

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Aschersonia* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE MOSQUITA BLANCA**

POR

ANA REBECA RUÍZ LÓPEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

2025

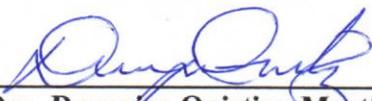
**IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Aschersonia* SPP. COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE MOSQUITA BLANCA**

**Comité de Tesis**



---

**Dr. Alonso Alberto Orozco Flores**  
Director de Tesis



---

**Dra. Deyanira Quistian Martínez**  
Secretario



---

**Dra. Diana Aguirre Cavazos**  
Vocal 1



---

**Dr. José Alberto Valadez Lira**  
Vocal 2



---

**Dra. Julissa Ek Ramos**  
Vocal 3



---

**Dra. Katiushka Arevalo Niño**  
Subdirectora de Posgrado

DIRECCIÓN DE POSGRADO

**IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Aschersonia* SPP.  
COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE MOSQUITA BLANCA**

**Dirección de Tesis**



---

**Dr. Alonso Alberto Orozco Flores**  
Director de Tesis



---

**Dra. Orquídea Pérez González**  
Director Externo

AVISO DERECHOS DE AUTOR

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Unidad de Formulación de Biológicos del Laboratorio de Inmunología y Virología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por brindarme el espacio y los materiales necesarios para llevar a cabo este trabajo. Gracias a los alumnos y al personal del laboratorio por su apoyo, colaboración y por el buen ambiente durante todo el proceso.

A mi comité de tesis y a mis directores, por su orientación, tiempo y confianza.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Ciencias Biológicas, y al equipo de posgrado, por facilitar los medios y acompañar mi formación académica.

A la Dra. María Cristina Rodríguez Padilla, por permitir el uso de las instalaciones bajo su coordinación.

A CONACYT, por el apoyo financiero otorgado.

A mis amigos, por estar siempre presentes con palabras de aliento y compañía.

A mi familia, por su amor y apoyo incondicional en todo momento.

Y también al equipo de servicio social, por su compromiso y dedicación.

Gracias a todos los que, de una u otra forma, hicieron posible esta tesis.

## **DEDICATORIAS**

Dedico esta tesis a ti, lector, porque tinta sin leer es solo mancha

# INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	5
DEDICATORIAS.....	6
INDICE .....	7
INDICE DE FIGURAS.....	9
RESUMEN .....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. ANTECEDENTES .....	15
2.1 Importancia de la agricultura en México .....	15
2.2 Mosquita blanca como plaga .....	15
2.3 Ciclo de vida de mosca blanca.....	16
2.4 Daños causados por la mosquita blanca .....	16
2.5 Control biológico en México .....	16
2.6 Control biológico de la mosquita blanca .....	17
2.7 <i>Aschersonia</i> y su uso como agente de control biológico.....	18
2.8 Ciclo infectivo de <i>Aschersonia</i> .....	19
2.9 Identificación molecular de <i>Aschersonia</i> spp.....	19
3. JUSTIFICACIÓN .....	21
4. HIPÓTESIS .....	22
5. OBJETIVO DEL TRABAJO.....	23
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
6.1 Cepas de <i>Aschersonia</i> spp.....	24

6.2	Cría de insectos .....	24
6.3	Identificación de las cepas de <i>Aschersonia</i> .....	24
6.3.1	Identificación morfológica.....	24
6.3.2	Identificación molecular .....	25
6.4	Estandarización de producción de blastosporas.....	25
6.5	Cuantificación del volumen asperjado por atomizadores manuales .....	26
6.6	Evaluación de patogenicidad de <i>Aschersonia</i> en mosquita blanca.....	26
6.6.1	Sincronización de la cría de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> .....	26
6.6.2	Evaluación de la patogenicidad de conidios y blastosporas .....	26
6.6.3	Bioensayo de concentración respuesta .....	27
7.	RESULTADOS .....	28
7.1	Identificación morfológica y molecular de cepas de <i>Aschersonia</i> spp.....	28
7.1.1	Identificación morfológica.....	28
7.1.2	Identificación molecular .....	28
7.2	Estandarización de la producción de blastosporas.....	28
7.3	Evaluación de patogenicidad de <i>Aschersonia</i> en mosquita blanca.....	30
7.3.1	Evaluación de patogenicidad de conidios en mosquita blanca .....	30
7.3.2	Evaluación de patogenicidad de blastosporas en mosquita blanca.....	31
7.4.3	Bioensayo de concentración respuesta (concentración letal media).....	32
8.	DISCUSIÓN .....	34
	CONCLUSIONES .....	38
	REFERENCIAS.....	40

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cinética de crecimiento de la cepa OP-ASCH-2. Las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.....	29
<b>Figura 2</b> Cinética de crecimiento OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.....	29
Figura 3 Cinética de crecimiento OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.....	30
<b>Figura 4</b> Porcentaje de mortalidad de ninfas del segundo instar de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> . En condiciones de laboratorios después de la aplicación mediante aspersion de conidios de <i>Aschersonia</i> . Control positivo = <i>Beauveria bassiana</i> , control negativo = Agua; Las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones, y las letras diferencias significativas $p < 0.05$ . .....	31
<b>Figura 5</b> Porcentaje de mortalidad de ninfas del segundo instar de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> . En condiciones de laboratorios después de la aplicación mediante aspersion de blastosporas de <i>Aschersonia</i> . Control positivo = <i>Beauveria bassiana</i> , control negativo = Agua. Letras representan diferencias estadísticas.....	32
<b>Figura 6.</b> Bioensayo de concentración respuesta de OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.....	33

## RESUMEN

La mosquita blanca silvestre, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemíptera: Aleyrodidae); y la mosquita blanca de invernadero *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemíptera: Aleyrodidae) son plagas agrícolas de cultivos de gran importancia económica como el tomate, cítricos, pepino, frijol, entre otros. Su control se realiza principalmente con pesticidas químicos, que presentan múltiples desventajas ambientales. Por lo que, se buscan alternativas sostenibles como el control microbiológico, utilizando virus, bacterias y hongos entomopatógenos, representando una herramienta ambiental amigable. Entre los hongos entomopatógenos, el género *Aschersonia* (*Moelleriella*) (Hypocreales: Clavicipitaceae) es capaz de infectar específicamente la mosquita blanca, sin causar daño a la planta hospedera ni a otras especies de insectos benéficos asociadas a ella. Por lo cual el objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de los conidios de diferentes cepas del género *Aschersonia* recolectadas en cultivos en San Luis Potosí, Quintana Roo y Chiapas, como agentes de control biológico. Los aislamientos fueron identificados morfológica y molecularmente dentro el género *Moelleriella* (Antes conocida como *Aschersonia*), con la cepa OP-ASCSL-5 estrechamente relacionada con *Moelleriella turbinata*. La cepa OP-ASCSL-5 mostró el mejor desempeño en producción de blastosporas ( $1.3 \times 10^7$ /mL en 14 días) y mayor eficacia patogénica contra *T. vaporariorum*, tanto con conidios (75.02% de mortalidad) como con blastosporas (71.17% de mortalidad). También, presentó una  $CL_{50}$  más baja de  $5.5 \times 10^6$  conidios/mL, lo que la posiciona como la mejor candidata para el desarrollo de un bioinsecticida y futuras pruebas en campo.

## ABSTRACT

The wild whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), and the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae), are agricultural pests of crops with high economic importance such as tomato, citrus, cucumber, bean, among others. Their control is mainly carried out with chemical pesticides, which have multiple environmental disadvantages. Therefore, sustainable alternatives are being sought, such as microbiological control using viruses, bacteria, and entomopathogenic fungi, representing an environmentally friendly tool. Among the entomopathogenic fungi, the genus *Aschersonia* (*Moelleriella*) (Hypocreales: Clavicipitaceae) is capable of specifically infecting whiteflies, without causing harm to the host plant or to other beneficial insect species associated with it. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficacy of conidia from different strains of the genus *Aschersonia* collected from crops in San Luis Potosí, Quintana Roo, and Chiapas, as biological control agents. The isolates were morphologically and molecularly identified within the genus *Moelleriella* (formerly known as *Aschersonia*), with strain OP-ASCSL-5 being closely related to *Moelleriella turbinata*. Strain OP-ASCSL-5 showed the best performance in blastospore production ( $1.3 \times 10^7$ /mL in 14 days) and the highest pathogenic efficacy against *T. vaporariorum*, both with conidia (75.02% mortality) and blastospores (71.17% mortality). It also exhibited the lowest  $LC_{50}$  value of  $5.5 \times 10^6$  conidia/mL, positioning it as the best candidate for the development of a bioinsecticide and future field trials.

# 1. INTRODUCCIÓN

La agricultura en México es esencial tanto para su economía como para su identidad cultural, con cerca de 900 especies de cultivos, incluyendo granos básicos como maíz y frijol. Además, es un importante exportador de productos agroalimentarios como limón, tomate y aguacate; lo que lo ha consolidado en el top 10 de países productores hortofrutícolas a nivel mundial. Este sector no solo genera ingresos significativos, sino que también promueve el empleo en zonas rurales y fortalece la seguridad alimentaria (SADER 2022).

Las mosquitas blancas, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemíptera: Aleyrodidae) y *Trialeurodes vaporariorum* Westwood 1856 (Hemíptera: Aleyrodidae), son de los insectos plaga con mayor importancia en la agricultura. *T. vaporariorum* es una de las plagas de mayor importancia en los cultivos de invernadero. Es un insecto polífago que se alimenta del floema de plantas como la papa, tomate, tabaco, chile y algodón. (Khan y Wan 2015; Gonzáles-Dufau et al. 2018). Además, presenta un gran número de generaciones por ciclo de cultivo y alcanza altas densidades poblacionales. Todos los estadios ninfales y los adultos se alimentan en el envés de las hojas, lo que provoca un daño significativo a la planta. (Osborne y Landa 1992). *Trialeurodes* es un vector de virus de importancia agrícola. Estos virus pertenecen al género Geminivirus. Las infecciones por Geminivirus pueden confundirse con deficiencias nutricionales o efectos de pesticidas, causando amarillamiento internerval, fragilidad foliar, reducción del vigor y disminución en el rendimiento. Estos virus permanecen en el floema, donde forman inclusiones virales que interfieren con el transporte vascular, afectando el desarrollo de las plantas infectadas (Wisler y Duffus 2001).

