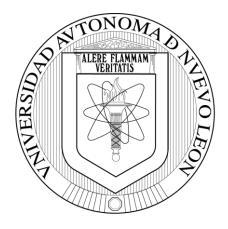
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



PARASITISMO DE *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) SOBRE *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) Y SU INTERACCIÓN CON AISLAMIENTOS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales).

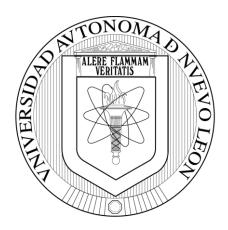
POR

FERNANDO TAMAYO MEJÍA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

DICIEMBRE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



PARASITISMO DE *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) SOBRE *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) Y SU INTERACCIÓN CON AISLAMIENTOS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales).

POR

FERNANDO TAMAYO MEJÍA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

DICIEMBRE DE 2014

PARASITISMO DE *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) SOBRE *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) Y SU INTERACCIÓN CON AISLAMIENTOS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales).

Comité de Tesis

Dra. Patricia Tamez Guerra Directora

Dra. Magdalena Iracheta Cárdenas Secretario

Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores Primer Vocal

Dra. Humberto Quiróz Martínez Segundo Vocal

> Dr. Mario A. Rocha Peña Tercer Vocal

Dr. Ariel W. Guzmán Franco Director Externo

ÁREA DE TRABAJO

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en la Unidad de Formulación de Biológicos, del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. bajo la dirección general de la Dra. Patricia Tamez Guerra y la Co. Dirección del Dr. Ariel W. Guzmán Franco.

El trabajo experimental se realizó en parte en el Laboratorio de Producción de Organismos Benéficos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A. C

INDICE

1. Introducción	1
2. Hipótesis	3
3. Objetivos.	4
3.1 Objetivo General.	4
3.2 Objetivos Específicos.	4
4. Antecedentes	5
4.1 Bactericera Cockerelli (Sulc).	5
4.2 Control Biológico De <i>B. Cockerelli</i> .	8
4.3 Insectos Depredadores	8
4.4 Parasitoides	9
4.4.1 Tamarixia triozae	10
4.5 Hongos entomopatógenos	11
4.6 Interacciones entre hongos entomopatógenos y parasitoides	12
5. Material y Métodos	15
5.1 Aislamientos de <i>Beauveria bassiana</i>	15
5.2 Cría de <i>B. cockerelli</i> y <i>T. triozae</i>	16
5.3 Estimación de concentraciones letales (CL) de aislamientos de <i>Beauveria</i> bassiana hacia ninfas de <i>Bactericera cockerelli</i>	16
5.4 Estimación de concentraciones letales de aislamientos de B. bassiana hacia adultos de T. triozae	18
5.5 Comportamiento de parasitismo de T. triozae sobre ninfas de B. cockerelli	
infectadas con <i>B. bassiana</i>	18
parasitoide <i>T. triozae</i>	20
5.7 Infección de <i>B. bassiana</i> sobre ninfas de <i>B. cockerelli</i> parasitada con <i>T. Triozae</i>	20
11104.00	~~

6. Resultados	22
6.1 Análisis de la dosis-respuesta de los aislamientos de <i>B. bassiana</i> , para <i>B. cockerelli</i>	22
6.2 Análisis de la dosis-respuesta de los aislamientos de <i>B. bassiana</i> , para <i>T. triozae</i>	23
6.3 Análisis del comportamiento de parasitismo de <i>T. triozae</i> sobre ninfas de <i>B. cockerelli</i> infectadas con <i>B. bassiana</i>	24
6.4 Análisis de la infección de <i>B. bassiana</i> sobre ninfas de <i>B. cockerelli</i> parasitadas con <i>T. triozae</i>	27
6.5 Emergencia de adultos de <i>T. triozae</i> de ninfas de <i>B. cockerelli</i> infectados con <i>B. bassiana</i> .	28
6.6 Sobrevivencia de adultos de <i>T. triozae</i> emergidos de <i>B. cokerelli</i> infectados con <i>B. bassiana</i>	31
7. Discusión	34
8. Conclusiones	41
9. Literatura Citada	42
Resumen Biográfico.	52

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pá	gina
1.	Concentraciones Letales (CL) para cada aislamiento de <i>B. bassiana</i>	22
2.	utilizado sobre ninfas de cuarto instar de <i>B. cockerelli</i>	22
	utilizado sobre adultos de <i>T. triozae</i>	23

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pá	gina
1.	Número promedio de ninfas de cuarto instar de <i>B. cockerelli</i> parasitadas por <i>T. triozae</i> , a diferentes días de desarrollo de la infección de <i>B. bassiana</i>	25
2.	Número promedio de ninfas de cuarto instar de <i>B. cockerelli</i> parasitadas por <i>T. triozae</i> , a diferentes días de desarrollo de la	
3.	infección de <i>B. bassiana</i> en los tratamientos control	2526
4.	Días de sobrevivencia de adultos de <i>T. triozae</i> después de haber sido confinados durante tres días con ninfas de cuarto instar de <i>B. cockerelli</i> en los tratamientos control.	27
5.	Número promedio de parasitoides adultos de <i>T. triozae</i> muertos por efecto de <i>B. bassiana</i> después de haber sido expuestos durante tres días a ninfas de cuarto instar de <i>B. cockerelli</i> infectadas con el entomopatógeno.	29
6.	Proporción de larvas de <i>T. triozae</i> infectadas con los aislamientos BB40 (A) y GHA (B) de <i>B. bassiana</i>	30
7.	Número de adultos emergidos de <i>T. tri</i> ozae tratados y no tratados (A) y de diferentes concentraciones letales únicamente en insectos	
8.	tratados con ambos aislamientos de <i>B. basiana</i> (B)	31
9.	ninfas de <i>B. cockerelli</i>	32
10.	desarrollo de larvas en ninfas en el testigo (B) y con dos aislamientos de <i>B. bassiana</i> (C)	33
	de <i>B. cockerelli</i> no tratadas (A) y tratadas (B) con diferentes concentraciones letales de dos aislamientos de <i>B. bassiana</i>	33

1. INTRODUCCIÓN.

Tanto en ecosistemas naturales como agrícolas, el complejo de interacciones multitróficas que incluyen herbívoros y agentes de control biológico, tales como depredadores, parasitoides, nematodos, hongos, protistas, bacterias y virus, contribuyen a la estructura de la población que ahí coexiste (Furlong y Pell, 2005; Hawkins *et al.*, 1997). Este tipo de competencia inter-específica por el empleo de recursos finitos, se considera uno de los factores más importantes que determinan la estructura y dinámica de las comunidades (Hochberg, 1991), y no solo se limita al espacio, sino también a la fuente de alimento (Hochberg y Lawton, 1990).

Aunque los enemigos naturales son una fuente importante de mortalidad de los insectos plaga, éstos no atacan a su hospedero en el mismo grado (Hawkins *et al.*, 1997), debido a la existencia de diferentes mecanismos que reducen las interacciones antagonistas entre dichos enemigos naturales y los hospederos (Mesquita y Lacey, 2001).

Los hongos entomopatógenos y algunos insectos parasitoides, están entre los enemigos naturales de artrópodos considerados como plaga importantes en los agroecosistemas, y entender su ecología es esencial para utilizarlos adecuadamente en el control de plagas y ayudar a predecir el impacto de la prácticas agrícolas en sus poblaciones (Meyling y Eilenberg, 2007).

Bactericera cockerelli (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae), es una de las plagas que más afectan los cultivos de la familia de las Solanáceas de importancia económica, tales como el tomate, la papa y el chile (Abdullah, 2008; Gharalari et al., 2009; Liu y Trumble, 2004; Yang y Liu, 2009). El control biológico de esta plaga es una estrategia que requiere ser estudiada con mayor profundidad antes de poder implementarse en el campo. El empleo de hongos entomopatógenos, así como del parasitoide Tamarixia triozae Burks (Hymenoptera: Eulophidae), constituyen una alternativa viable para la regulación biológica de esta plaga (Al-Jabr, 1999; Lacey et al., 2009; Tamayo-Mejía et al., 2014; Lomeli-Flores y Bueno-Partida, 2002; Bravo, 2002).

Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales) es uno de los microorganismos más ampliamente utilizados como entomopatógenos, debido a su distribución cosmopolita, fácil reconocimiento y frecuencia en la naturaleza; además, su amplio rango de más de 700 hospederos (Goettel *et al.*, 1990) hace que sea un candidato muy versátil como agente entomopatógeno, para el control biológico de insectos (Rehner, 2005).

Debido a que los enemigos naturales de los insectos se encuentran incluidos en un contexto multitrófico, es importante evaluar las interacciones entre ellos para utilizarlos efectivamente en el manejo de plagas (Roy y Pell, 2000). Debido a esto, en este trabajo nos propusimos seleccionar un aislamiento del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de *B. cockerelli* y determinar el comportamiento del parásito *T. triozae* sobre ninfas infectadas de *B. cockerelli*, durante el desarrollo de la infección, con el fin de estimar el momento adecuando en que se podría emplear el segundo agente de biocontrol, sin verse afectado significativamente por el primero.

2. HIPÓTESIS.

- 1. Los valores de CL₅₀ estimados para ninfas de *Bactericera cockerelli* y el parasitoide *Tamarixia triozae* son diferentes, y esta variación tendrá una interacción con los aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.
- 2. El hongo *Beauveria bassiana* afecta negativamente el parasitismo de *Tamarixia triozae* sobre *B. cockerelli*, y este efecto tiene una interacción significativa con los niveles de infección ocasionadas por tiempo y concentración del hongo empleado.
- 3. El hongo *Beauveria bassiana* tiene un efecto negativo sobre *Tamarixia triozae*, y este efecto tiene una interacción significativa con los diferentes niveles de desarrollo del parasitoide y concentración del hongo entomopatógeno.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

En el presente trabajo el objetivo fue estudiar la interacción de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con el parasitoide *Tamarixia triozae* y su hospedante *Bactericera cockerelli*.

3.2 Objetivos específicos

- 1. Estimar la concentración letal media (CL_{50}) de tres aislamientos de *Beauveria* bassiana hacia ninfas de *Bactericera cockerelli* y adultos del parasitoide *Tamarixia* triozae.
- 2. Evaluar el comportamiento del parásito *Tamarixia triozae* sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* con diferentes grados de desarrollo de infección ocasionado por *Beauveria bassiana*.
- 3. Determinar el efecto de aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre *Tamarixia triozae* con diferente grado de desarrollo en ninfas de *B. cockerelli*.

4. ANTECEDENTES

4.1 Bactericera cockerelli (Sulc).

La primera descripción de *B. cockerelli* se realizó con ejemplares proporcionados por el profesor Cockerell de la Universidad de Colorado. Los ejemplares fueron colectados en plantas de chile, cuyas semillas habían sido introducidas a Estados Unidos provenientes de Sudamérica (Sulc, 1909).

Inicialmente, esta especie fue ubicada dentro del género *Trioza* (Sulc, 1909), pasando posteriormente al género *Paratrioza* (Cawford, 1911) y finalmente Burckhardt y Lauterer (1997) así como Hodkinson (2009), la ubican dentro del género *Bactericera* en la familia Triozidae, situación que fue corroborada por Burckhardt y Ouvrard (2012), en la revisión realizada de la clasificación de Psylloidea, razón por la cual este insecto se denominaba comúnmente como psílido.

Los adultos de *B. cockerelli* miden de 2.5 a 2.75 mm de longitud y tienen una apariencia general a pequeñas cicadas; cuando emergen son de color verde pálido y después de dos o tres días son de color café, gris o café oscuro (Wallis, 1955).

Los huevecillos son depositados en los bordes de las hojas o en la parte superior de las mismas y tienen una duración aproximada de 5.9 días (Wallis, 1955; Xiang-Bing y Tong-Xian, 2009). Pasa por cinco estadíos ninfales, los cuales se localizan en la superficie inferior de la hoja en la mitad superior de la planta. El tiempo de desarrollo de la etapa ninfal es de alrededor de 20.2 días. El periodo de desarrollo de huevo a adulto es de 26.2 días (Wallis, 1955; Xiang-Bing y Tong-Xian, 2009).

El ciclo de desarrollo de *B. cockerelli* varía de acuerdo al tipo de hospedero sobre el que se alimente. Xiang-Bing y Tong-Xian (2009) concluyeron que sobre plantas de berenjena, *B. cockerelli* se desarrolla más rápido que sobre plantas de chile *bell*, mientras que la papa es mejor hospedero que los dos cultivos mencionados (Xiang-Bing *et al.*, 2010a). Tran *et al.* (2012) reportaron que las temperaturas umbrales mínimas de desarrollo para huevos, ninfas y del total del ciclo, fueron de 7.9, 4.2 y 7.1°C respectivamente, cuando la plaga se alimentó en el cultivo de papa y de 7.2, 5.3 y 7.5°C

respectivamente, cuando se alimentó sobre tomate. Asimismo, los requerimientos térmicos para todo el ciclo de vida fueron de 358 grados-día de desarrollo cuando se alimentó sobre papa y de 368 grados-día de desarrollo cuando se alimentó sobre tomate.

B. cockerelli se encuentra presente en Canadá, la parte Oeste de Estados Unidos, México y en Centroamérica en El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. A principios del año 2000 fue introducida a Nueva Zelanda (Munyaneza, 2012; Teulon *et al.*, 2009; EPPO, 2013).

Hasta el momento de su identificación taxonómica inicial en 1909, no se conocía el papel en la transmisión de enfermedades ocasionado por B. cockerelli. Richards et al. (1927), fueron los primeros en describir los síntomas de la presencia de un amarillamiento en el cultivo de papa y Richards (1928) los asoció con B. (Paratrioza) cockerelli. Richards y Blood (1933) establecieron la teoría de la posible presencia de un virus y sustancias tóxicas durante el proceso de alimentación de las ninfas de los psílidos, como posibles orígenes de la enfermedad. Staples (1968) concluyó que los síntomas de amarillamiento eran causados por una toxemia, sin embargo, a la fecha no se ha identificado algún tipo de toxina que esté relacionada con estos síntomas (Sengoda et al, 2010, Munyaneza 2012). Por causar este tipo de desórdenes fisiológicos, B. cokerelli es considerada como una de las principales plagas de cultivos de las solanáceas (Abdullah, 2008; Gharalari et al., 2009; Liu y Trumble, 2004; Xiang-Bing y Tong-Xian, 2009), ya que ninfas y adultos de esta plaga se alimentan del floema de las plantas causando amarillamiento, enchinamiento, retraso de crecimiento, formación de tubérculos aéreos y punta morada en papa. De manera adicional, se ha reportado como vector de la enfermedad denominada Zebra Chip en el cultivo de papa, la cual está asociada con la bacteria Candidatus Liberibacter psyllaurus (también denominada Candidatus Liberibacter solanacearum) y se caracteriza por el desarrollo de patrones de estrías negras en los tubérculos de papa que los hacen inaceptables para el mercado, causando con ello pérdidas económicas muy altas (Xiang-Bing et al., 2010b; Gharalari et al., 2009; Munyaneza et al., 2007a,b; 2008; Munyaneza, 2012; Sengoda et al., 2010; Xiang-Bing y Tong-Xiang, 2009; Secor et al., 2009).

