

**Control biológico de la escama de las cícadas
Aulacaspis yasumatsui Takagi con el hongo
entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*
(Wize) Brown & Smith**

José Adalid Castillo Altamirano

Zamorano, Honduras

Octubre, 2008

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Control biológico de la escama de las cíadas
Aulacaspis yasumatsui Takagi con el hongo
entomopatígeno *Paecilomyces fumosoroseus*
(Wize) Brown & Smith**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por:

José Adalid Castillo Altamirano

Zamorano, Honduras

Octubre, 2008

**Control biológico de la escama de las cíadas
Aulacaspis yasumatsui Takagi con el hongo
entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*
(Wize) Brown & Smith**

Presentado por:

José Adalid Castillo Altamirano

Aprobado:

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor Principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director
Carrera de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Ronald D. Cave, Ph.D.
Asesor Principal

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador
Área Temática Fitotecnia

Kenneth L. Hoadley, D.B.A
Rector

RESUMEN

Castillo, J.A. 2008. Control biológico de la escama de las cícadas *Aulacaspis yasumatsui* Takagi con el hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith.

La escama de las cícadas, *Aulacaspis yasumatsui* Takagi, es una plaga introducida al estado de Florida (Estados Unidos) desde el Sureste asiático sin enemigos naturales. Por esta razón, se ha convertido en una plaga económicamente importante en la industria ornamental en Florida y hasta el momento los potenciales controladores biológicos no han controlado las poblaciones de la plaga. Se evaluó en el laboratorio el potencial del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (cepa PFR 97) como controlador biológico de la escama. El estudio se realizó en el Indian River Research and Education Center, de la Universidad de Florida, en Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Se probaron cuatro dosis de *P. fumosoroseus* en las ninfas de primer estadio de *A. yasumatsui*. Las dosis usadas fueron 5.35×10^7 , 9.9×10^6 , 6.38×10^5 y 1.7×10^5 esporas/ml de agua más el testigo, cada una a 20 y 30°C. La dosis de 5.35×10^7 esporas/ml de agua obtuvo el mayor porcentaje de infección ($79 \pm 12\%$), mayor mortalidad ($77 \pm 15\%$) y fue la que más limitó la muda de las ninfas ($20 \pm 13\%$). *P. fumosoroseus* fue más efectivo a 30 que a 20°C en porcentaje de infección y mortalidad. No existió interacción entre la dosis y la temperatura para el porcentaje de infección y mortalidad. El menor porcentaje de muda se obtuvo con la dosis de 5.35×10^7 esporas/ml de agua a 20°C ($13 \pm 9\%$, $P < 0.05$). La CL_{50} fue de $5.9 \times 10^6 \pm 7.0 \times 10^5$ esporas/ml a 30°C. El TL_{50} fue de 5.1 ± 0.3 días a 30°C para la dosis de 5.35×10^7 esporas/ml. A los 20 días a 30°C, el crecimiento radial del hongo en PDA (Potato dextrose agar) fue mayor (30 mm). En conclusión, el hongo controla los primeros estadios de *A. yasumatsui* en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Florida, manejo integrado, plagas invasoras.

ABSTRACT

Castillo, J.A. 2008. Biological control of the Cycad Aulacaspis Scale *Aulacaspis yasumatsui* takagi with the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith.

The Cycad Aulacaspis Scale *Aulacaspis yasumatsui* Takagi, is a pest introduced to Florida from the Southeast Asia without natural enemies. Because of this reason, it has become in an economically important pest in the ornamental industry in Florida, and so far, the potential biological control agents have not controlled the populations of the pest. The fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (PFR 97 strain) was tested as a biocontrol agent of the scale in laboratory conditions. The experiment was carried over in the Indian River Research and Education Center, of the University of Florida, located in Fort Pierce, Florida, United States. Four dosages of *P. fumosoroseus* were tested on the first instar nymphs (crawlers) of *A. yasumatsui*. The dosages used were 5.35×10^7 , 9.9×10^6 , 6.38×10^5 y 1.7×10^5 spores/ml of water and the control, each one under 20 and 30°C. The dose of 5.35×10^7 spores/ml of water got the best percentage of infection ($79 \pm 12\%$), the highest mortality ($77 \pm 15\%$) and it was the one which most limited the molting of the nymphs ($20 \pm 13\%$). *P. fumosoroseus* was more effective under 30 than under 20°C respecting to the percentage of infection and mortality. There was not interaction between dose and temperature for the percentage of infection and mortality. The lowest percentage of molting was gotten with the dose of 5.35×10^7 spores/ml of water under 20°C ($13 \pm 9\%$, $P < 0.05$). The LC_{50} was $5.9 \times 10^6 \pm 7.0 \times 10^5$ spores/ml under 30°C. The LT_{50} was 5.1 ± 0.3 days under 30°C for the dose of 5.35×10^7 spores/ml. The radial growth of the fungus on PDA (Potato dextrose agar) after 20 days was bigger under 30°C (30 mm). In conclusion, the fungus controls the first instar nymphs of *A. yasumatsui* in laboratory conditions.