En el manejo de la mosca blanca *T. vaporariorum* generalmente se hace uso de plaguicidas sintéticos de forma indiscriminada, que solo ha sido un paliativo, y su uso genera resistencia en la plaga y elimina los enemigos naturales, lo que ocasiona un impacto ambiental negativo, contaminando el aire, agua y suelo e intoxicando a organismos no blanco incluyendo al humano (Rodríguez 2001).

Se propone el uso de organismos vivos (control biológico), como método para controlar las poblaciones de esta plaga, haciéndola menos dañinas de lo que sería en ausencia de dicho control. Los enemigos naturales de los insectos desempeñan un papel importante en limitar las densidades de las plagas, incluyen depredadores, parasitoides y patógenos (DeBach 1964), que al emplearse

como agentes de control biológico causan un cambio en la dinámica de la población blanco disminuyendo el daño generado a la planta (Huerta *et al.* 2014). En México, el uso del control biológico para reducir las plagas ha experimentado un notable incremento desde 1980. Este creciente interés se refleja en la creación de la Sociedad Mexicana de Control Biológico en 1989. (Barrera 2015).

Los hongos entomopatógenos han captado la atención de empresas y organismos de investigación por su capacidad para controlar insectos y enfermedades sin causar daños al medio ambiente ni a la salud humana (Guédez *et al.* 2008). El control biológico con hongos presenta claras ventajas, ya que no afecta a los trabajadores agrícolas, actúa de manera sostenible en la biodiversidad y garantiza productos de alta calidad al no dejar residuos químicos (Cristancho 2003).

Los hongos entomopatógenos infectan a sus hospederos en varias etapas. El conidio se adhiere a la cutícula del insecto y secreta enzimas para facilitar su germinación formando un tubo germinativo que penetra la cutícula mediante presión mecánica y acción enzimática, permitiendo que el hongo se desarrolle dentro del insecto; Una vez en la hemolinfa, prolifera y libera toxinas que provocan la muerte del hospedero; Finalmente, el hongo invade completamente el cuerpo del insecto y se desarrolla externamente, asegurando la dispersión de nuevas esporas (Osborne y Landa 1992). Los hongos entomopatógenos matan al huésped por diversos medios, desde la inanición hasta la multiplicación en el huésped y la producción de toxinas. Dado el hábito patógeno, no es sorprendente que produzcan enzimas y toxinas extracelulares incluyendo una variedad de quitinasas y proteasas que ayudan a la penetración de las defensas físicas del huésped (Goettel *et al.* 2005).

*Aschersonia* es uno de los hongos entomopatógenos con potencial como agente de control biológico para la mosquita blanca (Zhang *et al.* 2017); Una de sus ventajas a diferencia de otros entomopatógenos, es su especificidad, así como el tiempo requerido para matar a ninfas de *B. tabaci*, solo tres días después de la aplicación. Además, el conidio de *Aschersonia* es capaz de sobrevivir en la superficie de la hoja hasta 30 días después de la aplicación en condiciones favorables (Meekes *et al.* 2000). Al ser un hongo especialista puede ser usado en un manejo integrado en conjunto con algunos insectos depredadores, a los cuales es incapaz de parasitar.

Los hongos entomopatógenos han sido ampliamente estudiados como agentes de control biológico contra *Bemisia tabaci*, destacándose *Aschersonia* por su alta especificidad. *Aschersonia aleyrodis* ha demostrado una alta eficacia en bioensayos de laboratorio, afectando significativamente la supervivencia de los primeros tres estadios ninfales de *B. tabaci* a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/mL. (Zhang *et al.* 2018)

Considerando lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo identificar y utilizar asilamientos de *Aschersonia* provenientes de diferentes estados de la república y evaluar su eficiencia contra la plaga de la mosquita blanca.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Importancia de la agricultura en México

El aumento en la demanda de alimentos impulsada por el crecimiento demográfico es un tema central en los debates sobre agricultura. A pesar de los avances logrados, las preocupaciones persisten, lo que destaca la necesidad de buscar y aplicar nuevas soluciones en este ámbito (Pereira y Castro 2022). El INEGI (2023) reporta que el sector agrícola de México es líder en la producción de hortalizas en América Latina. Las actividades agrícolas son fundamentales ya que contribuyen con un 2.7% al Producto Interno Bruto y atraen una inversión extranjera directa y constante que superó los 100 millones de dólares en 2022. Entre los productos más destacados, por su importancia en el consumo, se encuentran el maíz, frijol, trigo, arroz, sorgo, caña de azúcar, tomate, chile y las oleaginosas por la alta producción de aceites.

La actividad cítrica en México ha experimentado un notable crecimiento productivo. Este sector se destaca por su significativo aporte económico y social, lo que resalta la importancia de su aprovechamiento. El cultivo de cítricos no solo genera un impacto positivo en la economía nacional, sino que también contribuye a consolidar a México como un país relevante en el ámbito mundial de la producción, gracias a la alta demanda de estos productos en todo el mundo (Valencia y Duana 2019). Datos de la Organización Mundial de Cítricos (OMA 2021), indican que México ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en la producción. Así mismo, México está situado en el segundo lugar en producción mundial de limas y limones con una productividad de 2,983.8 miles de toneladas (Statista 2024).

Los cítricos tuvieron un aumento en su exportación durante el 2023. México tiene una superficie total de cultivo de cítricos de más de 589,800 hectáreas. Dentro de estas 50% está destinada para naranja, seguida por limón con 37%. En México, el tomate tiene un alto volumen de producción con 1,180,586 toneladas, y por esa razón, su cultivo desempeña un papel importante en la alimentación del país (SIAP, 2020).

### 2.2 Mosquita blanca como plaga

La mosquita blanca, representada por especies como *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, es un grupo de plagas con una amplia distribución geográfica, presente en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. En las últimas dos décadas, *B. tabaci* en particular ha emergido como una de las plagas agrícolas más devastadoras a nivel mundial por ser un insecto polífago y además ser capaz de transmitir más de 200 virus (Morales *et al.* 2006 y Lu *et al.* 2019), afectando una gran diversidad de familias de

plantas como las Solanaceae, Cucurbitaceae, Cruciferae, entre otras (Hilje y Mora 2006). En México se han registrado 67 especies en 27 géneros denominados como mosca blanca (Fu *et al.* 2008). Afecta principalmente cultivos de calabaza, tomate, chile, melón, pepino, limón y lechuga (Covarrubias *et al.* 2016).

### **2.3 Ciclo de vida de mosca blanca**

La mosquita blanca tiene un ciclo de vida que consta de seis etapas: huevo, cuatro etapas inmaduras (instar ninfales), el cuarto instar es conocido también como pupa y la etapa adulta. Factores como la temperatura, la humedad y las plantas hospederas influyen en su ciclo de vida. *Trialeurodes vaporariorum*, una especie de mosquita blanca deposita sus huevos en las hojas de las plantas y el número de huevos está influenciado por la temperatura, siendo la óptima alrededor de 28 °C. Después de la eclosión, las ninfas viajan cortas distancias para alimentarse antes de pasar por tres instares ninfales y posteriormente el cuarto o pupa. Finalmente, los adultos emergen de las pupas y pueden vivir de 16 a 31 días, dependiendo de las condiciones ambientales y de la planta huésped (Kedar *et al.* 2014).

### **2.4 Daños causados por la mosquita blanca**

La mosquita blanca causa daño directo a la planta hospedera al alimentarse del fluido del floema. Además, su actividad provoca daños adicionales al generar una mielecilla (honeydew), también conocido como melaza, la cual permite el desarrollo de hongos causantes de la fumagina, que al oscurecer el área infectada reduce la tasa de fotosíntesis en las hojas (Huang *et al.* 2010). La mosquita blanca oviposita sus huevos en el envés de las hojas de las que se alimentan, provocando un daño continuo de manera generacional (Choudhary *et al.* 2017).

Adicionalmente, la mosquita blanca actúa como vector para distintos virus que afectan a la planta (Alegbejo 2000), como los *Begomovirus* (*Geminiviridae*), los cuales son responsables de enfermedades arrasadoras, como el virus del mosaico dorado del frijol (*Bean Golden Mosaic Virus*), el virus del mosaico amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl virus*) y el virus del mosaico del pepino (*Cucumber Mosaic Virus*) que afectan gravemente cultivos hortícolas en regiones tropicales y subtropicales. Este puede ser considerado como el daño más severo ya que puede provocar la pérdida total del cultivo. (Romero 2015).

### **2.5 Control biológico en México**

En América, el control biológico como disciplina y metodología de combate de plagas inició prácticamente con el éxito de la catarinita *Rodolia cardinalis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) usada

en el control de la cochinilla harinosa *Icerya purchasi* Maskell (Hemíptera: Monophlebidae) (Barrera 2006). Un caso de éxito del control biológico en México es la mosca de la fruta del género *Anastrepha ludens* Schiner, la cual es un problema fitosanitario importante desde 1929. Las infestaciones de estas moscas han causado pérdidas económicas significativas y han obstaculizado el desarrollo de la industria frutícola, afectando el comercio internacional. Aunque se establecieron acuerdos de cooperación con Estados Unidos desde principios del siglo XX, no fue hasta 1954 que el control biológico de estas plagas comenzó en México con la introducción de 12 especies de parasitoides de la región indo-australiana. A pesar de las dificultades iniciales, algunas especies de parasitoides lograron establecerse en las regiones frutícolas de México y ejercieron un impacto significativo en las poblaciones de moscas de la fruta, como *Diachasmimorpha longicaudata*, *Pachycrepoideus vindemmiae* y *Aceratoneuromyia indica* Silvestri (Aluja *et al.* 2008).