Al igual que otros hemípteros que se alimentan del floema de las plantas, los psílidos tienen una asociación endosimbiótica procariótica obligatoria que se transmite de manera vertical entre generaciones (Baumann, 2005). Estos endosimbiontes localizados en estructuras llamadas bacteriomas o micetomas, se clasifican como primarios cuando ayudan a compensar las deficiencias nutricionales, al sintetizar aminoácidos esenciales para el desarrollo de los insectos, y como secundarios si afectan la reproducción, respuesta inmune y resistencia a factores externos como los insecticidas, entre otras funciones (Nachappa, 2011; Arp *et al.*, 2014).

B. cockerelli tiene como endosimbiontes primarios a Candidatus Carsonella ruddii y como secundarios a dos aislamientos de Wolbachia sp., Sodalis sp., Pseudomonas sp., Acinetobacter, Methylibium, Rhizobium, Gordonia, Mycobacter y Xanthomonas (Arp et al., 2014; Nachappa et al., 2011; Hail et al., 2012; Liu et al., 2006; Butler y Trumble, 2012a). Hansen et al. (2008) reportaron como simbionte a Candidatus Liberibacter psyllaurus.

B. cockerelli es un insecto migratorio que provoca brotes poblacionales en áreas donde encuentra condiciones favorables para su desarrollo, principalmente de temperatura y alimento (Rommey, 1939; Pletsch, 1947). Este movimiento poblacional de insectos pudo favorecer la generación de biotipos de esta plaga, ya que se ha confirmado la existencia de un biotipo en la parte centro de Estados Unidos y centro norte de México (biotipo nativo de Texas, Nebraska y Colorado y Coahuila, Méx.) y otro en la parte oeste (biotipo invasivo de California y Baja California, Méx.), cada uno con características bilógicas diferentes, donde las poblaciones nativas poseen mayor supervivencia, alto índice de crecimiento y requieren de tiempos más cortos para su desarrollo, a diferencia de las poblaciones invasivas (Lui et al., 2006; Liu y Trumble, 2007).

Por otra parte, López (2012), al analizar diferentes poblaciones de *B. cockerelli* en México, encontró evidencias de una posible formación de un biotipo entre las poblaciones del centro y norte de México y otros biotipos diferentes en la parte del pacífico.

4.2 Control Biológico de B. cockerelli.

El control biológico de *B. cockerelli* es el principal pilar dentro de la estructura del manejo integrado de esta plaga (MIP), el cual a su vez es indudablemente la mejor estrategia para regular las poblaciones de este insecto (Gharalari *et al.*, 2009; Berry *et al.*, 2009; Al-Jabr, 1999; Goolsby *et al.*, 2007); sin embargo, no todos los componentes que integran la estrategia se encuentran completamente definidos, lo cual, aunado a las fuertes pérdidas económicas que ha causado la plaga, provocan que en la mayoría de los casos, el control de *B. cockerelli* dependa completamente del control químico (Liu y Trumble, 2004; Berry *et al.*, 2009; Gharalari *et al.*, 2009; Butler y Trumble, 2012a).

B. cockerelli cuenta con los tres grandes grupos de enemigos naturales, ya sean depredadores, parasitoides o patógenos, atacando en diferente grado a todos los estados biológicos de este hemíptero, de tal manera que esta táctica de control ofrece una amplia posibilidad de uso en el diseño del manejo de la plaga.

4.3 Insectos depredadores

Aunque los depredadores de los psílidos han sido pobremente estudiados (Jerinic-Prodanovic y Protic, 2013), la literatura reporta una considerable cantidad de este grupo de insectos actuando como depredadores sobre todo de los estados inmaduros de B. cockerelli de manera presencial en el cultivo, ya que no se han utilizado de manera extensiva para controlar a la plaga. Dentro de los depredadores registrados, se pueden mencionar a Chrysoperla carnea Stephens, Chrysoperla rufilabris Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae) y Micromus tasmaniae (Walker) (Neuroptera: Hemerobiidae), Hippodamia convergens Guerin-Meneville, H. quinquesignata (Kirbi) H. tredecimpunctata (L.), H. americana Crotch, H. lecontei var uteana Casey, H. parenthesis (Say), Cryptolaemus montrouzieri Mulsant, Cleobora mellyi Mulsant, Scymnus loewii Mulsant, Coccinella septempunctata L., Coccinella novemnotata Herbst, Coccinella undecimpunctata (L.), Cocinella transversoguttata Faldermann, Adalia bipunctata (L.), Harmonia axyridis (Pallas), Cycloneda sanguínea L., Olla vnigrum (Mulsant) y Scymnus loewii Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), Collops necopinus Fall (Coleoptera: Melyridae), Platystethus spiculus Erichson (Coleoptera: Staphylinidae), Melanostoma fasciatum (Macquart), Allographta sp. y Sphaerophoria spp. (Diptera: Syrphidae), Asyndetus sp., Chrysotus spp., Medetera spp., (Diptera: Dolichopidae), Geocoris decoratus Uhler, Geocoris pallens Stal (Hemiptera: Geocoridae), Orius tristicolor (White), Anthocoris tomentosus Pericart, Anthocoris melanocerus Reuter (Hemiptera: Anthocoridae), Nabis ferus (L.) (Memiptera: Nabidae), Deraeocoris brevis (Ulher), Dicyphus hesperus Knight, Cyrtopeltis modesta (Distant) (Memiptera: Miridae), Pronotacantha annulata Uhler (Hemiptera: Berytidae), Empicoris spp. (Hemiptera: Reduviidae), Forficula auriculatria L., (Dermaptera: Forficulidae), Linepithema humile Mayr (Hymenoptera: Formicidae) (Al-Jabr, 1999; Plestch, 1947; Horne et al., 2001; Knowlton, 1933a,b; -1934; Compere, 1943; Romney, 1939; Butler y Trumble, 2012a,b; O'Conell et al., 2012; Pugh, 2013; Jorgensen et al., 2011; McGregor, 2013; Walker et al., 2011).

4.4 Parasitoides

Al igual que en los depredadores, el parasitismo de psílidos ha sido pobremente estudiado. En México se reportan al menos cinco especies de *Tamarixia* Mercet (Eulophidae: Tetraschinae) como parasitoides de psílidos, entre los que se encuentran *T. leucaena* Boucek sobre *Heteropsylla cubana* Crawford (Psyllidae: Ciriacreninae), *T. schina* Zuparko sobre *Calophya schini* Tuthill (Calophyidae: Calophyinae), *T. radiata* Waterston sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Liviidae: Euphyllurinae), *T. aguacatensis* Yefremova sobre *Trioza aguacate* Hollis & Martin (Triozidae: Triozinae) y *T. triozae* (Burks) sobre *B. cockerelli* (Sulc) (Triozidae: Siphonaleyrodinae) (Yefremova *et al.*, 2014; Burckhardt y Ouvrard, 2012).

Además de *T. triozae*, para *B. cockerelli* se reporta al parasitoide *Methaphycus psyllidus* (Hymenoptera: Encyrtidae) (Pletsch, 1947; Compere, 1943; Jensen, 1957). En ensayos de parasitismo inducido, Hoddle y Pandey (2014) reportaron a *T. radiata*, atacando a *B. cockerelli* en menos de un 5%.

4.4.1 Tamarixia triozae

T. triozae fue ubicado inicialmente dentro del género Tetrastichus (Burks, 1943), posteriormente Boucek (1988) lo reclasificó como género Tamarixia. Las hembras miden de 0.95 – 1.05 mm de longitud y presentan antenas clavadas; los machos miden de 0.7 – 0.9 mm de largo y presentan setas largas en sus antenas filiformes (Burks, 1943).

Durante el proceso de parasitismo, las hembras de *T. triozae* paralizan temporalmente a las ninfas de *B. cockerelli* y colocan sus huevecillos entre las coxas de las patas en la parte ventral de las ninfas. Al emerger la larva, se desarrolla de manera ectoparasítica debajo de la ninfa del huésped. Durante la alimentación de las larvas, el color del exoesqueleto de la ninfa pasa de color verde a marrón. Los adultos emergen de la ninfa a través de una abertura circular (Pletsch, 1947; Johnson, 1971).

De acuerdo con Rojas *et al.* (2014), desde la oviposición hasta la emergencia de los adultos se necesitan alrededor de 12 días a 26 °C. Los huevecillos, larvas y pupas tienen una duración de 1.5, 3.5 y 5.7 días respectivamente; las hembras adultas viven 19.9 días y su periodo de preoviposición es de 1.9 días aproximadamente.

Cerón-González *et al.* (2014), reportaron que una hembra de *T. triozae* elimina en promedio 312 ninfas de *B. cockerelli*, de las cuales el 56% son por parasitismo y el 44% por depredación.

Vega (2013), encontró que *T. triozae* requirió de 243.9 grados-día de desarrollo para completar su ciclo tomando como temperatura umbral mínima a 4.8 °C; asimismo, reporta que el consumo de presas incrementa conforme incrementa la temperatura, pero disminuye a partir de 30 °C. Escudero (2011), menciona que la talla de los adultos de *T. triozae* está relacionada positivamente con la talla de su hospedero y que la mayor emergencia de hembras se realiza sobre hospederos grandes, mientras que los pequeños dan origen a machos del parasitoide.

T. triozae se encuentra distribuido en la región Neártica, particularmente en Estados Unidos y México. Los hospederos sobre los que se reporta son Calophya californica

Schwarz, *C. nigrella* Jensen, *C. nigripennis* Riley, *C. triozamina* Schwarz (Hemiptera: Calophydae); *Ceanothia ceanothi* (Crawford), *Euglyptoneura minuta* (Crawford), *Euphalerus vermiculosis* Crawford, *Pexopsylla cercocarpi* Jensen (Hemiptera: Psyllidae); *B. cockerelli*, *B. minuta* (Crawford), *B. nigricornis* (Förster), *Trioza albifrons* Crawford y *T. beameri* Tuthill (Hemiptera: Triozidae) (Zuparco *et al.*, 2011).

Aunque Pletsch (1947) reportó la existencia de hiperparasitismo en *T. triozae* por un pteromálido no identificado, Butler y Trumble (2011) reportaron nuevos registros de machos de *Encarsia pergandiella* Howard, y un registro de un macho tentativamente identificado como *Encarsia peltata* (Cockerell) (Hymenoptera: Aphelinidae) hiperparasitando a *T. triozae* en jitomate y chile *bell* en California.

Algunos autores no consideran a *T. triozae* como un agente promisorio de control biológico de *B. cockerelli* (Jhonson, 1971; Butler y Trumble, 2012). Sin embargo, otros autores han reportado parasitismo de hasta un 85% en campo (Lomelí-Flores y Bueno-Partida, 2002; Bravo, 2002), y con alto potencial bajo condiciones de invernadero (Weber, 2013; McGregor, 2013). *T. triozae* fue importado a Nueva Zelanda como un posible agente potencial para controlar poblaciones de *B. cockerelli* en chile, tomate y papa (Workman y Whiteman, 2009).

4.5 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos de diversas especies se han empleado ampliamente para el control de insectos hemípteros, entre los que se pueden mencionar a las moscas blancas y pulgones (Roberts, 1989); para el caso de *B. cockerelli*, se han reportado niveles altos de mortalidad en *B. cockerelli* ocasionada por los hongos entomopatógenos *B. bassiana, Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown y Smith (Hypocreales: Cordycipitaceae), *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare et Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Cordycipitaceae) en condiciones de laboratorio, invernadero y campo en cultivos de jitomate, chile y papa (Al-Jabr, 1999; Sánchez-Peña *et al.*, 2007; Lacey *et al.*, 2009; Lacey *et al.*, 2011, Casique-Valdés

et al., 2011; Mauchline y Stannard, 2013; Posos-Ponce et al., 2007; Tamayo-Mejía et al., 2014)

4.6 Interacciones entre hongos entomopatógenos y parasitoides

Los hongos entomopatógenos, en combinación con insectos parasitoides y depredadores, representan una importante fuente de recursos para el manejo ambiental de insectos plaga y entender sus interacciones en un sistema es importante para desarrollar programas efectivos de control biológico (Furlong y Pell, 2005).

Hochberg *et al.* (1990) y Hochberg y Lawton (1990), desarrollaron un modelo general de los posibles resultados de las interacciones entre un parasitoide y un hongo entomopatógeno, considerando que la población del insecto hospedero es discreta, donde no se traslapan las generaciones; en este modelo, el resultado de su éxito dependería básicamente de su habilidad para explotar al medio. Así, si el hongo tiene una mayor capacidad que el parasitoide para subsistir en el ambiente y si su virulencia es alta, éste enemigo natural puede excluir al parasitoide y viceversa; en cambio, si existen diferencias pequeñas entre estos dos tipos de enemigos naturales para competir por recursos, entonces ambos pueden coexistir en el ambiente.

Por su parte, Ferguson y Stiling (1996) así como Roy y Pell (2000), mencionaron que los resultados de las interacciones entre hongos y parasitoides que coexisten en el ambiente pueden tener efectos sinergísticos, aditivos o antagonistas sobre la mortalidad del hospedero por el que compiten. Como efectos sinergísticos o aditivos en el caso de hongos entomopatógenos, se reportó una mejor transmisión y dispersión del patógeno, y como efectos antagonistas, se reportó la infección directa de insectos no blanco, sobre todo si las condiciones ambientales eran favorables para el hongo (Lacey y Mesquita, 2002; Roy y Pell, 2000; Vega *et al.*, 1995).

En otro intento por clasificar a las interacciones resultantes, Furlong y Pell (2005) mencionaron que cuando un hongo entomopatógeno y parasitoide se encuentran interactuando en el mismo hábitat, debido al traslape temporal y espacial de sus

poblaciones, se desencadena una competencia directa por los recursos finitos de sus hospederos, que puede llevar a una serie de interacciones a nivel individual cuando un insecto es simultáneamente hospedero de un parasitoide y de un hongo entomopatógeno, o a nivel poblacional, cuando la incidencia de la enfermedad o de los parasitoides inmaduros con la población del hospedero afecta la subsecuente dinámica de población de cada competidor. A su vez, las interacciones a nivel individual, pueden ser clasificadas en aquellas que incluyen al insecto hospedero y las que se desarrollan de manera ajena a éste.

