley. 2014. Sugarcane aphid, a new Pest of grain sorghum in arkansas. University of Arkansas Research and Extension. Agriculture and Natural Resources. FSA7087-PD-1-2015N.
- Sevim, A., Donzelli, B. G. G., Wu, D., Demirbag, Z., Gibson, D. M., y B. G. Turgeon. 2012. Hydrophobin genes of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum*, are differentially expressed and corresponding mutants are decreased in virulence. *Curr. Genet.* 58: 79–92.
- Shah, P. A., y J. K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 61. 413-423.

- Shan, L. T., y M. G. Feng. 2010. Evaluation of the biocontrol potential of various *Metarhizium* isolates against green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Pest Manag. Sci.* 66: 669–75.
- SIAP (2014). *Triticum spp* 2014. Consulta: 27 octubre 2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/trigo-grano/>
- SIAP (2014). *Sorghum vulgare* 2014. Consulta: 27 octubre 2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/sorgo-grano/>
- Singh, B. U., Padmaja, P. G., y N. Seetharama. 2004. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop Prot.* 23, 739-755.
- Van Emden, H. F., y R. Harrington. *Rhopalosiphum padi* (bird-cherry-oat aphid). *Aphids as Crop Pests*. CAB International. Oxford, UK. 2007. P. 18-38.
- Vega, E. F., y Harry K. Kaya. 2012. *Insect Pathology*. Academic Press Elsevier eds. 171, 182, 184, 185, 186, and 188 pp.
- Vega, F. E., Goettel, M. S., Blackwell, M. Chandler, D., Jackson, M. A., Keller, S., Koike, M., Maniania, N. K., Monzón, A., Ownley, B. H., Pell, J. K., Rangel, D. E. N., y H. E. Roy. 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecol.* 2: 149–159.
- Vega, F. E., Posada, F., Aime, M. C., Pava, R. M., Infante, F., y S. A. Rehner. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biol. Control.* 46: 72–82.
- Villanueva, R. T., y D. Sekula. 2014. A New Pest of Sorghum : the Sugarcane Aphid. 20th Annual Rio Grande Valley Cotton & Grain Pre-Plant Conference Edcouch, Jan 17, 2014.
- Villanueva, R. T., M. Brewer, M. O. Way, S. Biles, D. Sekula-Ortiz, E. Bynum, J. Swart, C. Crumley, A. Knutson, P. Porter, R. Parker, G. Odvody, C. Allen and D. Ragsdale. 2014. Sugarcane aphid: A new pest of sorghum. Texas A&M Agrilife Extension, Ento-035. <http://denton.agrilife.org/files/2013/08/ENTO-035-The-Sugarcane-Aphid-2014.pdf>.
- Vu, V. H., Hong, Il. S., y K. Kim. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *J. Biosci. Bioeng.* 104: 498–505.

White, W. H., Reagan, T. E., y G. Hall. 2001. *Melanaphis sacchari* (Homoptera: Aphididae), a sugarcane pest new to Louisiana. Fla. Entomol. 84 (3): 435-436.

Züst, T., Häri, S. A., y C. B. Müller. 2008. Endophytic fungi decrease available resources for the aphid *Rhopalosiphum padi* and impair their ability to induce defences against predators. Ecol. Entomol. 33: 80–85.