Entre los casos más recientes de éxito en el uso del control biológico, se incluyen el de la cochinilla rosada del hibiscus, *M. hirsutus* Gren (Arredondo 2006); la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Barrera *et al.* 2008), y el pulgón café de los cítricos, *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Sánchez *et al.* 2010). En el futuro es probable que el uso del control biológico aumente su presencia en el mercado a causa del encarecimiento de los insecticidas, el incremento de plagas resistentes a los insecticidas, la preocupación por la contaminación ambiental y regulaciones más estrictas sobre pesticidas (Summy y French 1988).

## 2.6 Control biológico de la mosquita blanca

Diversas especies de hongos entomopatógenos han sido investigados y aplicados en el control biológico de la mosquita blanca. Anteriormente se ha propuesto el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) para controlar la plaga. Estudios realizados por Duarte en 2023 concluyeron que *B. bassiana* muestra eficiencia en el control biológico de la mosquita blanca, probado en cultivos caseros de cebolla de bulbo (*Allium cepa*).

Vargas (2020) en México, evaluó la eficacia de *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores de plagas en cultivos acuapónicos de col y lechuga. Se observó que la combinación de ambos hongos causó una mortalidad del 73% en *B. tabaci* en las hojas de lechuga, mientras que *B. bassiana* logró una mortalidad del 84% en *Brevicoryne brassicae* en las hojas de col. Este estudio destaca la efectividad de los hongos entomopatógenos para controlar plagas en diferentes cultivos, lo que subraya su potencial como una alternativa eficaz en el manejo integrado de plagas en la agricultura. Castellanos (2020) uso a *B. bassiana* como agente de control biológico en contra de la mosquita blanca

en plantas de *Solanum lycopersicum* L. donde se evidenció una disminución en la población por metro cuadrado gracias a la acción del hongo entomopatógeno.

Un estudio realizado en Ecuador por Raigoza (2023), confirmó la eficacia del hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* como agente de control biológico de la mosquita blanca en el cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). Los resultados demostraron que la aplicación del control biológico tuvo un efecto negativo significativo en el desarrollo de los insectos adultos, ya que el modo de acción de *L. lecanii* consiste en causar septicemia en los insectos que infecta.

## 2.7 *Aschersonia* y su uso como agente de control biológico

El género *Aschersonia* perteneciente al filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, clase Sordariomycetes, subclase Hypocreomycetidae, orden Hypocreales y familia Clavicipitaceae, agrupa cerca de 80 especies descritas con distribución predominante en regiones tropicales y subtropicales. Estas especies fúngicas han sido ampliamente reconocidas por su eficacia como agentes de control biológico, al provocar epizootias notables en poblaciones de mosquita blanca (Aleyrodidae) y cochinillas (Coccidae) (Zhu *et al.* 2008).

*Aschersonia* presenta estromas superficiales de forma hemisférica o almohadillada, generalmente de colores brillantes (amarillo, naranja o rojo), que recubren al insecto hospedero. Dentro del estroma se ubican conidióforos hundidos, con conidios hialinos unicelulares y fusiformes (Chaverri *et al.* 2008).

*Aschersonia* es un agente importante en la regulación de la población de especies de mosquita blanca y cocoideos o insectos escamas (Coccoidea). Investigaciones realizadas por Zhang y colaboradores (2017), han demostrado que la aplicación de conidios a los huevos de la mosquita blanca no afecta significativamente el número de eclosiones; sin embargo, se observa un alto porcentaje de mortalidad en las larvas que eclosionan y este porcentaje aumenta a medida que se incrementa la concentración de conidios durante varios estados larvales. Esto sugiere que las esporas del hongo son patógenas en los diferentes estados de desarrollo, exceptuando al adulto.

Esto sugiere la necesidad de realizar más investigaciones sobre este patógeno. Investigaciones previas sobre el uso de *Aschersonia* como agente de control biológico de la mosca prieta *Aleurocanthus woglumii* han destacado sus beneficios, mostrando su especificidad al no afectar a otras especies benéficas para la planta ni a la planta misma (Pérez-González *et al.* 2022).

*Aschersonia* es un hongo con prometedoras capacidades como pesticida al tener virulencia contra distintas especies de mosquita blanca. Se ha demostrado su efectividad principalmente en ninfas, ya que la aplicación de conidios directamente sobre ellas ocasiona una rápida germinación (Meekes *et al.* 2000).

## 2.8 Ciclo infeccioso de *Aschersonia*

La cutícula del insecto es una estructura compleja compuesta por diferentes capas, y su penetración depende de la capacidad de los hongos entomopatógenos para superar sus diversas propiedades. A través de la acción combinada de enzimas hidrolíticas y fuerzas físicas, los hongos son capaces de atravesar estas barreras (Bidochka *et al.* 1987).

La participación de proteasas, lipasas y quitinasas en la infección del hospedero por hongos entomopatógenos ha sido demostrada en *Cordyceps militari* y *B. bassiana*. Específicamente en la fase de penetración de la cutícula del insecto. Los lípidos cuticulares tienen la capacidad de inhibir la adhesión de los hongos a la cutícula del insecto. Esta unión puede ser influenciada por los requerimientos nutricionales y puede ser mejorada a través de una formulación adecuada, lo que puede aumentar la eficacia de los agentes fúngicos contra los insectos blanco (Ortiz y Keyhani 2013).

*Aschersonia* desarrolla estromas simples, que son densos grupos de hifas, formando cuerpos fructíferos conocidos como picnidios, donde se generan los conidios. Estos conidios, típicamente de tonalidades cálidas como naranja, rojo o amarillo, inician el proceso de infección al adherirse a la cutícula quitinosa del insecto. Una vez adherido, el conidio germina y forma un tubo germinativo que penetra la cutícula del hospedero mediante actividades físicas y enzimáticas. Dentro del hospedero, en la hemolinfa, las hifas se multiplican y se producen las blastoesporas. El hongo causa la muerte del hospedero mediante la producción de toxinas. Tras colonizar al insecto, el hongo emerge a la superficie, listo para reiniciar el ciclo de infección (Osborne y Landa 1992).

La infección por estos entomopatógenos se inicia con la adhesión de los conidios a la cutícula del huésped, seguida de la germinación y la formación de una hifa que se adhiere firmemente a la cutícula (apresorio) Esta hifa facilita la penetración en el insecto mediante la acción de enzimas hidrolíticas como proteasas, lipasas y quitinasas, así como mediante presión mecánica. (Ortiz y Keyhani 2013).

## 2.9 Identificación molecular de *Aschersonia* spp.

Esta identificación taxonómica se ha confirmado con el uso de genes como el espaciador transcrito interno (ITS). La región ITS es comúnmente utilizada para secuenciación debido a que contiene regiones altamente conservadas y también altamente variables, lo que la convierte en un gen óptimo para distinguir entre especies estrechamente relacionadas (Ciardo *et al.* 2007). Los genes ITS y  $\beta$ -tubulina han demostrado ser herramientas exitosas en la identificación molecular de *Aschersonia*,

permitiendo la creación de árboles filogenéticos y el descubrimiento de nuevas especies basados en esta información (Suchada *et al.* 2009).

Para la identificación molecular de especies del género *Aschersonia*, se han utilizado tres regiones génicas: la subunidad grande del ADN ribosomal (*LSU*), el factor de elongación de la traducción 1-alfa (*EF1- $\alpha$* ) y la subunidad de la ARN polimerasa II (*RPBI*), las cuales han demostrado ser útiles para distinguir especies cercanas dentro de Clavicipitaceae (Chaverri *et al.* 2008).

### 3. JUSTIFICACIÓN

La investigación sobre el uso del hongo entomopatógeno *Aschersonia* como control biológico es crucial para abordar plagas agrícolas, como la mosquita blanca, que afectan cultivos importantes en México, como el tomate, cítricos, pepino y frijol. Dado el impacto económico y la capacidad de esta plaga para transmitir enfermedades, es imperativo explorar alternativas a los pesticidas químicos tradicionales. *Aschersonia* emerge como una herramienta prometedora en este sentido, y estudios para optimizar su efectividad pueden llevar a estrategias de control biológico más eficaces y respetuosas con el medio ambiente, reduciendo así la dependencia de pesticidas químicos en la agricultura.

## 4. HIPÓTESIS

Las cepas de *Aschersonia* spp. aisladas de diversas regiones de México son agentes de control biológico efectivos contra la mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum*

## 5. OBJETIVO DEL TRABAJO

Identificar y evaluar aislamientos de *Aschersonia* spp. como agente de control de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum*

### 5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los aislamientos a partir de su morfología y las secuencias de marcadores moleculares.
- Estandarizar la producción de conidios y blastosporas de los aislamientos en medios de cultivo comerciales de agar, y su cultivo en medios líquidos.
- Evaluar la patogenicidad de los aislamientos contra la mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* a nivel laboratorio

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Cepas de *Aschersonia* spp.

Se emplearon tres cepas de *Aschersonia* previamente aisladas por la Dra. Orquídea Pérez González a partir de ninfas infectadas, las cuales fueron colectadas en plantas de cítricos. Las cepas proceden del estado de San Luis Potosí (OP-ASCSL-5), Quintana Roo (OP-ASCH-3) y Chiapas (OP-ASCH-2). Los aislados se conservaron mediante resiembras periódicas en PDA con extracto de levadura al 1% (PDAY) y crioviales con glicerol al 30%, almacenados a -70 °C para su preservación a largo plazo.

### 6.2 Cría de insectos

Se inició una cría de *Trialeurodes vaporariorum*, identificada morfológicamente. Induciendo la infestación de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) al ser expuestas a cultivos de cítricos del Estado de Nuevo León con presencia natural de la plaga. Una vez que la plaga se estableció, las plantas de frijol con presencia de mosquita blanca fueron trasladadas a un invernadero y mantenidas en jaulas recubiertas con tela de organza para evitar la dispersión de los insectos. Para garantizar la continuidad de la cría, se introducían nuevas plantas de manera regular con forme las anteriores eran consumidas por la plaga. Las condiciones ambientales en el invernadero se mantuvieron con un fotoperiodo de 12/12 horas luz/oscuridad y temperatura controlada a 25 °C.