Una de las interacciones que incluyen al insecto hospedero es la competencia directa por recursos entre hongo y parasitoide, y el resultado de esto dependerá del orden de llegada del primer enemigo natural al hospedero y del tiempo que tarde el segundo en llegar, así, se puede registrar que solo el parasitoide completa su desarrollo, que tanto el hongo como el parasitoide completan su desarrollo, el hongo puede colonizar al parasitoide inmaduro, solo el hongo puede completar su desarrollo o que el hongo sea inhibido (Furlong y Pell, 2005; Hochberg, 1991).

Otras interacciones que implican al insecto hospedero, pueden ser la presencia de una mayor o menor susceptibilidad del parasitoide a la infección del hongo y mayor o menor susceptibilidad del hospedero a la infección del patógeno después del parasitismo, todo esto dependiendo del tipo de sustancias que se secreten y reacciones que se lleven a cabo, asimismo, el parasitoide puede evitar al hospedero infectado o se pueden presentar efectos en la fecundidad y longevidad de parasitoides infectados, asimismo, cuando el parasitoide se encuentra coexistiendo dentro del insecto hospedero con el entomopatógeno, puede presentarse una disminución en la producción de conidios por parte del hongo entomopatógeno así como la infección del parasitoide (Furlong y Pell, 2000, -2005; Roy y Pell, 2000; Franen y van Lenteren, 1994; Mesquita y Lacey, 2001).

Dentro de las interacciones que son ajenas al insecto hospedero se encuentran una infección directa del entomopatógeno al insecto que actúa como enemigo natural, sobre todo por entomopatógenos que tienen un amplio rango de hospederos fisiológicos y

ecológicos como *B. bassiana* (Furlong y Pell, 2005; Goettel *et al.*, 1990; Hajek y Goettel, 2007).

Otra interacción ajena al insecto hospedero es la alimentación tanto de depredadores como de parasitoides sobre la presa infectada, y pérdida de movilidad de enemigos naturales infectados e incremento en la transmisión de la enfermedad (Furlong y Pell 2000, -2005; Roy y Pell, 2000).

Las interacciones a nivel población han sido poco documentadas debido a su dificultad y tiempo que demandan para estudio, además el concepto de población implica estudios a nivel individual (Furlong y Pell, 2005).

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Aislamientos de Beauveria bassiana.

Para este experimento se utilizaron tres aislamientos de B. bassiana, dos de ellos identificados con las claves BB40 y BB42 nativos del estado de Guanajuato, Méx., provenientes de una gallina ciega (Coleoptera: Scarabaeidae) y de un hemíptero del género Lygus sp. (Hemiptera: Lygaeidae), respectivamente, los cuales se encuentran en la colección del Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos (LROB) del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG). El tercer aislamiento seleccionado fue el correspondiente a la cepa GHA del producto comercial Mycotrol[®]O (Laverlam Int. Corp.). Los conidios de todos los aislamientos se obtuvieron a partir de cultivos monospóricos del hongo, crecidos en cajas de Petri de 90 mm de diámetro conteniendo 20 mL de Agar Dextrosa Saboraud (ADS) más extracto de levadura al 1% (Bioxon®). Las cajas de Petri inoculadas fueron incubadas a 25 °C en una incubadora (Felisa® modelo FE-147L, Feligneo, Zapopan, Jal, Méx.) en total oscuridad durante 10 días para asegurar una completa esporulación. Veinticuatro horas antes de la realización de los experimentos se tomó una muestra de conidios con una asa bacteriológica para estimar la viabilidad de las unidades infectivas mediante técnica descrita por Inglis et al. (2012).

Las suspensiones de conidios fueron preparadas removiendo las unidades infectivas de las cajas Petri con la ayuda de una espátula metálica. El material extraído se depositó en un tubo para centrifuga de 50 mL de capacidad conteniendo 50 mL de Tween 80 estéril al 0.03%. El tubo se agitó en un vórtex (Vortex-Genie® 2 Model G560, Scientific Industries, Inc. USA.) durante 5 min y el contenido se filtró a otro tubo de centrifuga limpio por medio de una doble capa de pañalina contenida en un embudo de cristal de 5 cm de diámetro. La concentración de conidios por mililitro de cada suspensión filtrada se realizó mediante una cámara de Neubauer (Inglis *et al.*, 2012).

5.2 Cría de B. cockerelli y T. triozae.

Para iniciar las crías de ambos insectos, se realizaron colectas de los mismos en campos de chile del municipio de Salvatierra, Gto, Méx. Para *B. cockerelli* se utilizó como hospedero a plantas de chile *Capsicum annum* (L.) tipo ancho var. Rebelde (Seminis[®]) contenidas en jaulas de tela de organza de 50 x 50 x 100 cm de largo, ancho y alto. A cada jaula se le introdujeron aproximadamente 100 adultos del insecto plaga, provenientes de campo. Diecisiete días después de obtenidos los adultos de la primera generación, cuando éstos registraron su tasa más alta de oviposición (Xiang-Bing y Tong-Xiang, 2009), se introdujeron nuevas plantas de chile durante dos días a dichas jaulas, para que los nuevos adultos ovipositarán en ellas, y se uniformizará la edad de las ninfas que se utilizaron en los experimentos.

Paralelamente, con ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* se implementó la cría del parasitoide de acuerdo a lo mencionado por (Rojas, 2010). Esta actividad se realizó mediante la introducción de 50 adultos de *T. triozae* en diferentes jaulas para favorecer el parasitismo; y después de 15 días, con ayuda de un aspirador bucal, se colectaron diariamente los adultos que emergían. Ambas crías se mantuvieron bajo condiciones de invernadero. Las plantas de chile se mantuvieron en macetas de 5 litros de capacidad con una mezcla en la relación 1:1 de composta y tezontle y cada tres días se fertilizaron adicionando un litro de solución con fertilizante conteniendo 0.5015, 0.003 y 0.0015 g de nitrógeno, fósforo y potasio, respectivamente, utilizando 1.5 g de Ultrasol[®] (SQM[®]) y 2 mL de Fertigro[®] (Cosmocel[®], Monterrey, Méx.) por litro de agua.

5.3 Estimación de concentraciones letales (CL) de aislamientos de *Beauveria* bassiana hacia ninfas de *Bactericera cockerelli*

Para la realización de estos experimentos, se utilizaron adecuaciones de las metodologías propuestas por Lacey *et al.* (2009) y Butt y Goettel (2000). Para ello, diferentes grupos de 10 ninfas del cuarto instar de *B. cockerelli* contenidas en hojas de chile fueron expuestas a diferentes concentraciones de conidios de los tres aislamientos de *B. bassiana*. Las concentraciones evaluadas fueron de 1 x 10⁴, 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x

10⁷ y 1 x 10⁸ conidios viables mL⁻¹. Las hojas de chile estaban contenidas en cajas de Petri de 150 mm de diámetro con papel filtro No. 1 (Whatman[®]). El peciolo de la hoja de chile se introdujo a un tubo tipo Eppendorf conteniendo 1-mL de agua desionizada, y sellado con parafilm, para mantener turgente a la hoja. La aplicación de los tratamientos se realizó con un aspersor neumático a 20 libras de presión durante 5 seg. En cada caso se incluyó un tratamiento testigo donde las ninfas fueron inoculadas únicamente con Tween 80 al 0.03%. Una vez realizada la aplicación, las hojas de chile se pasaron a una nueva caja Petri con papel filtro al que se le adicionaron 5 mL de agua desionizada. Las cajas Petri se sellaron con parafilm para formar una cámara húmeda. Todo el experimento se incubó a 25 °C y un fotoperiodo de 16: 8 horas luz: oscuridad durante ocho días. A partir del tercer día de incubación, se realizaron evaluaciones cada 24 horas para contabilizar el número de ninfas muertas por efecto del hongo en cada tratamiento.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar, donde todos los tratamientos se realizaron el mismo día, y todo el experimento se repitió en cuatro ocasiones diferentes. Antes de comparar la virulencia de los tres aislamientos, un análisis Probit de modelo paralelo fue realizado para determinar si los resultados de las repeticiones pudieran ser combinadas. Para esto, primeramente, los datos de todas las repeticiones fueron ajustadas a una sola línea una sola línea Probit. Después, se permitió la variación de las ordenadas al origen de las repeticiones, y finalmente se permitió la variación de las pendientes. El mejor modelo se seleccionó con base en pruebas parciales de F. Las concentraciones que causaron mortalidades del 20, 50 y 90 % (CL₂₀, CL₅₀ y CL₉₀) fueron estimadas a partir del modelo con mejor ajuste, y los intervalos de confianza fueron calculados de acuerdo al teorema de Fieller (1944). El análisis Probit asume que el número de insectos infectados tiene una distribución binomial con un tamaño de muestra igual al número de insectos tratados. En caso necesario, la presencia de una mayor variación de lo esperado bajo el supuesto binomial (sobre-dispersión) fue permitido al comparar la diferencia de la desviación media del tratamiento y la desviación media residual contra la distribución F y no contra una distribución de χ^2 , como normalmente se hace. El análisis estadístico se realizó mediante el programa GenStat v 8.0 (Payne et al., 2005).

5.4 Estimación de concentraciones letales de aislamientos de *B. bassiana* hacia adultos de *T. triozae*.

Para este ensayo se colocaron 10 adultos de *T. triozae* de un día de emergidos en cajas Petri de 25 por 150 mm, las cuales se colocaron durante 20 min en un refrigerador (Mabe[®], Modelo Ma088V04, Querétaro, Méx.) a 5 °C para inmovilizar a los insectos; posteriormente, se realizaron las aplicaciones de los tres aislamientos de *B. bassiana* a las concentraciones de 1 x 10⁴, 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ y 1 x 10⁸ conidios mL⁻¹ durante cinco segundos utilizando un aspersor neumático a 20 libras de presión. El tratamiento testigo se realizó aplicando únicamente agua desionizada con Tween 80 al 0.03%. Una vez realizada la aplicación de las diferentes concentraciones, los adultos de *Tamarixia* se colocaron en cajas Petri nuevas que contenían papel filtro No. 1, el cual se humedeció con 5 mL de agua desionizada y se colocaron gotas de miel de maíz (Vita Real[®], Alimentos Naturistas Siglo XXI, Méx, D.F.) al 99% que sirvió como fuente de alimento a los parasitoides. Las cajas Petri se sellaron con parafilm para formar una cámara húmeda. Las metodologías de incubación, registro de mortalidad y análisis de datos fueron las mismas descritas anteriormente.

5.5 Comportamiento de parasitismo de *T. triozae* sobre ninfas de *B. cockerelli* infectadas con *B. bassiana*.

Para este experimento, únicamente se emplearon el aislamiento nativo BB40 y el comercial GHA debido a que el aislamiento nativo BB42 resultó ser menos virulento que el BB40. La obtención de conidios de ambos aislamientos fue mediante la misma metodología descrita anteriormente.

Se prepararon 63 cajas de Petri (9 cm de diámetro por 2 cm de altura), cada una con una hoja de chile con 10 ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli*. Empleando la misma metodología de inoculación descrita anteriormente, dos cajas se inocularon con la CL₂₀ de Bb40, GHA mas un testigo sin hongo (tres cajas en total), los mismo se repitió pero inoculando las CL₅₀ y CL₉₀, dando un total de nueve cajas. Este procedimiento, con diferentes grupos de nueve cajas, se repitió seis veces más dando un total de 63 cajas.

Las 63 cajas fueron inoculadas el mismo día, y cada grupo de nueve cajas fue numerado del 0 al 6. A las cajas con el número 0, se les introdujo, tres parasitoides hembras de *T. triozae* de 3 días de emergidas de la cría para asegurar que tuvieran madurez sexual completa y en estado de gravidez. A las cajas etiquetadas con el número 1, la adición de los parasitoides se realizó al día siguiente de la aplicación y así sucesivamente hasta llegar al sexto día después de la aplicación. Las cajas se incubaron a 25 °C durante ocho días. Los parasitoides se mantuvieron dentro de las cajas Petri durante tres días tiempo después del cual se retiraron y se continuó vigilando su sobrevivencia en cajas Petri de plástico conteniendo un orificio en la tapa superior cubierto con tela de organza a través de la cual se les suministraba agua con un algodón húmedo y gotas finas de miel de maíz al 99%, colocadas sobre la tela.

Una vez retirados los parasitoides de las cajas Petri, se evaluó diariamente el número de ninfas de *B. cockerelli* parasitadas por *T. triozae*, durante ocho días.

La sobrevivencia de los parasitoides introducidos se evaluó hasta que el último parasitoide murió y se corroboró si fueron infectados con los aislamientos de los hongos aplicados, colocándolos durante tres días a 25 °C en cajas Petri con papel filtro con 5 mL de agua desionizada como fuente de humedad, selladas con parafilm.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar, donde todos los tratamientos se inocularon el mismo día (63 cajas) y todo el experimento se repitió en cuatro ocasiones diferentes (252 cajas).

Los datos de número de ninfas parasitadas así como la supervivencia de los parasitoides fueron analizados utilizando un modelo lineal generalizado (GM) y ANOVA respectivamente, ambos implementados en el paquete estadístico GenStat V. 8.0 (Payne *et al.*, 2005). En ambas variables, se comparó el efecto de aislamiento, concentración y tiempo de desarrollo de la infección así como la interacción de estos factores.

5.6 Obtención de ninfas de *B. cockerelli* con diferente grado de desarrollo del parasitoide *T. triozae*.

Ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* contenidas en plantas de chile fueron introducidas en jaulas limpias junto con 50 adultos de *T. triozae* de 10 días de edad. Este proceso se realizó diariamente durante doce días. A partir del tercer día de desarrollo del parasitoide, ninfas con las diferentes días de desarrollo (3, 5, 8 y 12 días) del parasitoide se pasaron a hojas limpias de chile en grupos de 12 ninfas.

5.7 Infección de B. bassiana sobre ninfas de B. cockerelli parasitada con T. triozae

La unidad experimental para este experimento, fue una caja de Petri de 9 cm de ancho por 2 cm de alto, cada caja contenía una hoja de chile con 12 ninfas de cuarto estadío de B. cockerelli parasitada previamente con T. triozae con diferentes edades de desarrollo del parasitoide (3, 5, 8, y 12 días). El pecíolo de cada hoja estaba contenido en un tubo tipo Eppendorf con 1 mL de agua desionizada, cuya tapa tenía un orificio para poder introducir el pecíolo y la hoja se mantuviera turgente. Se prepararon 9 cajas Petri por cada grupo de ninfas con diferentes días de desarrollo del parasitoide (36 cajas en total). El procedimiento experimental para cada grupo de ninfas con diferentes días de desarrollo del parasitoide fue el mismo. Tres de las 9 cajas fueron inoculadas con las CL₂₀, CL₅₀ y CL₉₀ de los aislamientos BB40 y GHA, respectiva-mente más un tratamiento control para cada concentración letal, a los cuales se aplicó únicamente una solución de Tween 80 al 0.03% disuelta en agua desionizada. Las concentraciones letales utilizadas fueron las estimadas previamente en este trabajo. La aplicación de cada CL y el testigo, se realizó como se describió anteriormente; después de esto, las hojas aplicadas se traspasaron a una nueva caja Petri limpia que contenía en el fondo papel filtro No. 1 (Whatman[®]) sobre el que se aplicó 0.5 mL de agua destilada esterilizada como fuente de humedad, sellando posteriormente la caja con parafilm. A partir del tercer día posterior a la aplicación de los tratamientos, se evaluó el número de larvas del parasitoide infectadas por cada aislamiento de *B. bassiana* hasta que emergieron los nuevos adultos de *T. triozae*.

Posteriormente, los adultos que emergieron se mantuvieron individualmente en una caja Petri de plástico con papel filtro y se alimentaron con gotas de miel de maíz (Vita Real[®], Alimentos Naturistas Siglo XXI, Méx, D.F.) al 99% y algodón húmedo como fuente de agua. Estas cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente. Para cada adulto, se registraron los días de sobrevivencia después de la emergencia, y una vez registrada la muerte del parasitoide, a cada caja se le adicionó 1-mL de agua destilada y se selló con parafilm para formar una cámara húmeda y corroborar su infección por *B. bassiana*.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar donde todos los tratamientos se realizaron el mismo día (36 cajas) y todo el experimento se repitió en cuatro ocasiones diferentes (144 cajas). El tratamiento control fue utilizado para confirmar que no existiera contaminación cruzada de los tratamientos. Los datos de número de larvas de T. triozae infectadas por B. bassiana se analizaron mediante regresión logística asumiendo una distribución binomial, para ello, el número de larvas infectadas fue analizado primero entre repeticiones para cada aislamiento, posteriormente se comparó entre aislamientos, concentraciones y días de desarrollo del parasitoide, así como las interacciones entre estos factores. Las larvas infectadas se estimaron como una proporción del número total de ninfas parasitadas. El número de parasitoides emergidos fue comparado por ANOVA y analizado mediante contrastes ortogonales jerárquicos, donde primero se comparó el número de parasitoides emergidos entre testigos e insectos tratados, posteriormente entre tratados únicamente y su interacción con concentraciones y tiempo de desarrollo de los parasitoides. Debido a que en cada tratamiento y repetición emergieron un diferente número de parasitoides, la sobrevivencia de los mismos fue analizada mediante un ANOVA desbalanceado. Para todos los análisis se utilizó el paquete estadístico GenStat V. 8.0 (Payne et al., 2005).

6. RESULTADOS

6.1 Análisis de la dosis-respuesta de los aislamientos de *B. bassiana*, para *B. cockerelli*.

Los resultados de los análisis estadísticos para las repeticiones indican que no existen diferencias significativas ni en el intercepto ni en la pendiente para cada uno de los aislamientos ($F_{4,15}$ =0.49, P=0.744, $F_{4,15}$ =2.72, P=0.07), ($F_{2,9}$ =2.32, P=0.154, $F_{2,9}$ =1.05, P=0.389), ($F_{3,12}$ =0.90, P=0.471, $F_{3,12}$ =1.23, P=0.341), BB42, GHA y BB40 respectivamente, lo cual indicó que todas las repeticiones pueden utilizarse en la comparación de la virulencia de los aislamientos de los hongos entomopatógenos. El análisis Probit de modelos paralelos, indicó que existen diferencias significativas para el intercepto ($F_{2,54}$ =6.34 y P=0.003) pero no para la pendiente ($F_{2,54}$ =1.38 y P=0.261) para las CL_{50} de cada aislamiento utilizado de B. bassiana contra B. cockerelli. Las CL_{20} y CL_{90} de cada aislamiento también fueron calculadas (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones Letales (CL) para cada aislamiento de *B. bassiana* utilizado sobre ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli*.

Aislamiento	CL	Valor de CL (Intervalo de	Intercepto (DE)	CR (DE) ^b
Aisiaimento		Confianza) ^a		
	20	$3.61 \times 10^4 (8.46 \times 10^3 - 1.11 \times 10^5)$	-3.539 (0.403)	0.5919 (0.0633)
BB40	50	$9.54 \times 10^5 (3.33 \times 10^5 - 2.71 \times 10^6)$	-3.539 (0.403)	0.5919 (0.0633)
	90	$1.39 \times 10^8 (3.86 \times 10^7 - 8.09 \times 10^8)$	-3.539 (0.403)	0.5919 (0.0633)
	20	$9.16x10^4 (2.47x10^4 - 2.60x10^5)$	-3.779 (0.410)	0.5919 (0.0633)
DD 42	50	$2.42 \times 10^6 \ (9.07 \times 10^5 - 6.78 \times 10^6)$	-3.779 (0.410)	0.5919 (0.0633)
BB42	90	$3.54 \times 10^8 \ (9.43 \times 10^7 - 2.25 \times 10^9)$	-3.779 (0.410)	0.5919 (0.0633)
	20	$7.46 \times 10^5 (1.62 \times 10^5 - 2.95 \times 10^6)$	-4.318 (0.451)	0.5919 (0.0633)
GHA	50	$1.97 \times 10^7 (4.97 \times 10^6 - 9.21 \times 10^7)$	-4.318 (0.451)	0.5919 (0.0633)
	90	$2.88 \times 10^9 (5.07 \times 10^8 - 3.12 \times 10^{10})$	-4.318 (0.451)	0.5919 (0.0633)

a Conidios mL⁻¹ (\pm 95% de intervalo de confianza)

b Coeficiente de regresión

6.2 Análisis de la dosis-respuesta de los aislamientos de *B. bassiana*, para *T. triozae*.

El análisis estadístico mostró que no existen diferencias significativas entre las repeticiones de los tratamientos ni para el intercepto ni para la pendiente ($F_{2,9}$ =1.83, P=0.215, $F_{2,9}$ =1.22, P=0.340 y $F_{3,12}$ =2.39, P=0.120, $F_{3,12}$ =2.96, P=0.075), para los aislamientos GHA y B40 respectivamente, no obstante para el aislamiento BB42 se presentan diferencias únicamente para el intercepto de las líneas de regresión, pero no para las pendientes de las mismas ($F_{2,9}$ =4.67, P=0.041, $F_{2,9}$ =1.13, P=0.366).

El análisis probit de modelos paralelos, indicó que existen diferencias significativas tanto para el intercepto ($F_{2,44}$ =4.02 y P=0.025) como para la pendiente ($F_{2,44}$ =6.02 y P=0.005) para las CL_{50} de los aislamientos de B. bassiana utilizados sobre T. triozae. Las CL_{20} y CL_{90} de cada aislamiento también fueron calculadas (Tabla 2).

Tabla 2. Concentraciones Letales (CL) para cada aislamiento de *B. bassiana* utilizado sobre adultos de *T. triozae*.

A islamiantes	CL	Valor de CL (Intervalo de	Intercepto (DE)	CR (DE) ^b
Aislamientos		Confianza) ^a		
	20	$1.16 \times 10^6 (5.63 \times 10^5 a 2.22 \times 10^6)$	-5.280 (0.404)	0.7316 (0.0582)
BB40	50	$1.49 \times 10^7 (8.14 \times 10^6 \text{ a } 3.13 \times 10^7)$	-5.764 (0.668)	0.8032 (0.0974)
	90	9.31x10 ⁸ (3.68x10 ⁸ a 3.08x10 ⁹)	-5.80 (0.404)	0.7316 (0.0582)
	20	$3.21 \times 10^6 (1.44 \times 10^6 a 6.76 \times 10^6)$	-5.280 (0.404)	0.7316 (0.0582)
BB42	50	$1.14 \times 10^8 (3.02 \times 10^7 \text{ a } 1.47 \times 10^9)$	-3.995 (0.642)	0.4958 (0.0939)
	90	2.56x10 ⁹ (9.07x10 ⁸ a 9.75x10 ⁹)	-5.602 (0.423)	0.7316 (0.0582)
GHA	20	$9.75 \times 10^5 (4.44 \times 10^5 \text{ a } 1.97 \times 10^6)$	-5.280 (0.404)	0.7316 (0.0582)
	50	$1.11 \times 10^7 \ (7.57 \times 10^6 \ a \ 1.71 \times 10^7)$	-6.568 (0.512)	0.9319 (0.0747)
	90	7.78x10 ⁸ (2.96x10 ⁸ a 2.68x10 ⁹)	-5.223 (0.402)	0.7316 (0.0582)

a Conidios mL⁻¹ (\pm 95% de intervalo de confianza)

b Coeficiente de regresión

6.3 Análisis del comportamiento de parasitismo de *T. triozae* sobre ninfas de *B. cockerelli* infectadas con *B. bassiana*.

El análisis estadístico realizado para el número de ninfas parasitadas indica que no se registraron diferencias significativas entre las diferentes repeticiones realizadas ($F_{2,138}$ =0.84, P=0.434), lo cual permitió combinar las repeticiones para comparar tratamientos. El número de ninfas de B. cockerelli parasitadas por T. triozae no fue diferente entre los tratamientos control y los inoculados con los dos aislamientos de B. bassiana (F_{1,138} =1.33, P=2.51). Al comparar únicamente entre tratamientos inoculados con hongos, el número de ninfas parasitadas no tuvo un efecto significativo de aislamiento y concentración de conidios. El efecto de los dos aislamientos en el parasitismo de T. *triozae* fue similar ($F_{1,138} = 0.20$, P = 0.653). Las concentraciones aplicadas de cada hongo no tuvo un efecto significativo en el parasitismo (F_{2,138} =0.80, P=0.452), ni para las interacciones entre los aislamientos y concentraciones ($F_{2,138}$ =0.08, P=0.924), interacciones entre aislamientos y tiempo de desarrollo de la infección ($F_{6,138}$ =0.23, P=0.966), entre la concentración y el tiempo de desarrollo de la infección para los individuos tratados ($F_{12,138} = 0.97$, P = 0.477) así como para las interacciones entre el aislamiento, tiempo de desarrollo de la infección y concentración utilizada del entomopatógeno (F_{12,138} =0.51, P=0.903). Se encontraron diferencias significativas en la comparación de numero de ninfas parasitadas a diferentes tiempos de desarrollo de la infección en los controles ($F_{6,138} = 4.91$, P < 0.001) y en los insectos tratados ($F_{6,138} = 6.21$, P<0.001), lo cual nos indica que para esta combinación de insecto hospedero, aislamientos de B. bassiana, parasitoide y concentraciones utilizadas de los entomopatógenos, no se registra un factor que pueda restringir el parasitismo de B. cockerelli.

Los promedios de número de ninfas parasitadas en cado uno de los días de desarrollo de la infección tanto para los insectos tratados como para los controles se presentan en las Figuras 1 y 2, respectivamente.

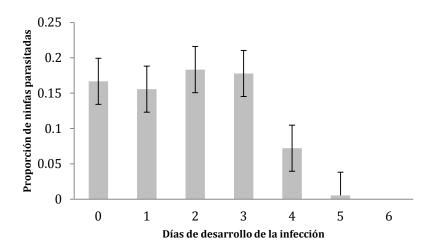


Fig. 1. Proporción de ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas por *T. triozae*, a diferentes días de desarrollo de la infección de *B. bassiana*. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

De acuerdo a los resultados del presente trabajo, se puede observar que el parasitismo se disminuye conforme aumenta el tiempo de desarrollo de la infección o el tiempo de confinamiento de las ninfas de la plaga para el caso de los controles.

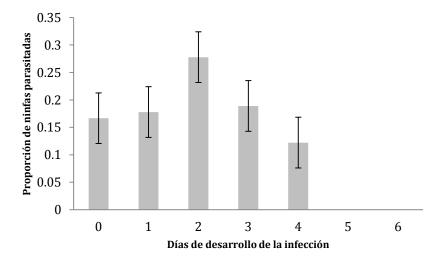


Fig. 2. Proporción de ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas por *T. triozae*, a diferentes días de desarrollo de la infección de *B. bassiana* en los tratamientos control. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

El análisis estadístico para los días de sobrevivencia de los parasitoides que se introdujeron a las cajas Petri con todos los tratamientos realizados, muestran diferencias significativas entre los tratamientos tratados y no tratados con entomopatógenos ($F_{1,516}$ =8.73, P=0.003) y entre los tiempos de desarrollo de la infección para los individuos tratados ($F_{6,516}$ =22.18, P<0.001) y no tratados ($F_{6,516}$ =13.89, P<0.001), así mismo en este análisis no se observan diferencias significativas entre los aislamientos utilizados ($F_{1,516}$ =1.71, P=0.192), entre las concentraciones utilizadas de los entomopatógenos ($F_{2,516}$ =2.09, P=0.125), ni para las interacciones entre aislamientos y concentraciones ($F_{2,516}$ =2.29, P=0.103), aislamientos y tiempo de desarrollo de la infección ($F_{6,516}$ =1.30, P=0.258), concentraciones y el tiempo de desarrollo de la infección y concentración utilizada ($F_{12,516}$ =0.60, P=0.845).

En las Figuras 3 y 4 se muestran los días promedio de sobrevivencia de los parasitoides en cada uno de los diferentes días de desarrollo de la infección de *B. bassiana* sobre ninfas de *B. cockerelli*, mostrando que la sobrevivencia de *T. triozae* disminuye cuando es expuesta a un individuo con un grado más alto de desarrollo de la infección.

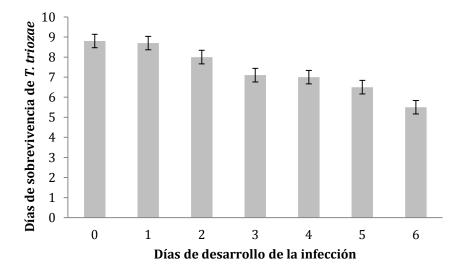


Fig. 3. Días de sobrevivencia de adultos de *T. triozae* después de haber sido confinados durante tres días con ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* infectadas con *B. bassiana*. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

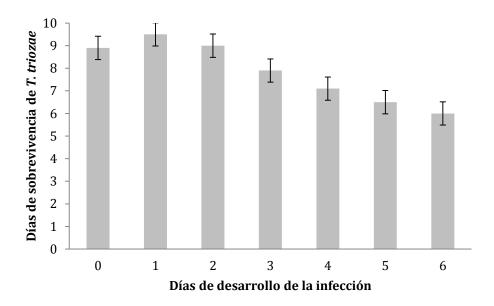


Fig. 4. Días de sobrevivencia de adultos de *T. triozae* después de haber sido confinados durante tres días con ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* en los tratamientos control. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

La transmisión de la infección de *B. bassiana* hacia adultos *T. triozae*, después de que estos insectos fueron expuestos a ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* se incrementó conforme se incrementó la dosis letal aplicada.