### 6.3 Identificación de las cepas de *Aschersonia*

#### 6.3.1 Identificación morfológica

Las tres cepas de *Aschersonia* fueron identificadas a género, con base a características morfológicas observadas en cultivos desarrollados en medio sólido PDAY. Los cultivos se incubaron a temperatura constante de 25 °C, bajo condiciones de luz continua, según indican las recomendaciones de Bhosale, *et al.* 2020, durante un periodo de 15 días.

Las observaciones microscópicas se realizaron a partir de preparaciones montadas en portaobjetos, utilizando un microscopio compuesto con un aumento total de 400x y 1,000x. La identificación taxonómica se llevó a cabo mediante la clave dicotómica de Barnett y Hunter (1998), considerando las características morfológicas distintivas de cada aislado.

### 6.3.2 Identificación molecular

Para la caracterización molecular se utilizó la metodología propuesta por Pérez González *et al.* (2015), las cepas de *Aschersonia* fueron cultivadas en caldo papa dextrosa (PDB) durante 15 días a 250 rpm y 25 °C. Posteriormente, para recuperar el micelio, los cultivos fueron centrifugados a 14,000 rpm por 10 min, y se descartó el sobrenadante. El micelio se transfirió a tubos cónicos de 1.5 mL de capacidad, se lavaron en dos ocasiones con el buffer Tris (TE 1 X). Se añadieron 250 µL de buffer de lisis (200 mM Tris pH 8.5, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) y se maceraron con la ayuda de un pistilo. Se agregaron nuevamente 250 µL de buffer de lisis y 500 µL de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1), se centrifugó a 13,000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante. Por último, el ADN se precipitó añadiendo acetato de sodio (3 M, pH 7) e isopropanol, seguido de un lavado con etanol al 70%, y se resuspendió en buffer TE.

El ADN purificado fue amplificado utilizando los oligonucleótidos *efl-α* (factor de elongación 1- $\alpha$ ), *rpb-1* (subunidad grande de la ARN polimerasa II) y *lsu* (ARN ribosomal de la subunidad grande) para los genes, bajo las condiciones de 95 °C por 5 min de desnaturalización inicial, 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, un alineamiento a 60 °C por 45 s y un proceso de extensión a 72°C por 90 s, finalizando con un paso de extensión final de 72 °C por 8 min. Las secuencias de los oligonucleótidos fueron tomadas de Chaverri *et al.* (2005).

Los amplicones se purificaron utilizando el kit “Wizard SV Gel and PCR clean-up system” (Promega, Invitrogen), y posteriormente se enviaron a la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología de la UNAM para su secuenciación.

## 6.4 Estandarización de producción de blastosporas

Para la estandarización de la producción de blastoesporas, se utilizó caldo papa dextrosa con extracto de levadura al 1% (PDBY), en matraces de 500 mL, con 200 mL del medio estéril e inoculados con 30 mL de una suspensión en concentración  $1 \times 10^7$  conidios/ mL preincubados en medio PDAY.

Los cultivos fueron incubados en un agitador orbital a 250 rpm a temperatura controlada de 25 °C. Para evaluar el crecimiento de las blastoesporas, se tomaron alícuotas de 200 µL cada dos días. Antes del conteo, las muestras fueron sometidas a vortex para garantizar una adecuada dispersión de las blastosporas.

El número de blastosporas fue determinado utilizando una cámara de Neubauer, realizando conteos directos en microscopio óptico. Con los datos obtenidos, se construyó una cinética de crecimiento para evaluar el desarrollo del cultivo en función del tiempo.

## **6.5 Cuantificación del volumen asperjado por atomizadores manuales**

Para determinar la cantidad de líquido asperjado por los atomizadores, se realizó una prueba utilizando agua destilada y placas de Petri de 90 mm de diámetro. Cada placa fue previamente pesada en una balanza analítica para obtener su peso inicial. Posteriormente, se colocó cada placa a una distancia de 10 cm del atomizador, y se aplicó una única aspersion de agua sobre la superficie. Inmediatamente después de la aplicación, las placas se volvieron a pesar para registrar el peso final. La diferencia entre el peso antes y después de la aspersion se consideró como la cantidad de líquido depositado por el atomizador en una aplicación. Cada atomizador fue evaluado por separado, y el procedimiento se repitió en cinco placas por atomizador para obtener una media representativa del volumen aplicado.

## **6.6 Evaluación de patogenicidad de *Aschersonia* en mosquita blanca**

### **6.6.1 Sincronización de la cría de *Trialeurodes vaporariorum***

Para obtener una población homogénea de individuos para el experimento, se llevó a cabo la sincronización de la oviposición. Se utilizaron plantas de frijol sin infestación previa, las cuales fueron mantenidas en condiciones aisladas dentro de jaulas de cría recubiertas con tela de organza. Para la infestación controlada, se introdujeron seis adultos de *Trialeurodes vaporariorum* por planta, asegurándose de que estos permanecieran en contacto con el follaje para la oviposición. Las plantas fueron monitoreadas diariamente hasta la observación de huevos, momento en el cual los adultos fueron retirados para garantizar una población sincronizada. Este procedimiento permitió obtener una generación uniforme de individuos en desarrollo, facilitando su uso en experimentos posteriores.

### **6.6.2 Evaluación de la patogenicidad de conidios y blastosporas**

Se evaluaron los conidios y blastosporas de las tres cepas de *Aschersonia* (variables independientes). La patogenicidad de los conidios y blastosporas se evaluó por separado, midiendo el porcentaje de mortalidad en ninfas de segundo estadio de *Trialeurodes vaporariorum*. Los conidios se obtuvieron raspando la superficie de colonias de *Aschersonia* en placas de Petri con medio PDAY, y resuspendiéndolos en agua destilada estéril dentro de tubos cónicos de 50 mL. Las blastosporas se

obtuvieron previamente de cultivos líquidos (según el protocolo correspondiente). En ambos casos, se ajustó la concentración de las suspensiones a  $1 \times 10^7$  conidios/mL, utilizando una cámara de Neubauer. A cada suspensión se le adicionó goma de acacia al 0.5% como agente adherente.

Las formulaciones se colocaron en atomizadores manuales y se aplicaron sobre una hoja de frijol colocada dentro de una caja de Petri con papel filtro con agua para mantener la humedad. Para evitar la deshidratación, el pecíolo de cada hoja se introdujo en un microtubo de 1.5 mL con agua y algodón estéril. Antes de la aspersion, se contó el número de ninfas de segundo estadio larvario presentes en la hoja. También se contabilizaron ninfas de otros estadios para tener control sobre posibles fuentes de variabilidad.

El número de insectos por hoja (n) varió entre 15 y 30 individuos, se realizaron cinco repeticiones por cada tratamiento. Como control positivo se utilizaron conidios *Beauveria bassiana*, mientras que el control negativo consistió en la formulación con agua destilada y goma de acacia al 0.5% sin ningún entomopatógeno.

La mortalidad (variable dependiente) se evaluó siete días después de la aplicación, utilizando un estereoscopio para determinar el número de ninfas muertas. El porcentaje de mortalidad se calculó con base en el número de individuos muertos respecto al total inicial. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA), y las diferencias entre medias se compararon con la prueba de Tukey  $\alpha$  0.05%.

### 6.6.3 Bioensayo de concentración respuesta

La concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de los conidios sobre *Trialeurodes vaporariorum* se determinó mediante bioensayos de concentración-respuesta. Para esta prueba se seleccionó la cepa OP-ASCSL-5, ya que dicha cepa presentó los mayores niveles de mortalidad en los bioensayos previos realizados.

La inoculación se realizó por aspersion sobre plantas infestadas con ninfas en el segundo y tercer instar de *Trialeurodes vaporariorum* utilizando un atomizador manual y siguiendo el mismo procedimiento descrito en el bioensayo de patogenicidad. El experimento incluyó cinco concentraciones de conidios, partiendo de una  $1 \times 10^8$  conidios/mL. Las diluciones utilizadas fueron:  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $5 \times 10^7$  conidios/mL.

La mortalidad se registró siete días después de la aplicación, y los datos obtenidos fueron analizados mediante regresión Probit para estimar la  $CL_{50}$  utilizando el software SPSS (IBM, versión 2021).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Identificación morfológica y molecular de cepas de *Aschersonia* spp.

#### 7.1.1 Identificación morfológica

A partir del análisis morfológico realizado en medio sólido PDAY y con base en la clave dicotómica de Barnett (1998), se confirmó que las tres cepas evaluadas pertenecen al género *Aschersonia*. En los cultivos incubados a 25 °C durante 15 días bajo condiciones de luz continua, se observaron características morfológicas distintivas que respaldan esta identificación. Los estromas presentaron una coloración naranja brillante y una morfología en forma de cojín, con depresiones o hundimientos superficiales. A nivel microscópico, se observaron conidióforos largos dispuestos en picnidios bien definidos. Los conidios mostraron forma fusiforme, algunos de ellos con la presencia de septos transversales. Estas características morfológicas coincidieron con las descritas para *Aschersonia* y permitieron tomar la decisión taxonómica correspondiente.