6.4 Análisis de la infección de *B. bassiana* sobre ninfas de *B. cockerelli* parasitadas con *T. triozae*.

El análisis realizado para esta variable, mostró que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las cuatro repeticiones ($F_{3,69}$ =2.40, P=0.075), por lo que los datos de las repeticiones en tiempo fueron combinadas para las comparaciones posteriores. En general, comportamiento de infección de los dos aislamientos en larvas del parasitoide fue similar ($F_{1,69}$ =0.08, P=0.779). Cuando se comparó la infección de la larvas del parasitoide entre las tres concentraciones letales inoculadas, esta fue diferente ($F_{2,69}$ =33.48, P<0.001). La mayor infección de larvas fue obtenida en la CL_{90} ($F_{1,69}$ =1.07, P=0.348). También se encontraron diferencias significativas en la infección lograda entre los

diferentes tiempos de desarrollo del parasitoide ($F_{3, 69}$ =97.76, P<0.001), lográndose la mayor proporción de infección en larvas a los 3 días de desarrollo del parasitoide (Figuras 5 A y B); sin embargo, este efecto fue diferente para los dos aislamientos ($F_{3, 69}$ =2.97, P=0.038), ya que con el aislamiento BB40, se obtuvo una infección alta también a los 5 días de desarrollo del parasitoide (Figura 5A), y en ambos aislamientos la menor proporción se presentó de los 8 a los 12 días (Figuras 5 A y B).

6.5 Emergencia de adultos de *T. triozae* de ninfas de *B. cockerelli* infectados con *B. bassiana*.

Se encontraron diferencias significativas en el número de parasitoides emergidos entre el tratamiento testigo y los demás tratamientos combinados ($F_{1, 113}$ =50.64, P<0.001), la mayor emergencia de parasitoides se observó en el tratamiento testigo (Figura 6A). Al comparar la emergencia de adultos en las diferentes concentraciones de hongos, ésta fue diferente ($F_{2, 80}$ = 5.62, P= 0.005), donde la mayor emergencia se registró en la CL_{20} (Figura 6B), este resultado fue similar para los dos aislamientos de hongos ($F_{2, 80}$ = 0.35, P= 0.709). La emergencia de parasitoides en los tratamientos con diferentes tiempos de desarrollo en el testigo y tratamientos infectados con hongos entomopatógenos presentaron diferencias significativas ($F_{3, 80}$ = 4.54, P=0.005 y $F_{3, 80}$ = 53.89, P= <0.001 respectivamente); la mayor emergencia en ambos casos se observó en el tratamiento con larvas de 12 días de desarrollo (Figura 7). En los tratamientos infectados con B. bassiana, la emergencia de parasitoides fue similar para los dos hongos ($F_{3,80}$ = 0.35, P= 0.792).

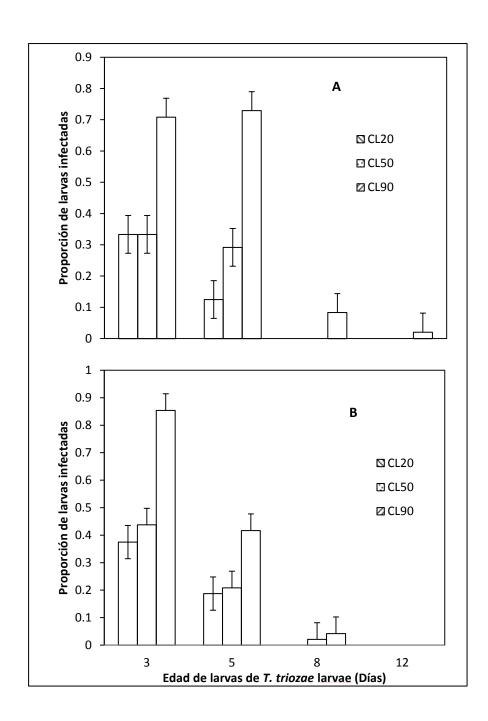


Fig. 5. Proporción de larvas de *T. triozae* infectadas con los aislamientos BB40 (A) y GHA (B) de *B. bassi*ana. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

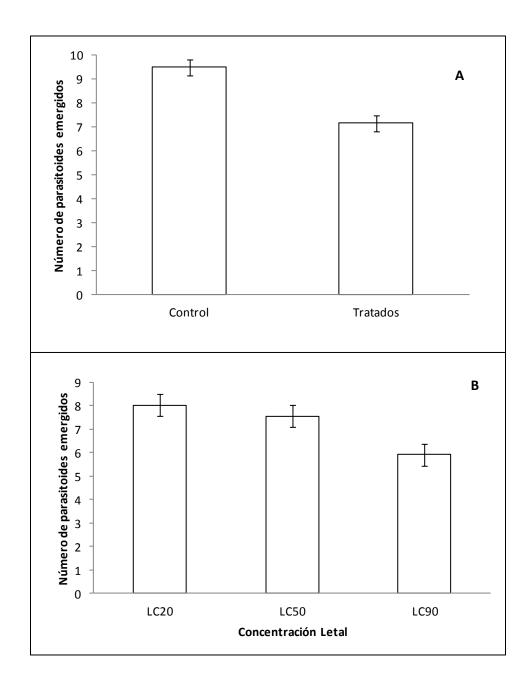


Fig. 6. Número de adultos emergidos de *T. tri*ozae tratados y no tratados (A) y de diferentes concentraciones letales únicamente en insectos tratados con ambos aislamientos de *B. basiana* (B). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

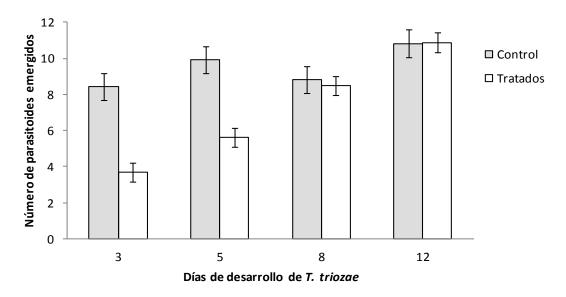


Fig. 7. Número de adultos emergidos de *T. triozae* tratados con dos aislamientos de *B. bassiana* en diferentes días de desarrollo sobre ninfas de *B. cockerelli*. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

6.6 Sobrevivencia de adultos de *T. triozae* emergidos de *B. cokerelli* infectados con *B. bassiana*.

Los días de sobrevivencia de adultos de T. triozae fueron estadísticamente diferentes entre los controles y los tratamientos combinados con hongos entomopatógenos (F_{1} , $_{943}$ =23.35, P<0.001), registrándose la mayor sobrevivencia en los parasitoides del tratamiento testigo (Figura 8A). La sobrevivencia de los parasitoides fue similar entre los diferentes tiempos de desarrollo del tratamiento testigo (F_{3} , $_{943}$ =2.27, $_{943}$ =2.27, $_{943}$ =2.52, $_{943}$ =0.057), resultado que fue diferente para los dos aislamientos (F_{3} , $_{943}$ =2.78, $_{943}$ =2.78, $_{943}$ =0.0402), donde la mayor sobrevivencia se observó con el aislamiento GHA a los 12 días de desarrollo de los parasitoides ($_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34, $_{943}$ =1.34) ($_{943}$ =1.34)

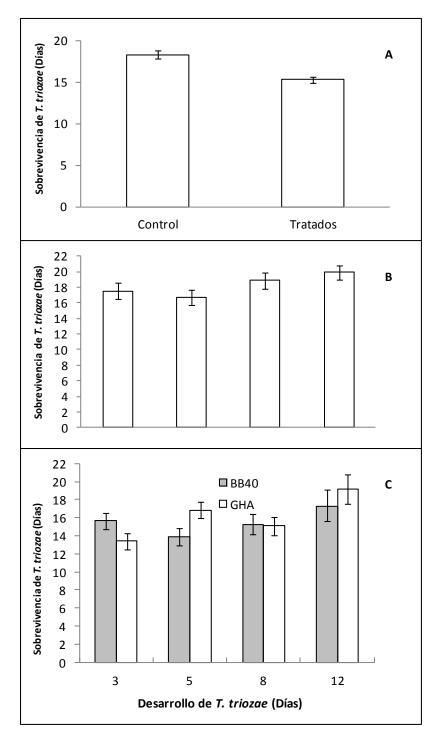


Fig. 8. Sobrevivencia (Días) de adultos de *T. triozae* emergidos de ninfas de *B. cockerelli* tratadas y no tratadas (A), en diferentes días de desarrollo de larvas en ninfas en el testigo (B) y con dos aislamientos de *B. bassiana* (C). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

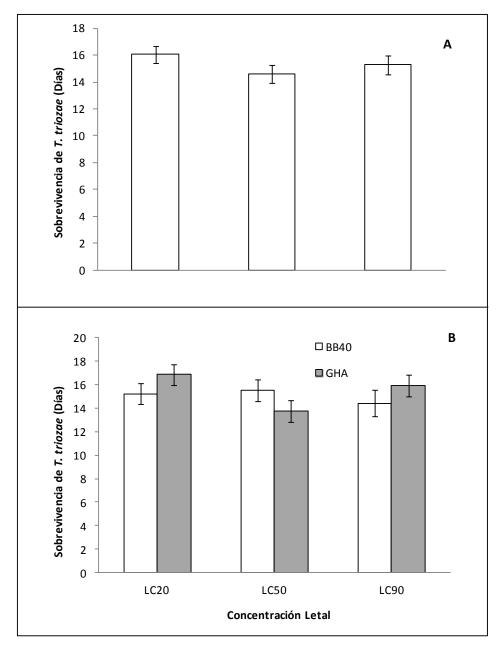


Fig. 9. Sobrevivencia (días) de adultos de *T. triozae* emergidos de ninfas de *B. cockerelli* tratadas y no tratadas (A), en diferentes días de desarrollo de larvas en ninfas en el testigo (B) y con dos aislamientos de *B. bassiana* (C)

Fig. 10. Sobrevivencia (días) de adultos de *T. triozae* emergidos de ninfas de *B. cockerelli* no tratadas (A) y tratadas (B) con diferentes concentraciones letales de dos aislamientos de *B. bassiana*. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

7. DISCUSIÓN

El control biológico con hongos entomopatógenos de Hemípteros, específicamente de *B. cockerelli*, ha progresado en los últimos años a pesar de un mayor desarrollo de investigaciones utilizando insecticidas químicos contra esta plaga. Los reportes existentes incluyen a los hongos *M. anisopliae*, *B. bassiana e I. fumosorosea* (Lacey *et al.*, 2009, -2011; Sánchez-Peña *et al.*, 2007). En México, la distribución geográfica de *B. cockerelli* se reporta en los estados de California, Chihuahua, Coahuila, Guanajuato, Jalisco, Nuevo León, Sinaloa, Sonora y Tlaxcala (León y Sinaloa, 2013). La compatibilidad de hongos entomopatógenos con prácticas actuales de manejo de *B. cockerelli* ha sido evaluada por Mauchline *et al.* (2013). Sin embargo, para diseñar mejor los posibles programas de control biológico contra esta plaga, es necesario conocer la interacciones de los hongos entomopatógenos con *T. triozae*, principal parasitoide de *B. cockerelli*.

T. triozae se caracteriza por parasitar a ninfas de tercer a quinto instar de desarrollo (Pletsch, 1947; Morales, 2013) y los hongos entomopatógenos pueden atacar todos los estados de desarrollo de la plaga (Lacey *et al.*, 2011, -2009; Mauchline *et al.*, 2013).

En el presente estudio se evaluaron dos aislamientos nativos del Estado de Guanajuato del hongo entomopatógeno *B. bassiana* (Bb42 and Bb40) y un aislamiento comercial (GHA) utilizado como referencia, mismos de los que previamente ya se contaba con antecedentes de su patogenicidad hacia *B. cockerelli*, (Tamayo-Mejía *et al.*, 2014).

Para los tres aislamientos se realizaron bioensayos con el fin de determinar las concentraciones letales (CL) 20, 50 y 90 hacia *B. cockerelli* y *T. triozae*, encontrando diferencias significativas para la CL₅₀ de cada aislamiento evaluado tanto para *B. cockerelli* como para *T. triozae* (Tablas 1 y 2). Tomando como referencia la CL₅₀ de cada aislamiento utilizado, encontramos que éste valor resultó ser 20.6 y 2.6 veces más bajo hacia *B. cockerelli* en el aislamiento BB40 que para GHA y BB42 respectivamente, así mismo. En *T. triozae*, GHA resultó con una CL₅₀ 1.3 y 10.3 veces más baja que los aislamientos BB40 y BB42 respectivamente; por otra parte al realizar una comparación numérica entre las CL₅₀ respectivas, encontramos que aislamiento BB40 resultó tener un

valor 15.6 veces menor para la plaga que para el parasitoide. Estos resultados de menor requerimiento de unidades infectivas para controlar a la plaga en comparación con el parasitoide, hacen del aislamiento BB40 un buen candidato para regular poblaciones de B. cockerelli. La diferencia en virulencia de distintos aislamientos de una misma especie de entomopatógeno hacia un determinado insecto blanco, ha sido ampliamente documentada por Vega et al. (1993), Wraight et al. (2010), Sun et al. (2003), Feng et al. (1994). En reportes previos, donde los hongos entomopatógenos fueron evaluados para el control de B cockerelli en Nueva Zelanda, los experimentos de laboratorio mostraron que el aislamiento GHA de dos productos comerciales, BotaniGard® ES y BotaniGard® 22WP arrojaron un mayor porcentaje de mortalidad (82%) comparados con el insecticida químico Oberon® (63%) el producto microbiano estándar eNtocide LTM (63%). De manera similar, ensayos de invernadero mostraron que BotaniGard® ES presentó porcentajes de mortalidad superiores al 80% cuando fue aplicado tanto en chile como en tomate (Mauchline et al., 2013). Los autores de estas evaluaciones comentan que la formulación del aislamiento GHA mejora la virulencia del entomopatógeno, comparada con otros productos a base de los hongos entomopatógenos evaluados. En el presente estudio, se produjeron y evaluaron conidios de la misma manera para los tres aislamientos utilizados, así que la formulación y los ingredientes inertes presentes en la formulación comercial del aislamiento GHA no jugaron ningún papel en los resultados obtenidos. Por otra parte, la determinación filogenética del aislamiento BB40 (sl) respecto de GHA (se), resulta de gran importancia en la explicación de este comportamiento de infección, ya que los resultados de virulencia de los dos aislamientos hacia la plaga, indican que posiblemente estemos hablando de dos especies crípticas diferentes.

Debido a que el aislamiento BB40 resultó con una CL₅₀ menor para la plaga, éste aislamiento y el de referencia comercial (GHA) se utilizaron para determinar el comportamiento de parasitismo de *T. triozae* sobre *B. cockerelli* con diferentes días de desarrollo de infección para las tres concentraciones letales previamente determinadas sin encontrar diferencias significativas para cada variable evaluada y sus interacciones (Figuras 1-3), así que de acuerdo a los resultados de este estudio, *T. triozae* parasita tanto a ninfas sanas como infectadas por *B. bassiana*. Este comportamiento no

discriminatorio del estado de salud del insecto hospedero por los parasitoides, fue también registrado por Fransen y van Lenteren (1993) para el caso de *Encarsia formosa* y *Aschersonia aleyrodis* sobre *Trialeurodes vaporariorum*, por Furlong y Pell (2000) para los parasitoides *Diadegma semiclausum* y *Cotesia plutellae* con el entomopatógeno *Zoophthora radicans* sobre *Plutella xylostella*, por Mesquita y Lacey (2001) con el parasitoide *Aphelinus asychis*, el hongo *Isaria (Paecilomyces) fumosoroseus* y el áfido *Diuraphis noxia* y por Lord (2001) con el parasitoide *Cephalonomia tarsalis* el hongo *B. bassiana* y el gorgojo *Oryzaephilus surinamensis*. Conforme transcurrió el tiempo de desarrollo de la infección también se redujo el número de ninfas parasitadas. Después del sexto día de desarrollo de la infección, no se registró parasitismo de *T. triozae*. La oviposición del parasitoide sobre ninfas infectadas se presentó hasta el quinto día de desarrollo de la infección y las larvas de los parasitoides también fueron infectadas por los aislamientos de *B. bassiana* utilizados en cada caso.

Reportes previos de la eficacia del parasitismo de *T. triozae sobre ninfas de B. cockerelli* en laboratorio y campo muestran resultados relativamente bajos (13.2-26.5% and 5.3-6.9%, respectivamente) (Butler and Trumble, 2012a), a pesar de estos datos, Nueva Zelanda importó al parasitoide de México para evaluarlo como agente de biocontrol contra *B. cockerelli* (Workman y Whiteman, 2009). Por otra parte, en México, Lomelí-Flores y Bueno-Partida (2002), Bravo (2002) así como Bravo y López (2007) reportan porcentajes de parasitismo superiores al 80% de manera natural. Para mejorara la eficacia del control biológico de esta plaga en campo, es importante evaluar el uso conjunto tanto de hongos entomopatógenos como de parasitoides para el control de *B. cockerelli*.

La sobrevivencia de los parasitoides que estuvieron confinados con las ninfas infectadas, fue ligeramente mayor en los tratamientos control que en los tratamientos con los aislamientos de *B. bassiana*. El incremento de número de parasitoides muertos por los hongos entomopatógenos conforme se incrementó la concentración letal aplicada a las ninfas de *B. cockerelli*, indica que el número de propágulos puede influir en la transmisión del hongo (Figura 4), fenómeno que también ha sido registrado en experimentos similares (Fransen y van Lenteren, 1993; Furlong y Pell, 2000; Fuentes-

Contreras *et al.*, 1998). Existen diferentes reportes en la literatura que mencionan el efecto sinergístico o antagonista entre diferentes enemigos naturales contra una plaga (Fransen y van Lenteren, 1993; Stiling y Cornelissen, 2005; Fuentes-Contreras y Niemeyer, 2000; Hoddle *et al.*, 1998; Avery *et al.*, 2008; Furlong y Pell, 2005; Roy y Pell, 2000; Rosenheim, 1998).

Durante la evaluación de infección de larvas de T. triozae en diferentes días de desarrollo sobre *B. cockerelli*, las concentraciones utilizadas de *B. bassiana* arrojaron diferencias significativas en la infección del parasitoide. El valor más alto de ésta variable (CL₉₀), registró una mayor proporción de infección de parasitoides. Este comportamiento también fue reportado por Ren *et al.* (2010) y Furlong (2004), lo cual indica que los dos aislamientos de *B. bassiana* fueron capaces de atravesar el integumento del hospedero y lograr la infección del parasitoide que en él se desarrollaba.

Aunque la ventaja competitiva de los hongos entomopatógenos es más alta que la de los parasitoides cuando ambos coinciden al mismo tiempo en el insecto hospedero (Furlong y Pell, 2005), los resultados del presente trabajo sugieren que la dosis utilizada también influye en la respuesta obtenida y a pesar de que los parasitoides lleven cierta ventaja en desarrollo, el hongo entomopatógeno puede afectar a una determinada proporción de parasitoides sobre todo en dosis altas. Si la ventaja en desarrollo del parasitoide es alta, muy cercana al tiempo de emergencia de los adultos, el efecto de los hongos entomopatógenos no es significativo (Figuras 5 A y B).

En el presente trabajo también se registró que el tiempo de desarrollo de los parasitoides sobre *B. cockerelli* influye ampliamente en la infección registrada tanto del hospedero como del parasitoide. Entre más tiempo pase en que el parasitoide sea infectado, menor será la probabilidad de su infección (Figuras 5 A y B). Este resultado es consistente con otros estudios de otras especies de hospederos y parasitoides (Hamdi *et al.*, 2011; Fuentes–Contreras *et al.*, 1998; Fransen y van Lenteren, 1994, Kim *et al.*, 2005; Powell *et al.*, 1986). Al igual que para el parasitoide, se observó que para el hospedero, entre más tiempo pasó en que el hongo entompatógeno estuviera en contacto con las ninfas parasitadas, el hospedero mostró menos síntomas de infección (datos no mostrados). No

existe una explicación única a este fenómeno, sin embargo se ha sugerido que los parasitoides pueden producir sustancias antimicóticas o inducir cambios en la hemolinfa del hospedero o su integumento y que entre más desarrollados se encuentren, pueden completar más fácilmente su ciclo, evitando la infección (Goettel et al., 1990; Willers et al.. 1982; Fransen y van Lenteren, 1994). La producción de fenoloxidasas como respuesta del sistema inmune de los insectos ante el ataque de algún ente externo tal como algún agente infeccioso, es una actividad que los insectos han desarrollado como parte de su estrategia evolutiva (Rajitha y Savithri, 2013; Dubovskiy et al., 2013; González-Santoyo y Córdoba-Aguilar, 2012), este fenómeno puede estar influyendo para que la virulencia de ambos aislamientos utilizados de B. bassiana se vean afectados al infectar a las larvas de T. triozae, adicionalmente cabe mencionar que, no se ha estudiado previamente el efecto de hongos entomopatógenos en general, sobre inmaduros de esta especie de parasitoide. Por otra parte, Valadez-Lira et al. (2012) y Hartzer et al. (2005), mencionan que la producción de fenoloxidasas se incrementa conforme se desarrollan los insectos, lo cual puede explicar que las larvas de T. triozae resultaran menos infectadas en etapas más avanzadas de desarrollo, además de que el mismo parasitoide puede estar secretando sustancias inmunosupresoras como respuesta natural de sobrevivencia ante la defensa de su hospedero (Hartzer et al., 2005) y que conforme avanza la edad del parasitoide se incrementa en grosor de su cutícula, que es la primera barrera que el patógeno necesita atravesar para lograr la infección (Hajek y St. Leger, 1994).

La emergencia de los parasitoides es comúnmente considerada como un indicativo en la evaluación de la infección de los entomopatógenos hacia estos enemigos naturales (Ren et al., 2010; Avery et al., 2008), ya que el parasitoide infectado, no emergerá del insecto hospedero. Por esta razón, en el presente trabajo se considera que los mismos factores que explican la inhibición o éxito de la infección, también explican los resultados de emergencia de los parasitoides, y las variables evaluados en el presente trabajo que favorecieron la infección, afectaron la emergencia, es decir, el comportamiento de infección de los parasitoides fue inverso a la emergencia de los mismos. Así, conforme se incrementó la dosis de los entomopatógenos, disminuyó la emergencia de los parasitoides. Por otra parte, tomando en cuenta el tiempo de desarrollo del parasitoide

dentro del insecto hospedero, encontramos que entre menos tiempo estuvo el hongo en contacto con el hospedero, se registró una mayor emergencia de parasitoides (Figura 7). Estos resultados son similares a los registrados por Ren *et al.* (2010), Mesquita y Lacey (2001), Kim *et al.* (2005) y Furlong (2004), pero contrarios a lo reportado por Pick *et al.* (2012), quienes mencionaron que *I. fumosorosea* no afectó la emergencia de *Lysiphlebus testaceipes* Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) de su hospedero *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) utilizando una concentración de 1x10⁷ UFC/mL hasta las seis semanas post aplicación. Hamdi *et al.* (2011) también reportaron que *L. muscarium* y *B. bassiana* no afectaron la emergencia de *E. formosa* de *T. vaporariorum* utilizando 3.9 x 10⁴ UFC/mL y 1.6X10⁵ UFC/mL de cada entomopatógeno, respectivamente.

La sobrevivencia de los adultos de *T. triozae* emergidos de hospederos infectados por *B. bassiana* fue menor en comparación con los insectos no tratados, así mismo, se notó un efecto en la interacción entre aislamientos y tiempo de desarrollo del parasitoide en el hospedero, encontrando que en general, si el parasitoide inmaduro pasa mayor tiempo sin infectarse, más tiempo sobrevive con el aislamiento GHA que con el BB40 (Figura 8). Estos resultados son similares a lo reportado por Hoechberg (1991), Brodeur y Rosenheim (2000) y Fuentes-Contreras *et al.* (1998), pero difieren de lo mencionado por Aiuchi *et al.* (2012) al reportar que la longevidad de hembras de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) no fue diferente entre los controles y las ninfas de *Aphis gossypii* tratadas con *Lecanicillium spp*.

Analizando únicamente a los aislamientos de entomopatógenos, no se encontraron diferencias significativas en sobrevivencia entre los dos hongos utilizados. Este comportamiento también fue reportado por Ren *et al.* (2010) utilizando *L. muscarium* y *E. furuhashii* sobre *B. tabaci* y difiere de lo mencionado por Hochberg (1991). En cuanto al tiempo de desarrollo de los parasitoides, no se registraron diferencias significativas en la sobrevivencia de *T. triozae*, lo cual difiere de lo mencionado por Hochberg (1991) y Brodeur y Rosenheim (2000).

Los resultados anteriores pudieron originarse debido a la calidad del alimento que ingirieron los parasitoides, la cual influye ampliamente en la longevidad de los mismos

(Lee *et al.*, 2004) y cuando un entomopatógeno coincide temporalmente con un parasitoide en el mismo hospedero, surge inevitablemente una competencia interespecífica por alimento (Furlong y Pell, 2005), por lo que la disponibilidad de este recurso también pudo afectar los resultados obtenidos, ya que al haber poco alimento y de calidad menor en hospederos infectados, los parasitoides que emergieron sobrevivieron menor tiempo que los que emergieron de hospederos sanos. Cabe mencionar que los parasitoides que emergieron de hospederos sanos no presentaron desarrollo del hongo después de su muerte, no obstante, los que emergieron de hospederos infectados, presentaron una frecuencia de infección que puede correlacionarse positivamente con la concentración utilizada (datos no mostrados) principalmente en etapas tempranas de desarrollo del parasitoide, lo cual siguiere un efecto sub letal de los hongos entomopatógenos en la sobrevivencia de los mismos.

8. CONCLUSIONES.

- a) La CL₅₀ *B. bassiana* tanto para *B. cockerelli* como para *T. triozae*, fue diferente para cada uno de los aislamientos evaluados. Para *B. cockerelli*; el aislamiento más virulento resultó ser el BB40, mientras que para *T. triozae*, fue el GHA.
- b) El parasitismo de *T. triozae* sobre ninfas infectadas, no fue afectado por la aplicación de ninguno de los aislamientos de los hongos entomopatógenos en las diferentes concentraciones utilizadas.
- c) La sobrevivencia de los adultos de *T. triozae* que se indujeron a parasitar ninfas infectadas, disminuyó conforme se incrementó el tiempo de desarrollo de la infección de las ninfas hospederas; asimismo, el número de estos parasitoides muertos por efecto de los hongos entomopatógenos se incrementó al aumentar la concentración aplicada.
- d) El comportamiento infectivo *B. bassiana* sobre larvas de *T. triozae* fue similar para los dos aislamientos utilizados, aunque éste resultó ser afectado por la concentración utilizada y el tiempo de desarrollo del parasitode.
- e) La infección de las ninfas parasitadas de *B. cockerelli*, afectó la emergencia de los parasitoides; asimismo, dicha emergencia se vio influenciada por la concentración aplicada de los entomopatógenos y el tiempo de desarrollo de los parasitoides.
- f) La sobrevivencia de los adultos de *T. triozae*, fue afectada por la infección de sus hospederos; sin embargo, el tiempo de desarrollo de los parasitoides y las concentraciones utilizadas de los entomopatógenos, no influyeron en la sobrevivencia de los adultos emergidos.
- g) Se recomienda el empleo del aislamiento Bb40 a la dosis CL₉₀ y la liberación del parasitoide 8 días antes de aplicar el patógeno, para mejorar el biocontrol de *B. cokerelli* en campo.

9. LITERATURA CITADA.

- Abdullah, N. M. M. 2008. Life history of the potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera:Psyllidae) in controlled environment agriculture in Arizona. Afr. J. Agric. Res. 3 (1): 60-67.
- Aiuchi, D., Saito, Y., Tone, J., Kanazawa, M., Tani, M. y Koike, M. 2012. The effect of entomopathogenic *Lecanicillium spp*. (Hypocreales: Cordycipitaceae) on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). Appl. Entomol. Zool. 47: 351-357.
- Al-Jabr, A. M. 1999. Integrated pest management of tomato/potato Psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae) with emphasis on its importance in greenhouse grown tomatoes. Ph. D. dissertation, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, U.S.A. 69 p.
- Arp, A., Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., Trumble, J. y Bextine, B. 2014. A global comparison of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) microbial communities. Environ. Entomol. 43 (2): 344-352.
- Avery, P. B., Faull, J. y Simmonds, M. S. J. 2008. Effects of *Paecilomyces fumosoroseus* and *Encarsia formosa* on the control of the greenhouse whitefly: preliminary assessment of a compatibility study. BioControl. 53: 303-316.
- Baumann, P. 2005. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. Ann. Rev. Microbiol. 59:155-189.
- Berry, N. A., Walker, M. K. y Butler, R.C. 2009. Laboratory studies to determine the efficacy of selected insecticides on tomato/potato psyllid. N. Z. Plant Prot. 62: 145-151.
- Boucek, J. 1988. *Tamarixia leucaenae* sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae) parasitic on the leucaena psyllid *Heteropsylla cubana* Crawford (Hemiptera) in Trinidad. Bull. Entomol. Res. 78 (3): 545-547.
- Bravo, M. E. 2002. Reduced insecticide use and biological control of tomato pests in Oaxaca. Agric. Téc. Méx., 28 (2): 137-149.
- Bravo, M. E. y López, L. P. 2007. Principales plagas del chile de agua en los valles centrales de Oaxaca. Agroproduce. Fundación Produce Oaxaca, Agroproduce. 7 (18): 12-15.
- Brodeur, J. y Rosenheim, J. A. 2000. Intraguild interactions in aphid parasitoids. Entomologia Experimentalis et Applicata. 97: 93-108.
- Burckhardt, D. y Lauterer, P. 1997. A taxonomic reassessment of the triozid genus *Bactericera* (Hemiptera: Psylloidea). J. Nat. History. 31 (1): 99-153.
- Burckhardt, D. y Ouvrard, D. 2012. A revised classification of the jumping plant-lice (Hemiptera: Psylloidea). Zootaxa. 3509:1-34.
- Burks, B. D. 1943. The North American parasitic wasps of the genus *Tetrastichus* a contribution to biological control of insects pests. Proc. U. S. Natl. Museum. 93 (3170): 505-608.