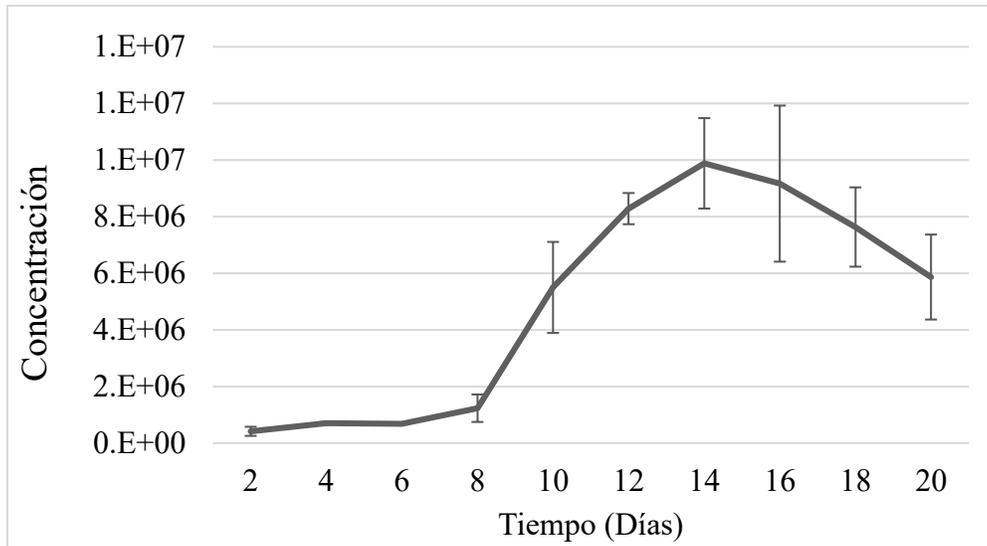
#### 7.1.2 Identificación molecular

La identificación basada en la similitud de las secuencias de los genes *efl-α*, *rpb-1* y *lsu* permitió determinar la relación taxonómica de las tres cepas aisladas de *Aschersonia*. Los resultados indicaron que las cepas OP-ASCSL-5, OP-ASCH-3 y OP-ASCH-2 se agrupan dentro del género *Moelleriella*, del cual *Aschersonia* corresponde al estado anamórfico. En particular, la cepa OP-ASCSL-5 mostró una alta similitud con secuencias previamente reportadas de *Moelleriella turbinata*. Por su parte, las cepas OP-ASCH-3 y OP-ASCH-2 también se agruparon dentro del género *Moelleriella*, aunque sus secuencias formaron un clado separado, indicando una relación cercana pero no idéntica a *M. turbinata* (*Aschersonia*). Estos resultados confirman que los aislados analizados corresponden a especies dentro del complejo *Moelleriella-Aschersonia*.

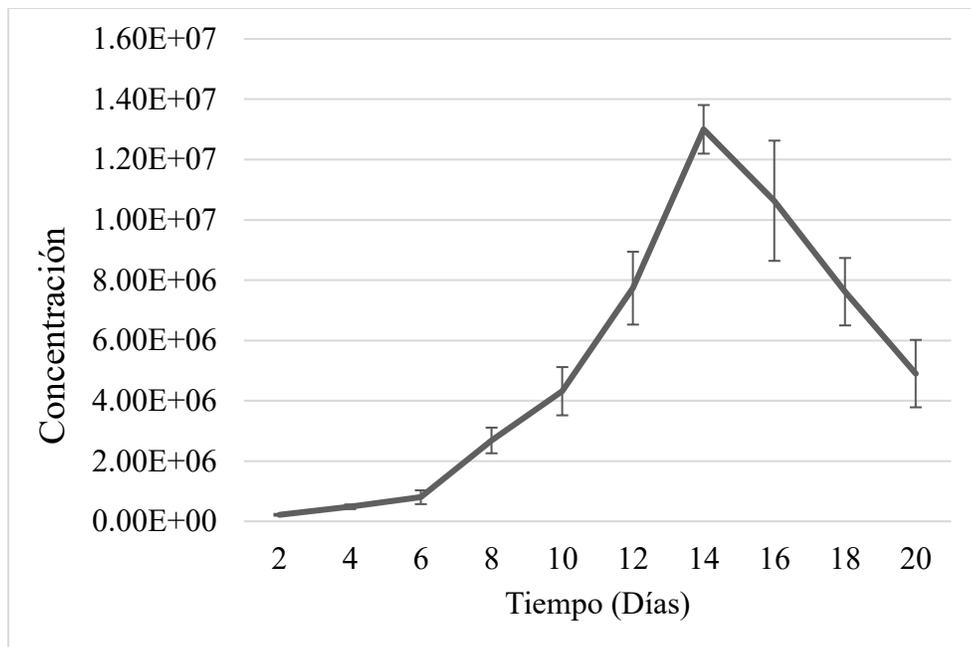
### 7.2 Estandarización de la producción de blastosporas

La cinética de crecimiento de blastosporas en medio líquido PDB con 1% de levadura mostró diferencias en la dinámica de producción entre las cepas evaluadas. Las cepas OP-ASCH-2 y OP-ASCSL-5 alcanzaron sus máximas concentraciones en el día 14 de cultivo (Figura 1 y 2). En este punto, la cepa OP-ASCSL-5 presentó la mayor producción de blastosporas con una concentración de  $1.3 \times 10^7$  blastosporas/mL, seguida por la cepa OP-ASCH-2 con  $9.8 \times 10^6$  blastosporas/mL. Por su parte, la cepa

OP-ASCH-3 alcanzó su máxima concentración el día 18, con un valor de  $1.2 \times 10^7$  blastosporas/mL (Figura 3).



**Figura 1.** Cinética de crecimiento de la cepa OP-ASCH-2. Las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones



**Figura 2** Cinética de crecimiento OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.

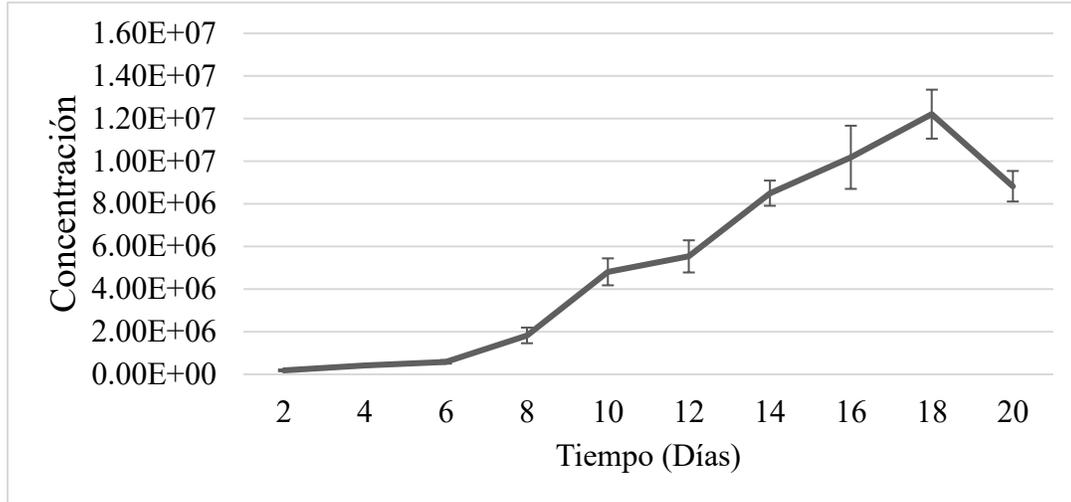
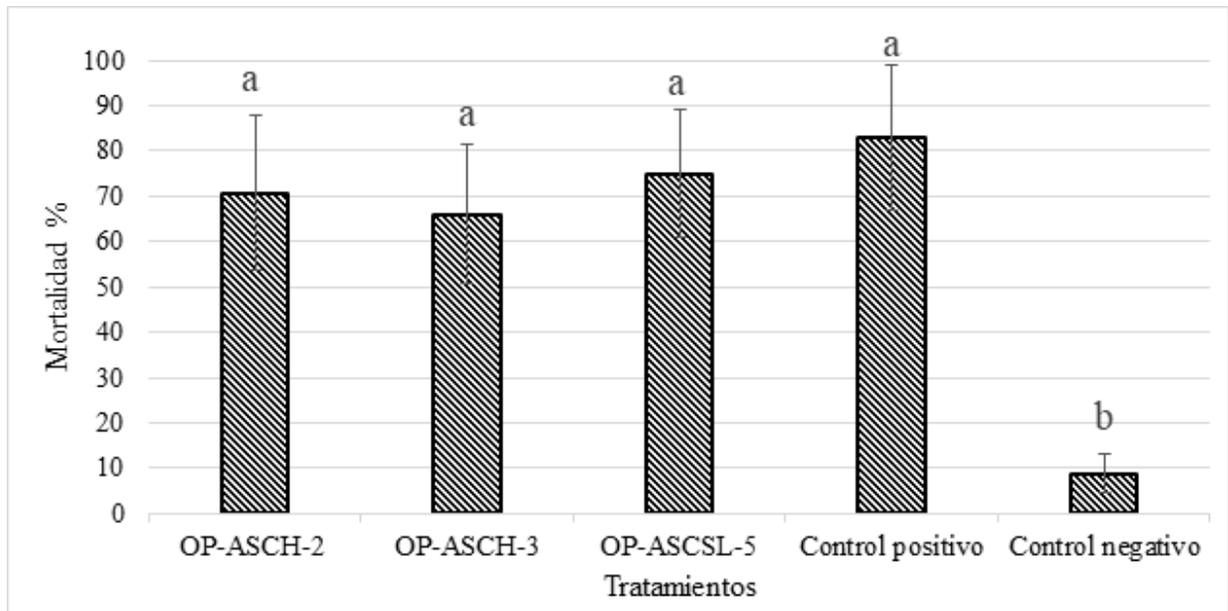


Figura 3 Cinética de crecimiento OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.