- Butler, C. D., Byrne, F. J., Keremane, M. L. Lee, R. F. y Trumble, J. T. 2011. Effects of insecticides on behavior of adult *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and transmission of *Candidatus Liberibacter psyllaurous*. J. Econ. Entomol. 104(2): 586-594.
- Butler, C. D. y Trumble, J. T. 2011. New records of hyperparasitism of *Tamarixia triozae* (Burks) by *Encarsia* spp. in California. The Pan-Pacific Entomol. 87: 130-133.
- Butler, C. D. y Trumble, J. T. 2012a. The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera:Triozidae): life, history, relationship to plant diseases and management strategies. Terr. Arthrop. Rev. 5: 87-111.
- Butler, C. D. y Trumble, J. T. 2012b. Identification and impact of natural enemies of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in Southern California. J. Econ. Entomol. 105 (5): 1509-1519.
- Butler, C. D, Walker, G.P. y Trumble, J. T. 2012. Feeding disruption of potato psyllid, *Bactericera cockerelli*, by imidacloprid as measured by electrical penetration graphs. Entomol. Exp. Appl. 142: 247–257.
- Butt, T. M. y Goettel, M. S. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. En: Navon, A. y Ascher, K.R.S. (Eds.). Bioassays of Entomopathigenic Microbes and Nematodes. CAB International. New York, U.S.A. Pp: 141-195.
- Casique-Valdés, R., Reyes-Martínez A. Y., Sánchez-Peña, S. R., Bidochka, M. J. y López-Arroyo, J. I. 2011. Pathogenicity of *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Cordycipitaceae) to *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Florida Entomol. 94 (3): 703-705.
- Cerón- González, C., Lomelí-Flores, J. R. Rodríguez-Leyva, E. y Torres-Ruiz, A. 2014. Fecundidad y alimentación de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido de la papa *Bactericera cockerelli*. Rev. Mex. Cienc. Agr. 5 (5): 893-899.
- Compere, H. 1943. A new species of *Metaphycus* parasite on Psyllids. Pan-Pacific Entomologist. 19: 71-73.
- Crawford, D. L. 1911. American Psyllidae III (Triozinae). Pomona Coll. J. Entomol. 3 (1): 421-453.
- Dávila, M. M. D., Cerna, Ch. E., Aguirre, U. L.A., García, M. O., Ochoa, F.Y.M., Gallegos, M.G. y Landeros, F. J. 2012. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en Coahuila, México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 3 (6):1145-1155.
- Dubovskiy, I. M., Whitten, M. M. A., Yaloslavtseva, O. N., Greig, C., Kryukov, V. Y., Grizanova, E. V., Mukherjee, K., Vilcinskas, A., Glupov, V. V. y Butt, T. M. 2013. Can insects develop resistance to insect pathogenic fungi? PLOS ONE 8 (4): e60248.
- EPPO. 2013. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm
- Escudero, G. G. G. 2011. Efectos de la calidad del huésped y edad del parasitoide en la proporción sexual de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae). Tesis de Maestría en

- Ciencias. Colegio de Postgraduados. Postgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología. 30 p.
- Feng, M. G., Poprawsky, T. J. y Khachatourians, G. G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Sci. Technol. 4: 3-34.
- Ferguson, K. I. y Stiling, P. 1996. Non-Additive effects of multiple natural enemies on aphid populations. Oecologia. 108 (2): 375-379.
- Fieller, E. C. 1944. A fundamental formula in the statistics of biological assay, and some applications. Quart J. Pharm. Pharmacol. 17: 117–123.
- Fransen, J. J. y van Lenteren, J. C. 1994. Survival of the parasitoid *Encarsia formosa* after treatment of parasitized greenhouse whitefly larvae with fungal spores of *Aschersonia aleyrodis*. Entomol. Exp. Appl. 71: 235-243.
- Fransen, J. J. y van Lenteren, J. C. 1993. Host selection and survival of the parasitoid *Encarsia formosa* on greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* in the presence of hosts infected with the fungus *Aschersonia aleyrodis*. Entomol. Exp. Appl. 69:239-249.
- Fuentes-Contreras, E. y Niemeyer, H. M. 2000. Effect of wheat resistance, the parasitoid *Aphidius rhopalosiphi*, and the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidis*, on population dynamics of the cereal aphid *Sitobion avenae*. Ent. Exp. Appl. 97: 109-114.
- Fuentes-Contreras, E., Pell, J. K. y Niemeyer, H. M. 1998. Influence of plant resistance at the third trophic level: interactions between parasitoids and entomopathogenic fungi of cereal aphids. Oecologia, 117: 426-432.
- Furlong, M. J. 2004. Infection of the immature stages of *Diadegma semiclausum*, an endolarval parasitoid of the diamondback moth, by *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 86: 52-55.
- Furlong, M. J. y Pell, J. K. 2005. Interactions between entomopathogenic fungi and arthropod natural enemies. En: Vega, F. E. y Blackwell, M. (Eds.). Insect-Fungal associations: Ecology and evolution. Oxford University Press. U.S.A. pp: 51-73.
- Furlong, M. J. y Pell, J. K. 2000. Conflicts between a fungal entomopathogen, *Zoophthora radicans*, and two larval parasitoids of the diamondback moth. J. Invertebr. Pathol. 76:85-94.
- Gharalari, A. H. 2012. Mortality and behavioral responses of adult potato psyllids, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae), to insecticides. Appl. Ent. Phytopath. 79 (2):1-14.
- Gharalari, A. H., Nansen, C., Lawson, D. S., Gilley, J., Munyaneza, J. E. y Vaughn, K. 2009. Knockdown mortality, repellency and residual effects of insecticides for control of adult Bactericera cockerelli (Hemiptera: Psyllidae). J. Econ. Entomol. 102 (3): 1032-1038.
- González-Santoyo, I. y Córdoba-Aguilar, A. 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. Entomol. Exp. Appl. 142: 1-16.
- Goettel, M. S., Poprawski, T. J., Vandenberg, J. D., Li, Z y Roberts, D. W. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. En: Laird, M., Lacey, L.A. y Davidson, E.W. (Eds.). Safety of Microbial Insceticides. C.R.C. Press. Boca Raton, FL. Pp: 209-231.

- Goolsby, J. A., Adamczyk, J., Bextine, B., Lin, D., Munyaneza, J. E. y Bester, G. 2007. Development of an IPM program for management of the potato psyllid to reduce incidence of zebra chip disorder in potatoes. Subtrop. Plant Sci. 59: 85-94.
- Guenthner, J., Goolsby, J. y Greenway, G. 2012. Use and cost of insecticides to control potato psyllids and zebra chip on potatoes. Southwestern Entomol. 37(3):263-270.
- Hail, D., Dowd, S. E. y Bextine, B. 2012. Identification and location of symbionts associated with potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) lifestages. Environ Entomol. 41 (1): 98-107.
- Hamdi, F., Farges, J., Ridray, G., Jeannequin, B. y Bonato, O. 2011. Compatibility among entomopathogenic hyphocreales and two beneficial insects used to control *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Mediterranean greenhouses. J. Invertebr. Pathol. 108: 22-29.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R. y Paine, T. D. 2008. A new Huanglongbing species, "*Candidatus* Liberibacter *psyllaurous*," found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Appl. Environ. Microbiol. 74: 5862-5865.
- Hartzer, K. L., Zhu, K. Y. y Baker, J. E. 2005. Phenoloxidase in larvae of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): molecular cloning of the proenzyme cDNA and enzyme activity in larvae paralyzed and parasitized by *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Arch. Insect. Biochem. Physiol. 59 (2): 67-79.
- Hawkins, B. A., Cornell, H. V. y Hochberg, M.E. 1997. Predators, parasitoids and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. Ecology. 78 (7) 2145-2152.
- Hajek, A. E. y Goettel, M. S. 2007. Guidelines for evaluating effects of entomopathogens on non-target organisms. En: Lacey, L. A. y Kaya, H. K. (Eds.). Field manual of techniques in invertebrate pathology. Second edition. Springer, U.S. A. Pp. 815 - 833.
- Hajek, A. E. y St. Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Ann. Rev. Entomol. 39: 293-322.
- Hodkinson, I. D. 2009. Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. J. Nat. History. 43 (1–2): 65–179.
- Hochberg, M. E. 1991. Intra-Host Interactions between a Braconid Endoparasitoid, *Apanteles glomeratus*, and a Baculovirus for larva of *Pieris brassicae*. J. Animal Ecol. 60 (1): 51-63.
- Hochberg, M. E. y Lawton, J. H. 1990. Competition between kingdoms. Trends Ecol. Evol. 5 (11): 367-371.
- Hoddle, M.S. y Pandey, R. 2014. Host range testing of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) sourced from the Punjab of Pakistan for classical biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae: Euphyllurinae: Diaphorinini) in California. J. Econ. Entomol. 107 (1): 125-136.
- Hoddle, M. S., Van Driesche, R. G. y Sanderson, J. P. 1998. Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. Annu. Rev. Entomol. 43: 645-669.

- Horne, P.A., Ridland, P.M., y New, T.R. 2001. *Micromus tasmaniae*: a key predator on aphids on field crops on Australasia? In: McEwen, P.K., New, T. R. and Whittington, A.E. (Eds.). Lacewings in the Crop Environment. Cambridge University Press. Pp: 388-394.
- Inglis, G. D., Enkerli, J. y Goettel, M. S. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. En: Lacey, L. A (Ed.). Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Second Edition. Academic Press. U.S.A. Pp: 189-253.
- Jensen, D. D. 1957. Parasites of the Psyllidae. Hilgardia. 27: 71-98.
- Jerinic-Prodanovic, D. y Protic L. 2013. True bugs (Hemiptera, Heteroptera) as psyllid predators (Hemiptera, Psylloidea). ZooKeys. 319:169-189.
- Johnson, T. E. 1971. The effectiveness of *Tetrastichus triozae* Burks (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent of *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae) in north central Colorado. M.S. Thesis, Colorado State University, Fort Collins, CO. 45 p.
- Jorgensen, N., Butler R. C. y Vereijssen, J. 2013. Biorational insecticides for control of the tomato potato psyllid. N. Z. Plant Prot. 66: 333-340.
- Jorgensen, N., Taylor, N., Berry, N. y Butler, R. 2011. Seasonal abundance of *Bactericera cockerelli* and beneficial insects in a potato crop in Canterbury. N. Z. Plant Prot. 64:292.
- Kim, J. J., Kim, K. Ch. y Roberts, D. W. 2005. Impact of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* on development of an aphid parasitoid, *Aphidius colemani*. J. Invertebr. Pathol. 88 (3): 254-256.
- Knowlton, G. F. 1934. A big-eyed predator of the potato psyllid. Florida Entomol. 18: 40-43.
- Knowlton, G. F. 1933a. Aphis lion predator of the potato psyllid. J. Econ. Entomol. 26: 997.
- Knowlton, G. F. 1933b. Ladybird beetles as predators of the potato psyllid. Can. Entomol. 65: 241-243.
- Lacey, L. A., De la Rosa, F. y Horton, D. R. 2009. Insecticidal activity of entomopathogenic fungi (Hypocreales) for potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae):
 Development of bioassay techniques, effect of fungal species and stage of the psyllid. Biocontrol Sci. Technol. 19 (9): 957-970.
- Lacey, L. A., Liu, T. X., Buchman, J. L., Munyaneza, J. E., Goolsby, J. A. y Horton, D. R. 2011. Entomopathogenic fungi (Hypocreales) for control of potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) in an area endemic for zebra chip disease of potato. Biol. Control. 56: 271-278.
- Lacey, L. y Mesquita, A. L. 2002. Interaction of entomopathogenic fungi, insect parasitoids and their hosts. Invertebrate Pathology International Colloquium Proceedings. VIII: 31-35.
- Lee, J. C., Heimpel, G. E. y Leibee, G. L. 2004. Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp. Entomol. Exp. Appl. 111: 189–199.
- León, N. y Sinaloa, S. 2013. Bactericera cockerelli. Bulletin OEPP/EPPO Bull. 43: 202-208.

- Liu, D. y Trumble, J. T. 2007. Comparative fitness of invasive and native populations of the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). Entomol. Exp. Appl. 123: 35–42.
- Liu, D. y Trumble, J. T. 2005. Interactions of plant resistance and insecticides on the development and survival of *Bactericerca cockerelli* [Sulc] (Homoptera: Psyllidae) Crop Prot. 24: 111–117.
- Liu, D. y Trumble, J. T. 2004. Tomato psyllid behavioral responses to tomato plant lines and interactions of plant lines with insecticides. J. Econ. Entomol. 97 (3):1078-1085.
- Liu, D., Trumble, J. T. y Stouthamer, R. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. Entomol. Exp. Appl. 118: 177–183.
- Lomelí-Flores, J. R. y Bueno-Partida, R. 2002. Nuevo Registro de *Tamarixia triozae* (Burks) parasitoide del Psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae) en México. Folia Entomol. Mex. 41(3): 375-376.
- López, M. B. 2012. Variación genética de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en las zonas paperas de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. 76 p.
- Lord, J. C. 2001. Response of the wasp *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethylidae) to *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as free conidia or infection in its host, the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). Biol. Control. 21: 300-304.
- Luna-Cruz, A., Lomeli-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Ortega-Arenas, L. D. y Huerta-de la Peña, A. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Acta Zool. Mex. 27(3): 509-526.
- Mauchline, N. A., Stannard, K. A. y Zydenbos, S. M. 2013. Evaluation of selected entomopathogenic fungi and bio-insecticides against *Bactericera cockerelli* (Hemiptera). N. Z. Plant Prot. 66:324-332.
- McGregor, R. R. 2013. *Bactericera cockerelli* (Sulc.), Tomato/Potato Psyllid (Hemiptera: Triozidae). En: Mason, P. G., y Gillespie, D. R. (Eds.). Biological Control programmes in Canada 2001-2012. CAB International. Oxfordshire, UK. Pp:107-112.
- Mesquita, A. L. M. y Lacey, L. A. 2001. Interactions among the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), the parasitoid *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) and their aphis host. Biol. Control. 22:51-59.
- Meyling, N. V. y Eilenberg, J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. Biol. Control. 43:145-155.
- Morales, A. S.I., Martínez, A. M., Figueroa, J. I., Espino, A. M., Chavarrieta, Y. J. M., Ortíz, R. R., Rodríguez, E. Ch. L., y Pineda, S. 2013. Life parameters of the synovigenic parasitoid *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae). Rev. Col. Entomol. 39 (2): 243-249.

- Munyaneza, J. E. 2012. Zebra Chip disease of potato: biology, epidemiology and management. Am. J. Potato Res. 89 (5): 329-350.
- Munyaneza, J. E., Buchman, J. L., Upton, J. E., Goolsby, J. A., Crosslin, J. M., Bester, G., Miles, G. P. y Sengoda, V. G. 2008. Impact of different potato psyllid populations on Zebra Chip disease incidence, severity and potato yield. Subtrop. Plant Sci. 60: 27.37.
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M. y Upton, E. J. 2007a. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera:Psylidae) with "Zebra Chip", a new potato disease in Southwestern United States and Mexico. J. Econ. Entomol. 100 (3): 656-663.
- Munyaneza, J. E., Goolsby, J. A., Crosslin, J. M. y Upton, E. J. 2007b. Further evidence that Zebra Chip potato disease in the Lower Rio Grande Valley of Texas is associated with *Bactericera cockerelli*. Subtrop. Plant Sci. 59: 30-37.
- Nachappa, P., Levy, J., Pierson, E. y Tamborindeguy, C. 2011. Diversity of Endosymbionts in the Potato Psyllid, Bactericera cockerelli (Hemiptera: Triozidae), Vector of Zebra Chip Disease of Potato. Curr. Microbiol. 62:1510–1520.
- O'Conell, D. M., Wratten, S. D., Pugh, A. R. y Barnes, A. M. 2012. 'New species association' biological control? Two coccinellid species and an invasive psyllid pest in New Zealand. Biol. Control. 62: 86-92.
- Page-Weir, N. E. M., Jamieson, L. E., Chhagan, A., Connolly, P. G. y Curtis, C. 211. Efficacy of insecticides against the tomato/potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). N. Z. Plant Prot. 64: 276-281.
- Payne, R.W., Murray, D.A., Harding, S. A., Baird, D. B. y Soutar, D. M. 2005. GenStat for Windows (8th Edn.), introduction. VSN International, Hemel Hempstead.
- Pick, D. A., Avery, P. B., Hunter, W. B., Powell, Ch. A. y Arthurs, S. P. 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 (3): 764-766.
- Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc): its biology and control. Montana State College, Agricultural Experiment Station. 95 p.
- Posos-Ponce, P., Santillan-Santana, J., Martínez-Ramírez, J. L., Durán-Martínez, C. M., Enciso-Cabral, G. y Monroy-Reyes, B. 2007. Biocontrol of (*Paratrioza cockerelli*) in husk tomato (*Physallis ixocarpus*), in Jalisco, México. Resist. Pest Manag. Newsletter 16 (2): 12-14.
- Powell, W., Wilding, N., Brobyn, P. J. y Clark, S. J. 1986. Interference between parasitoids (*Hym.: Aphidiidae*) and fungi (Entomophthorales) attacking cereal aphids. Entomophaga. 31: 293-302.
- Pugh, A. R. 2013. The potential of *Cleobora mellyi* (southern ladybird) as a biological control agent of the invasive tomato-potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) on potatoes. M.S. Dissertation. Lincoln University, N. Z. 70 p.

- Rajitha, K. y Savithri, G. 2013. Phenoloxidase activity in haemolynph of silkworm *Bombix mori* L. during the development of fungal pathogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. International J. Rec. Sci. Res. 4 (9): 1391-1394.
- Rehner, S. A. 2005. Phylogenetics of the insect pathogenic genus *Beauveria*. En: Vega, F. E. y Blackwell, M. (Eds.). Insect-Fungal associations: Ecol. Evol. Oxford University Press. U.S.A. pp: 3-27.
- Ren, S. X., Ali, S., Huang, Z., y Wu, J. H. 2010. Lecanicillium muscarium as microbial insecticide against whitefly and its interaction with other natural enemies. En: Méndez-Vilas A (Ed.). Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. FORMATEX. Microbiology Series No. 2. Vol. 1. Spain. Pp: 339 348.
- Richards, B. L. 1928. Potato psyllid yellows in Utah. Plant Dis. Reporter. 12(4):43.
- Richards, B. L. y Blood, H. L. 1933. Psyllid yellows of the potato. J. Agr. Res. 46(3):189-21
- Richards, B. L., Blood, H. L. y Linford, M. B. 1927. Destructive outbreak of unknown potato disease in Utah. Plant Dis. Reporter. 11(8):93-94
- Rojas, R. P. 2010. Biología de *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoide de *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trizidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de Méx. 48 p.
- Rojas, P., Rodríguez-Leyva, E., Lomelí-Flores, J. R. y Tong-Xiang, L. 2014. Biology and life history of *Tamarixia triozae*, a parasitoid of the potato psyllid *Bactericera cockerelli*. BioControl. 1-9. DOI 10.1007/s10526-014-9625-4.
- Romney, V. E. 1939. Breeding areas of the tomato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc). J. Econ. Entomol. 32: 150-151.
- Rosenheim, J. A. 1998. Higher-order predators and the regulation of insect hervibore populations. Annu. Rev. Entomol. 43: 421-447.
- Roy, H. E. y Pell, J. K. 2000. Interactions between Entomopathogenic Fungi and Other Natural Enemies: Implications for Biological Control. Biocontrol Sci. Technol. 10 (6): 737-752.
- Sánchez-Peña, S. R., Casas-De-Hoyo, E., Hernández-Zul, R. y Wall, K. M. 2007. A Comparison of the activity of soil fungal isolates against three insect Pests. J. Agric. Urban Entomol. 24(1): 43-47.
- Secor, G. A., Rivera, V. V., Abad, J. A., Lee, I. M., Clover, G. R. G., Liefting, L. W., Li, X. De Boer, S. H. 2009. Association of "*Candidatus* Liberibacter *solanacearum*" with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy and PCR. Pnat Disease. 39 (6): 574-583.
- Sengoda, V. G., Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., Buchman, J. L. y Pappu, H. R. 2010. Phenotypic and etiological differences between psyllid yellows and zebra chip diseases of potato. Am. J. Pot. Res. 87: 41-49.
- Staples, R. 1968. Cross protection between a plant virus and potato psyllid yellows. J. Econ. Entomol. 61 (1): 1378-1380.

- Stiling, P. y Cornelissen, T. 2005. What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. Biol. Control. 34: 236-246.
- Sulc, K. 1909. *Trioza cockerelli n. sp.*, a novelty from North America, being also of economic importance. Acta Societatis Entomologicae Bohemiae. 6: 102-108.
- Tamayo-Mejía, F., Tamez-Guerra, P., Guzmán-Franco, A., Gómez-Flores, R. y Cruz-Cota, L.
 R. 2014. Efficacy of entomopathogenic fungi (Hypocreales) for *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) control in the laboratory and field. Southwestern Entomol. 39 (2): 271-283.
- Teulon, D. A., Workman, P. J., Thomas, K. L. y Nielsen, M.C. 2009. *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand. N. Z. Plant Prot. 62: 136-144.
- Tran, L. T., Worner, S. P., Hale, R. J. y Teulon, D. A. J. 2012. Estimating development rate and thermal requirements of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) reared on potato and tomato by using linear and nonlinear models. Environ. Entomol. 41(5): 1190-1198.
- Tucuch-Haas, J. I., Rodríguez-Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, A., Silva-Aguayo, G., Aguilar-Medel, S., Robles-Bermudez, A. y Gonzalez-Camacho, J. M. 2010. Toxicidad de Spiromesifen en los estados biológicos de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Neotrop. Entomol. 39 (3):436-440.
- Valadez-Lira, J. A., Alcocer-Gonzalez, J. M., Damas, G., Nuñez-Mejía, G., Oppert, B., Rodriguez-Padilla, C. y Tamez-Guerra, P. 2012. Comparative evaluation of phenoloxidase activity in different larval stages of four lepidopteran pests after exposure to *Bacillus thuringiensis*. J. Insect Sci. 12:80 available online: insectscience.org/12.80.
- Vega, Ch. J. L. 2013. Biología de *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc) a diferentes temperaturas. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Postgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología. 37 p.
- Vega, F. E., Dowd, P. F. y Bartelt, R. J. 1995. Dissemination of microbial agents using an autoinoculating device and several insect species as vectors. Biol. Control. 5 (4): 545-552.
- Vega-Gutiérrez, M. T., Rodríguez-Maciel, J. C., Díaz-Gómez, O., Bujanos–Muñiz, R., Mota-Sánchez, D., Martínez-Carrillo, J. L., Lagunes-Tejeda, A. y Garzón-Tiznado, J. A. 2008. Susceptibility to insecticides in two Mexican populations of tomato-potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). Agrociencia. 42: 463-471.
- Xiang-Bing, Y. y Tong-Xian, L. 2009. Life history and life tables of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) on eggplant and bell pepper. Environ. Entomol. 38 (6): 1661-1667.
- Xiang-Bing, Y., Yong-Mei, Z., Lei, H., y Tong-Xian, L. 2010a. Life history and life tables of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae) on potato under laboratory and field conditions in the Lower Rio Grande Valley of Texas. J. Econ. Entomol. 103 (5):1729-17-34.
- Xiang-Bing, Y., Yong-Mei, Z., Lei, H., Peng, J. N., Munyaneza, J. E., Trumble, J. T. y Tong-Xian, L. 2010b. Repellency of selected biorational insecticides to potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae). Crop Prot. 29: 1320-1324.

- Walker, G., F. MacDonald, N. Larsen, y A. R. Wallace. 2011. Monitoring *Bactericera cockerelli* and associated insect populations in potatoes in South Auckland. N. Z. Plant Prot. 64: 269-275.
- Wallis, L. R. 1955. Ecological studies on the potato psyllid as a pest of potatoes. USDA. Technical Bulletin No. 1107. 24p.
- Weber, D. C. 2013. Biological control of potato insect pests. En: Giordanengo, P., Vincent, Ch. y Alyokhin, A. (Eds.). Insect Pests of Potato. Global Perspectives on Biology and Management. Academic Press. Oxford, U. K. Pp: 399-437.
- Willers, D., Lehmann-Danzinger, H. y Führer, E. 1982. Antibacterial and antimicotic effect of a newly discovered secretion from larvae of an endoparasitic insect, *Pimpla turionellae* L. (Hym.). Arch. Microbiol. 133: 225-229.
- Workman P. J., y Whiteman, S. A. 2009. Importing *Tamarixia triozae* into containment in New Zealand. N. Z. Plant Prot. 62: 412.
- Wraight, S. P., Ramos, M. E., Avery, P. B., Jaronski, S. T. y Vandenberg, J. D. 2010. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* against lepidopteran pests of vegetable crops. J. Invertebr. Pathol. 103: 186-199.
- Yefremova, Z., González-Santarosa, G., Lomelí-Flores, J. R. y Bautista-Martínez, N. 2014. A new species of *Tamarixia* Mercet (Hymenoiptera, Eulophidae), parasitoid of *Troiza* aguacate Hollis & Martin (Hemiptera, Triozidae) in México. Zookeys. 368: 23-35.
- Zuparko, R. L., De Queiroz, D. L. y La Salle, J. 2011. Two new species of *Tamarixia* (Hymenoptera: Eulophidae) from Chile and Australia, established as biological control agents of invasive psyllids (Hemiptera: Calophyidae, Triozidae) in California. Zootaxa. 2921: 13 27.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Fernando Tamayo Mejía

Candidato al Doctor en Ciencias con Acentuación en Microbiología

Tesis: PARASITISMO DE *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) SOBRE *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) Y SU INTERACCIÓN CON AISLAMIENTOS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales).

Campo de estudio: Microbiología

Datos Personales: Nacido en Tenextepango, Morelos el 1 de Mayo de 1972, hijo de Vicente Tamayo Vargas y Oliva Mejía Salazar.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma Chapingo, grado obtenido Ingeniero Agrónomo con Especialidad en Parasitología Agrícola en 1994. Maestría en Ciencias por el Colegio de Postgraduados, con especialidad en Entomología y Acarología en 1998.

Experiencia profesional: Trabajó en el Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Puebla de 1994-1995 y en el Colegio de Postgraduados durante 1997-1998. De 1998 a la fecha labora en la Secretaría de Desarrollo Agroalimentario y Rural del Gobierno del Estado de Guanajuato.

Publicaciones derivadas de la tesis:

Tamayo-Mejía, F., Tamez-Guerra P., Guzmán-Franco, A., Gomez-Flores, R., and Cruz-Cota, L. R. 2014. Laboratory and field efficacy of Entomopathogenic fungi (Hypocreales) for the control of *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). Southwestern Entomologist. 39(2):271-283. IF= 0.5. Accepted June-04-2014. Published on June-25-2014. ISSN: 0147-1724. DOI: http://dx.doi.org/10.3958/059.039.0205

Tamayo-Mejía, F., Tamez-Guerra P., Guzmán-Franco, A.W., and Gomez-Flores, R. 2015. Survival of *Bactericera cockerelli*(Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) nymphs after *Beauveria bassiana* Vals. (Buill) (Ascomycetes: Hypocreales) infection, alone or in combination with *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitism. Pest Management Science. PM-14-0706. IF= 2.743.

Tamayo-Mejía, F., P. Tamez-Guerra, A. W. Guzmán-Franco, and R. Gomez-Flores. 2014. *Bactericera cockerelli*(Hemiptera: Triozidae) biocontrol strategy based on *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) dosage and *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) application time. Pest Management Science. IF= 2.743. PM-14-0712, IF= 2.743.

Otras publicaciones:

Ocampo-Hernández, J. A., Tamez-Guerra, P., Tamayo-Mejía, F. Guzmán-Franco, A., Figueroa de la Rosa, J. I. y Martínez, A. M. 2011. Susceptibility of the Mexican bean beetle *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) to endemic isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae). Journal of Pest Science, 84: 471-477. DOI 10.1007/s10340-011-0369-y

Guzmán-Franco, A. W., Hernández-López, J., Enríquez-Vara, J. N., Alatorre-Rosas, R., Tamayo-Mejía, F. y Ortega-Arenas, L. D. 2012. Susceptibility of *Phyllophaga polyphylla* and *Anomala cincta* larvae to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates, and the interaction with soil properties. BioControl, 57:553–563. DOI 10.1007/s10526-011-9421-3