### 7.3 Evaluación de patogenicidad de *Aschersonia* en mosquita blanca

#### 7.3.1 Evaluación de patogenicidad de conidios en mosquita blanca

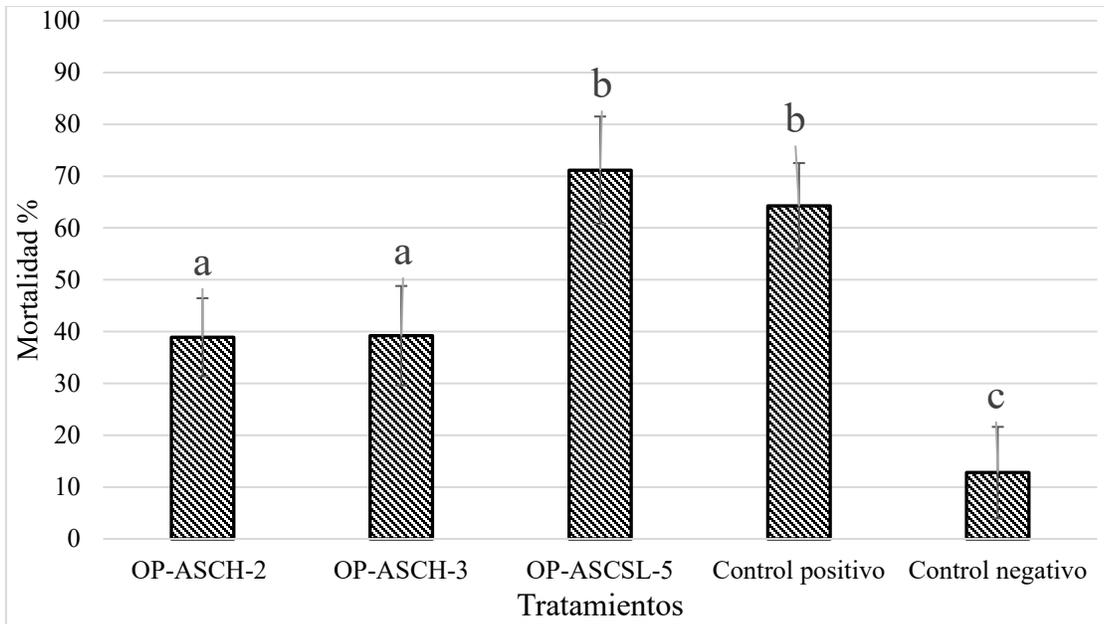
Las cepas evaluadas mostraron distintos niveles de patogenicidad frente a ninfas de segundo estadio de *Trialeurodes vaporariorum* al aplicar una suspensión concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/ml por aspersion (Figura 4). Se observó una progresiva mortalidad acumulada al día 10 postinoculación, con valores de 70.79% para OP-ASCH-2, 66.04% para OP-ASCH-3, 75.02% para OP-ASCSL-5 y 83.09% para el control positivo. No se encontraron diferencias entre las cepas ( $p > 0.05$ ), pero todas difirieron significativamente del grupo control (8.91%), el cual presentó la menor mortalidad ( $p < 0.001$ ). Estos resultados confirman la efectividad de las cepas de *Aschersonia* en contra de *Trialeurodes vaporariorum* en comparación con el control negativo.



**Figura 4** Porcentaje de mortalidad de ninfas del segundo instar de *Trialeurodes vaporariorum*. En condiciones de laboratorio después de la aplicación mediante aspersión de conidios de *Aschersonia*. Control positivo = *Beauveria bassiana*, control negativo = Agua; Las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones, y las letras diferencias significativas  $p < 0.05$ .

### 7.3.2 Evaluación de patogenicidad de blastosporas en mosquita blanca

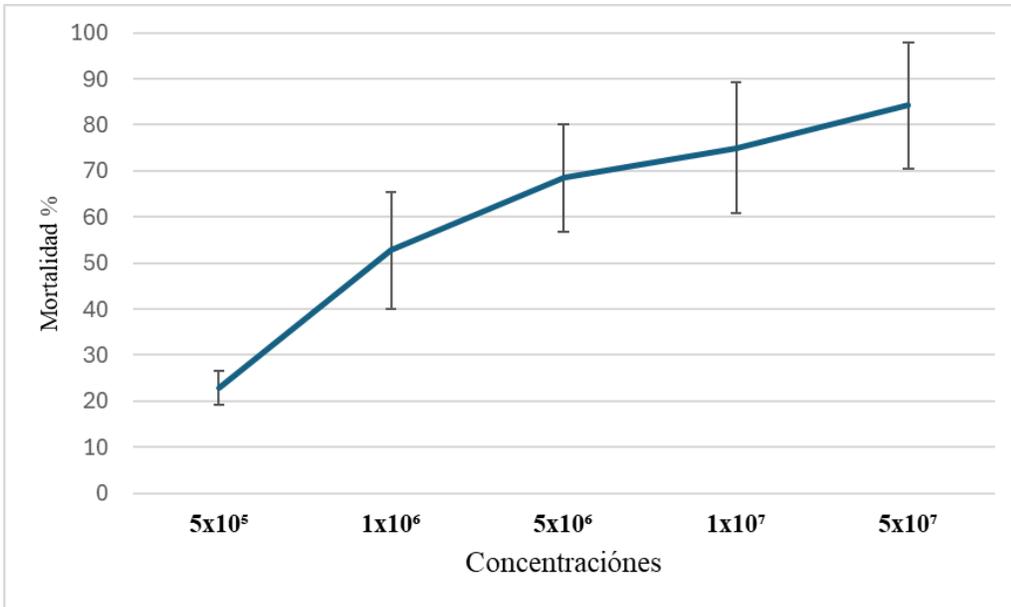
Las cepas evaluadas también mostraron distintos niveles de patogenicidad frente a *Trialeurodes vaporariorum* al aplicar blastosporas por aspersión (Figura 5). Al día 10 post inoculación, la mortalidad acumulada fue de 38.92% y OP-ASCH-2, 39.23% para OP-ASCH-3, el control positivo con 64.25% y la cepa OP-ASCSL-5 con un 71.17% generaron la mayor mortalidad en comparación a las demás cepas,  $p < 0.001$ . El control negativo presentó la menor mortalidad, con 12.8%. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre OP-ASCH-2 y OP-ASCH-3 ( $F = 33.663$  y  $gl = 4$ ).



**Figura 5** Porcentaje de mortalidad de ninfas del segundo instar de *Trialeurodes vaporariorum*. En condiciones de laboratorios después de la aplicación mediante aspersión de blastosporas de *Aschersonia*. Control positivo = *Beauveria bassiana*, control negativo = Agua. Letras representan diferencias estadísticas.

#### 7.4.3 Bioensayo de concentración respuesta (concentración letal media)

En el bioensayo concentración respuesta se evaluó la patogenicidad de la cepa OP-ASCSL-5 mediante la aplicación de cinco concentraciones crecientes de conidios:  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $5 \times 10^7$  conidios/mL. Se observó una relación directamente proporcional entre la concentración del inóculo y la mortalidad de *Trialeurodes vaporariorum*, con valores de 22.96%, 52.77%, 68.46%, 75.02% y 84.26% de mortalidad, respectivamente (Figura 6). El análisis de regresión Probit indicó una  $CL_{50}$  estimada de  $5.5 \times 10^6$  conidios/mL.



**Figura 6.** Bioensayo de concentración respuesta de OP-ASCSL-5, las barras de error representan la desviación estándar de 3 repeticiones.

## 8. DISCUSIÓN

El análisis morfológico y molecular realizado a los aislados indican que las cepas pertenecen al género *Moelleriella* (antes *Aschersonia*).

Para la identificación molecular, se emplearon los genes LSU, EF1- $\alpha$  y RPB1, los cuales han demostrado ser útiles para la identificación de los hongos pertenecientes al género *Moelleriella*, como lo evidenció Chaverri (2005), quien logró identificar 18 especies del entonces género *Aschersonia*.

En un trabajo posterior, Liu *et al.* (2006) demostraron que *Aschersonia* no constituía un grupo monofilético, lo cual llevó a una reconsideración taxonómica del género. A través de análisis multilocus, se evidenció que muchas de sus especies compartían una relación filogenética más estrecha con el género *Moelleriella*, dentro de la familia Clavicipitaceae. En concordancia con estos hallazgos, Sung *et al.* (2007) propusieron de manera formal la integración de *Aschersonia* dentro del género *Moelleriella*, con base en evidencia molecular estimado con base en análisis que constan de cinco a siete loci.

Revisiones filogenéticas recientes han confirmado que el enfoque multilocus es esencial para resolver su clasificación, integrando marcadores moleculares con caracteres morfológicos diagnósticos (Chaverri *et al.* 2008). Esta redefinición taxonómica tiene implicaciones relevantes para el estudio y aplicación de hongos entomopatógenos en el control biológico, ya que una identificación precisa garantiza una mejor trazabilidad y uso efectivo de estos agentes.

La estandarización de la producción de blastosporas reveló diferencias en la cinética de crecimiento entre las tres cepas de *Aschersonia* evaluadas. La cepa OP-ASCSL-5 alcanzó la mayor concentración de blastosporas ( $1.3 \times 10^7$  blastosporas/mL) en un tiempo de 14 días, lo que sugiere una mayor eficiencia en su metabolismo y adaptación al medio PDB con 1% de extracto de levadura. Este comportamiento coincide con lo señalado por Rangel *et al.* (2008), quienes reportaron que el uso de extracto de levadura mejora significativamente tanto la tasa de crecimiento como la germinación de hongos entomopatógenos, probablemente debido a la disponibilidad de nutrientes esenciales.

En contraste, la cepa OP-ASCH-3 alcanzó su pico máximo de producción de blastosporas más tardíamente, en el día 18, con una concentración similar ( $1.2 \times 10^7$  blastosporas/mL), lo que podría reflejar una estrategia fisiológica diferente o una menor velocidad de adaptación al medio. Este comportamiento diferencial entre cepas del mismo género ha sido documentado por Norros *et al.* (2023), quienes argumentan que factores tanto genéticos como ambientales pueden influir en las tasas de esporulación, incluso en condiciones de cultivo controladas. En este sentido, es importante considerar que las cepas utilizadas en este estudio provienen de distintas regiones de México (San Luis Potosí, Chiapas y Quintana Roo), lo que podría implicar adaptaciones locales a condiciones ambientales particulares. Así, es posible que las variaciones observadas en la presente investigación estén relacionadas con diferencias entre las cepas, tales como la eficiencia en la asimilación de nutrientes, la tolerancia al estrés osmótico o la regulación de vías metabólicas específicas, moduladas por su origen geográfico y adaptación ambiental.

Comparando los resultados obtenidos con estudios previos, destaca que la concentración alcanzada por la cepa OP-ASCSL-5 supera notablemente la reportada por Bhosale (2020), quien obtuvo un rendimiento de  $2.31 \times 10^6$  blastosporas/mL en cultivos de *Aschersonia*. Esta diferencia puede estar relacionada tanto con la selección de cepas como con las condiciones específicas de cultivo utilizadas, lo que subraya la importancia de la estandarización y optimización de los medios de cultivo para maximizar la producción de estructuras infectivas en hongos entomopatógenos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, sobre la patogenicidad de conidios, muestran que las cepas evaluadas de *Aschersonia* (OP-ASCH-2, OP-ASCH-3 y OP-ASCSL-5) presentan niveles de patogenicidad considerables contra *Trialeurodes vaporariorum*, con tasas de mortalidad acumulada que oscilaron entre 66.04% y 75.02% al día 10 postinoculación. Si bien no se observaron diferencias entre las cepas fúngicas, todas mostraron diferencias significativas frente al control negativo, cuya mortalidad fue solo del 8.91%. Estos resultados respaldan la efectividad de *Aschersonia* como agente de control biológico frente a la mosquita blanca.

Al comparar estos resultados alcanzados con los reportados en la literatura, se observa que Sudarjat *et al.* (2024) reportaron una mortalidad de 90.6% usando conidios de *A. aleyrodinis*

sobre mosquita blanca en tomate, y Bohatá (2023) obtuvo hasta un 94.82% de mortalidad en ninfas en condiciones óptimas de laboratorio. Sin embargo, dichas investigaciones utilizaron condiciones altamente controladas, como niveles de humedad relativa de hasta 80%, concentraciones elevadas ( $1 \times 10^8$  conidios/mL) con múltiples aplicaciones del hongo. En contraste, el presente estudio se desarrolló bajo condiciones menos controladas y con una sola aplicación, lo cual representa un enfoque más cercano al manejo en campo. Esto explica, en parte, la menor mortalidad observada, aunque aún significativa y prometedora para su uso en campo en el control de *Trialeurodes vaporariorum*.

Adicionalmente, la especificidad de *Aschersonia* hacia hemípteros como *Trialeurodes vaporariorum* representa una ventaja clave frente a otros hongos entomopatógenos de uso común (generalistas). Un estudio reciente de Cappa (2024) demostró que *Beauveria bassiana*, si bien es efectivo, también afecta a insectos benéficos como la avispa papelera (*Polistes dominula*), lo cual pone en evidencia su escasa especificidad. Esta característica puede comprometer los equilibrios ecológicos en sistemas agrícolas si se aplica de forma indiscriminada. *Aschersonia* al contrario de *B. bassiana*, muestra un espectro de acción más pequeño, minimizando los riesgos hacia insectos no blanco y facilitando su integración en estrategias de manejo integrado de plagas.

Los resultados obtenidos con blastosporas de *Aschersonia* aplicadas por aspersión sobre *Trialeurodes vaporariorum*. muestran niveles variables de patogenicidad entre las cepas evaluadas. La cepa OP-ASCSL-5 fue la más efectiva, alcanzando una mortalidad acumulada de 71.17% al día 10 postinoculación, superando al control positivo de *B. bassiana* (64.25%). Los aislados OP-ASCH-2 y OP-ASCH-3 registraron mortalidades menores de 38.92% y 39.23% respectivamente, aunque todas las cepas mostraron efectos letales mayores que el control negativo (12.8%). Estos resultados evidencian que las blastosporas de *Aschersonia* tienen potencial como agente de control biológico contra esta plaga.

Hasta la fecha, no se han encontrado estudios previos que reporten el uso de blastosporas de *Aschersonia* para evaluar mortalidad sobre *Trialeurodes vaporariorum*, lo que resalta la importancia del trabajo realizado por nosotros. La mayoría de las investigaciones publicadas (Qiu *et al.* 2003; Fransen y Lenteren 1993) han empleado conidios, este vacío en la literatura

científica también limita las posibilidades de comparación directa, pero permite posicionar este estudio como una contribución pionera en la evaluación de esta forma de propagación fúngica

Estos datos refuerzan la idea de que *Aschersonia* no solo es eficaz, sino que también posee una mayor virulencia y patogenicidad frente a condiciones ambientales adversas, lo cual es fundamental para su implementación de su uso en campo.

El bioensayo de concentración-respuesta con la cepa OP-ASCSL-5 mostró una clara relación entre la concentración de conidios aplicados y la mortalidad acumulada de *Trialeurodes vaporariorum*. A medida que aumenta la concentración del inóculo, también lo hace la mortalidad, alcanzando un valor máximo de 84.26% con dosis de  $5 \times 10^7$  conidios/mL. El análisis de regresión Probit arrojó una  $CL_{50}$  estimada de  $5.5 \times 10^6$  conidios/mL, lo que confirma que esta cepa posee una alta patogenicidad y un buen potencial como agente de control biológico.

Comparando los resultados alcanzados, con lo reportado por otros investigadores se observa que la  $CL_{50}$  obtenida en este trabajo es inferior a la registrada por Zhang (2017), quien reportó una  $CL_{50}$  de  $7.93 \times 10^6$  conidios/mL en *Trialeurodes vaporariorum*, y también menor que la reportada por Mhasagar (2022), con una  $CL_{50}$  de  $1.8 \times 10^7$  conidios/mL. Esto sugiere que la cepa OP-ASCSL-5 presenta una mayor virulencia que las cepas utilizadas en esos estudios, lo que podría atribuirse a características propias de la cepa, a una mayor afinidad con el insecto blanco o a factores asociados al manejo experimental.

Estos hallazgos posicionan a OP-ASCSL-5 como una candidata prometedora para futuros desarrollos de bioinsecticidas basados en hongos entomopatógenos, ya que combina eficacia biológica con un bajo requerimiento de inóculo para alcanzar niveles letales significativos. No obstante, es importante considerar que estos resultados fueron obtenidos bajo condiciones controladas, por lo que será necesario evaluar su desempeño en condiciones de campo, donde variables como la humedad, la temperatura o la radiación UV podrían afectar la eficacia del hongo entomopatógeno.

## CONCLUSIONES

- Los aislamientos de las tres cepas pertenecen al género *Moelleriella*, anteriormente conocido como *Aschersonia*.
- La cepa OP-ASCSL-5 alcanzó la mayor concentración de blastosporas ( $1.3 \times 10^7$ /mL) en menor tiempo de crecimiento.
- Los conidios de los tres aislamientos de *Moelleriella*, tienen mayor virulencia contra *Trialeurodes vaporariorum* que las blastosporas.
- La  $CL_{50}$  de la cepa OP-ASCSL-5 contra *Trialeurodes vaporariorum* de  $5.5 \times 10^6$  conidios/mL.

## PERSPECTIVAS

- Es necesario avanzar hacia su identificación a nivel de especie. Para ello, se recomienda la aplicación de técnicas moleculares más robustas, como la secuenciación genómica y el análisis multilocus ampliado, que permitan una caracterización genética más precisa y confiable.
- Se requiere trasladar los ensayos a condiciones semicontroladas en invernadero y posteriormente a campo, para evaluar persistencia, eficacia y comportamiento ecológico del hongo.
- Desarrollo de un bioinsecticida formulado: La cepa OP-ASCSL-5, por su alta virulencia y capacidad de producción de inóculo, se considera una candidata prioritaria para formular un bioinsecticida estable y eficaz.
- Aplicación agrícola a gran escala de un formulado de *Moelleriella* sp.: La implementación futura dependerá de pruebas exitosas en condiciones variables y representativas de bioensayos de campo.

## REFERENCIAS

- Alegbejo M. 2000. Whitefly transmitted plant viruses in Nigeria. *Journal of Sustainable Agriculture* 17(2): 99–109.
- Aluja M, Montoya P, Cancino J, Guillén L, Ramírez R. 2008. Moscas de la fruta, *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae). En: Arredondo HC, Rodríguez LA (Eds.), *Casos de control biológico en México*. México: Mundi-Prensa. p. 193–222.
- Arredondo H. 2006. Aportaciones del control biológico en México. En: *XVII Curso Nacional de Control Biológico*. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Sociedad Mexicana de Control Biológico. p. 218–232.
- Barnett HL, Hunter BB. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4<sup>a</sup> ed. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society Press.
- Barrera J. 2006. La Vedalia, *Rodolia cardinalis*: 120 años después. *Vedalia* 13: 1–2.
- Barrera J. 2015. Pasado, presente y perspectivas del control biológico en México. *Vedalia* 22(1): 1–7.
- Barrera J, Gómez J, Castillo A, López E, Herrera J, González G. 2008. Broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). En: Arredondo HC, Rodríguez LA (Eds.), *Casos de Control Biológico en México*. México-España: Mundi-Prensa. p. 101–120.
- Bhosale DN, Ingle YV, Goramnagar HB. 2020. Influence of different growing media on mass production of *Aschersonia aleyrodis*, a fungal pathogen of citrus black fly. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(5): 1537–1544.
- Bidochka M, Pfeifer T, Khachatourians G. 1987. Development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid cultures. *Mycopathologia* 99: 77–83.
- Bohatá A, Folorunso EA, Lencová J, Osborne LS, Mraz J. 2024. Control of sweet potato whitefly (*Bemisia tabaci*) using entomopathogenic fungi under optimal and suboptimal relative humidity conditions. *Pest Management Science* 80(3): 1065–1075.
- Cappa F, De Fazi L, Baracchi D, Cervo R. 2024. Adverse effects of the fungal biopesticide *Beauveria bassiana* on a predatory social wasp. *Science of The Total Environment* 908: 168202.

Castellanos J. 2020. Evaluación del control biológico de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate chonto (*Solanum lycopersicum*) en el municipio de Tinjacá. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. [Tesis de licenciatura].

Chaverri P, Bischoff JF, Evans HC, Hodge KT. 2008. Anamorphic genera of *Clavicipitaceae*. *Mycological Research* 112(5): 571–604.

Chaverri P, Bischoff JF, Liu M, Hodge KT. 2005. A new species of *Hypocrella*, *H. macrostroma*, and its phylogenetic relationships to other species with large stromata. *Mycological Research* 109(11): 1268–1275.

Choudhary H, Parihar S, Singh S, Parvez N. 2017. Technical bulletin on whiteflies. National Innovation Foundation-India. [Boletín técnico].

Cristancho M. 2003. Control biológico de enfermedades. En: Cristancho Ardila MA (Ed.), *Enfermedades del café en Colombia*. Colombia: Cenicafe. p. 55–63.

Ciardo D, Schar G, Altwegg M, Bottger E, Bosshard P. 2007. Identification of moulds in the diagnostic laboratory: an algorithm implementing molecular and phenotypic methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

Covarrubias P, Soto J, Valenzuela V. 2016. Densidad poblacional de mosca blanca *Bemisia spp.* (Hemiptera: Aleyrodidae) en el valle de Guaymas-Empalme, Sonora, México. *Biotecnia* 3: 9–13.

DeBach P. 1964. *Biological control of insect pests and weeds*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Duarte A. 2023. Enseñanza del control biológico en huertas familiares de Bogotá mediante el uso de *Beauveria bassiana* y la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en cultivos de cebolla (*Allium cepa*). Universidad Pedagógica Nacional. [Tesis de licenciatura].

Fransen, J.J. y van Lenteren, J.C. 1993. Biological control of whiteflies by fungal pathogens. In *Whiteflies: Their Bionomics and Management*.

Fu C, Lourencao A, Rodríguez A, Quevedo F, García F, Arredondo C, Lara R, Djair V, Avilés G, Nava C, Carapia R. 2008. Moscas blancas. En: *Temas selectos sobre su manejo*. México: Colegio de Posgraduados. p. 120.

Goettel M, Eilenberg J, Glare T. 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. *Comprehensive Molecular Insect Science* 6: 361–406.

González-Dufau G, Santamaría-Guerra J, Castrejón K, Herrera I, Monzón A. 2018. Parámetros demográficos de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) en los cultivos de papa y tomate. *Ciencia Agropecuaria* 28(1): 37–55.

Guédez C, Castillo C, Cañizares L, Olivar R. 2008. Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia* 18(3): 162–170.

Hilje L, Mora G. 2006. Promissory botanical repellents/deterrents for managing two key tropical insect pests, the whitefly *Bemisia tabaci* and the mahogany shoot borer *Hypsipyla grandella*. En: *Naturally Occurring Bioactive Compounds*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.

Huang Z, Ali S, Ren S, Wu J. 2010. Effect of *Paecilomyces fumosoroseus* on mortality and reproduction of *Bemisia tabaci* and *Plutella xylostella*. *Insect Science*.

Huerta AJ, Espinoza F, Téllez-Jurado A, Maqueda AP. 2014. Control biológico del chapulín en México. *Biotecnología* 18(1): 28–49.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2023. Economía y sectores productivos. [En línea]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/>

Kedar S, Saini R, Kumarana K. 2014. Biology of cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on cotton. *Journal of Entomology*.

Khan IA, Wan FH. 2015. Life history of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B on tomato and cotton host plants. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3(6): 404–408.

- Liu M, Chaverri P, Hodge KT. 2006. A taxonomic revision of the insect biocontrol fungus *Aschersonia aleyrodis*, its allies with white stromata and their *Hypocrella* sexual states. *Mycological Research* 110(5): 537–554.
- Lu S, Chen M, Li J, Shi Y, Gu Q, Yan F. 2019. Changes in *Bemisia tabaci* feeding behaviors caused directly and indirectly by cucurbit chlorotic yellows virus. *Virology Journal* 16: 1–14.
- Meekes ETM, Van Voorst S, Joosten NN, Fransen JJ, Van Lenteren JC. 2000. Persistence of the fungal whitefly pathogen *Aschersonia aleyrodis* on three different plant species. *Mycological Research* 104(10): 1234–1240.
- Mhasagar K, Sadawarte AK, Madavi PN, Ingle YV. 2022. Laboratory evaluation of *Aschersonia aleyrodis* (Webber) against citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* (Ashby) and whitefly, *Dialeurodes citri* (Ashmead). *Journal of Biological Control* 36(2–3): 130–135.
- Morales F, Cardona C, Bueno J, Rodríguez I. 2006. Manejo integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas. CIAT.
- Norros V, Halme P, Norberg A, Ovaskainen O. 2023. Spore production monitoring reveals contrasting seasonal strategies and a trade-off between spore size and number in wood-inhabiting fungi. *Functional Ecology* 37. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14254>
- Organización Mundial de Cítricos. 2024. Organización Mundial de Cítricos publicó sus estadísticas mundiales de cítricos. [En línea]. Disponible en: <https://www.comitedecitricos.cl/noticias-y-actividades/noticias/1358>
- Ortiz A, Keyhani N. 2013. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects* 4(3): 357–374.
- Osborne LS, Landa Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist* 75(4): 456–470.
- Pereira C, Castro C. 2022. Expansão da produção agrícola, novas tecnologias de produção, aumento de produtividade e o desnível tecnológico no meio rural. *Texto Para Discussão*: 1–72
- Pérez-González O, Gómez-Flores R, Tamez-Guerra P. 2022. Biocontrol of citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae), by spraying *Aschersonia* sp. conidia

collected from infected nymphs in Quintana Roo, Mexico. *Florida Entomologist* 105(3): 205–212.

Pérez-González, O., Rodríguez Villarreal, R. A., López-Arroyo, J. I., Maldonado Blanco, M. G., & Rodríguez Guerra, R. 2015. Mexican strains of *Hirsutella* isolated from *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Morphologic and molecular characterization. *Florida Entomologist*, 98, 290–297. <https://doi.org/10.1653/024.098.0147>

Qiu, B.-L., et al. 2003. Efficacy of *Aschersonia placenta* blastospores against greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). *Chinese Journal of Biological Control*.

Raigoza J. 2023. Evaluación del manejo etológico y biológico de mosca blanca (*Trialeurodes* sp.) en el cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Tesis].

Rangel DEN, Alston DG, Roberts DW. 2008. Effects of physical and nutritional stress conditions during mycelial growth on conidial germination speed, adhesion to host cuticle, and virulence of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus. *Mycological Research* 112(11): 1355–1361.

Rodríguez I, Cardona C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 27(1): 21–26.

Romero R. 2015. Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca. *Revista Protección Vegetal* 30: 11–16.

Sánchez J, Zamora A, Arredondo HC. 2010. Producción masiva de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático de los cítricos: una propuesta en desarrollo. En: *Primer Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México* (CD-Rom). Monterrey, Nuevo León, México: Centro Regional de Investigación del Noreste (CIRNE), INIFAP. p. 244–250.

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). 2022. Maíz, frijol, arroz y trigo, los granos básicos de México. [En línea]. Disponible en:

<https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-frijol-arroz-y-trigo-los-granos-basicos-de-mexico>

Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2020. Producción agropecuaria y pesquera. [En línea]. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-frijol-arroz-y-trigo-los-granos-basicos-de-mexico>

Statista. 2024. Ranking de los mayores países productores de limones y limas a nivel mundial en 2021, según la cantidad de producción. [En línea]. Disponible en: <https://es.statista.com/estadisticas/613493/principales-paises-productores-de-limon-en-el-mundo/>

Suchada M, Luangsaard J, Spatafora J, Sung G, Hywel-Jones N. 2009. A combined ITS rDNA and  $\beta$ -tubulin phylogeny of Thai species of *Hypocrella* with non-fragmenting ascospores. *Mycological Research* 113(6–7).

Sudarjat, Widiyanti F, Salsabila Y, Mubarak S. 2024. The effect of conidia density and application frequency of the entomopathogenic fungus *Aschersonia aleyrodis* in controlling silverleaf whitefly (*Bemisia tabaci*) on tomato (*Solanum lycopersicum* Linnaeus). *Plant Protection Science* 60(1): 80–88. doi:10.17221/74/2023-PPS.

Summy K, French J. 1988. Biological control of agricultural pests: concepts every producer should understand. *Journal of Rio Grande Valley Horticultural Society* 41: 119–133.

Sung GH, Hywel-Jones NL, Sung JM, Luangsa-ard JJ, Shrestha B, Spatafora JW. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Studies in Mycology* 57: 5–59.

Valencia K, Duana D. 2019. Los cítricos en México: análisis de eficiencia técnica. *Análisis Económico* 34(87): 269–283.

Vargas J. 2020. *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. [Tesis].

Wisler GC, Duffus JE. 2001. Transmission properties of whitefly-borne criniviruses and their impact on virus epidemiology. En: Harris KF, Smith OP, Duffus JE (Eds.), *Virus–Insect–Plant Interactions*. Academic Press. p. 293–308.

Zhang C, Shao ZF, Han YY, Wang XM, Wang ZQ, Musa P, Qiu BL, Ali S. 2018. Effects of *Aschersonia aleyrodis* on the life table and demographic parameters of *Bemisia tabaci*. *Journal of Integrative Agriculture* 17(2): 389–396.

Zhang C, Ali S, Musa P, Wang X, Qiu B. 2017. Evaluation of the pathogenicity of *Aschersonia aleyrodis* on *Bemisia tabaci* in the laboratory and greenhouse. *Biocontrol Science and Technology* 27(2): 210–221.

Zhu Y. P., Guan X., Pan J. R., & Qiu J. Z. 2008. Optimization of nutritional requirements for mycelial growth and sporulation of entomogenous fungus *Aschersonia aleyrodis* Webber. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 770–775.