Key words: Florida, invasive pests, integrated management.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Contenido.....	v
Índice de Figuras y Cuadros	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
CONCLUSIONES.....	15
RECOMENDACIONES.....	15
LITERATURA CITADA.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Figura	Página
1. Porcentaje de infección de PFR97 sobre ninfas de primer estadio de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	6
2. Porcentaje de infección de cuatro dosis de PFR97 sobre las ninfas de primer estadio de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	7
3. Porcentaje de mortalidad de ninfas de primer estadio de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	7
4. Porcentaje de mortalidad de las ninfas de primer estadio de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> usando cuatro dosis de PFR97 a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	8
5. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de las ninfas de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	9
6. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de las ninfas de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> usando cuatro dosis de PFR97 a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).....	10
7. Concentración letal media (CL_{50}) de PFR97 a los 8 días usando dos temperaturas.....	12
8. Tiempo letal medio (TL_{50}) de la dosis más alta de PFR97 (5.35×10^7 esporas/ml) usando dos temperaturas.....	12
9. Crecimiento radial de PFR97 en PDA (Potato dextrose agar) usando dos temperaturas.....	13
Cuadro	Página
1. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de <i>Aulacaspis yasumatsui</i> expuesta a la interacción de dos temperaturas y cinco dosis de PFR97 a los 8 días después de la aplicación.....	11

INTRODUCCIÓN

La escama *Aulacaspis yasumatsui* Takagi (Hemiptera: Diaspididae), conocida comúnmente como la escama de las cícadras o la escama asiática de las cícadras, es una plaga introducida al estado de Florida (Estados Unidos) desde el Sureste Asiático sin enemigos naturales. La escama ataca particularmente los géneros *Cycas* (Cycadaceae), *Dioon*, *Encephalartos*, *Microcycas* (Zamiaceae) y *Stangeria* (Stangeriaceae), se alimenta de las partes aéreas y a veces de las raíces en las plantas hospederas (Howard *et al.* 1999). El daño empieza en el envés de los foliolos con pequeñas manchas cloróticas que van creciendo a medida que la infección crece hasta secar completamente la planta. Cuando la planta está completamente infectada se cubre con una capa blanca de escamas de distintos estadios que pueden estar vivos o muertos, lo que hace difícil su remoción aún cuando los insectos ya están muertos (EPPO 2008).

La escama de las cícadras es una plaga inusualmente difícil de controlar, ya que forma poblaciones densas y se mueve rápidamente a nuevas áreas a través del comercio de plantas (Howard y Haynes 2006). El control químico se basa en aplicaciones de insecticidas como dimetoato e imidacloprid, que han resultado efectivos a muy altas concentraciones en algunos experimentos, pero se han encontrado situaciones en que estos insecticidas no controlan la escama. Hasta el momento el control más efectivo ha sido la aplicación de aceite de pescado y aceites agrícolas sobre el follaje desde que empiezan a aparecer los primeros estadios; estos aceites evitan que las ninfas de primer estadio se establezcan en la planta y empiecen a alimentarse. Las aplicaciones continuas por varias semanas también matan algunas hembras adultas (Weissling y Howard 1999).

Los enemigos naturales de *A. yasumatsui* han sido poco estudiados hasta ahora (Watson 2005). Los parasitoides encontrados son: *Coccobius fulvus* (Compere and Annecke), introducido a Estados Unidos (Florida) desde Tailandia en 1998, *Arrhenophagus chionaspidis* Aurivillius y *Aprostocetus purpureus* (Cameron) que parasitan la escama de las cícadras a través del Sureste Asiático. Dieciséis especies de escarabajos depredadores (Coccinellidae) han sido encontradas en plantas infectadas con la escama en el sur de Florida. *Chilocorus cacti* (L.), *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant y *Exochomus childreni childreni* Mulsant son encontrados frecuentemente, pero no suprimen las poblaciones de la escama. *Rhyzobius lophanthae* (Blaisdell) presentó buen control de la escama en Hawai, pero tiene una escasa distribución en las cícadras de Florida. El escarabajo depredador *Cybocephalus nipponicus* Endrödy-Younga abunda y está bien distribuido en Florida y contribuye a una mortalidad limitada de la escama. Hasta el momento no se han reportado hongos entomopatógenos en la escama (Cave 2006).

PFR97 (Certis, EEUU) es una cepa infectiva de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) contra los primeros estadios de *Bemisia argentifolii* (Bellows and Perrin) (Lacey *et al.* 1999). Las ninfas de primer estadio de *A. yasumatsui* son el estadio primario de dispersión y se mueven a nuevas áreas de la planta o son dispersados por el viento o por contacto animal (Watson 2005).

El hongo tiene un crecimiento óptimo entre 20 y 25°C en Europa con un rango entre 8 y 30°C; en climas del sur de Estados Unidos y el oeste de Asia (subtrópico húmedo y seco) crece en un rango de 8 a 35°C con crecimiento óptimo entre 25 y 28°C. Por último, en climas monzónicos (La India), tolera temperaturas hasta de 32 a 35°C (Vidal *et al.* 1997).

La temperatura óptima de crecimiento de las ninfas de *A. yasumatsui* es 30°C y su desarrollo se ve limitado cuando la temperatura es menor a 20°C. Debajo de 20°C desarrollan corazas (cubiertas cerosas) deformes y tienen grandes dificultades para seguir mudando hasta alcanzar el estado adulto. La fecundidad de *A. yasumatsui* todavía no está bien estudiada, pero se conoce que es un insecto muy prolífico y esta puede ser una de las razones por las que sus enemigos naturales no han ejercido un control efectivo de la plaga en las cícadras de Florida (Cave y Sciacchetano 2006).

Las cícadras son plantas ornamentales muy caras porque crecen muy lentamente, por lo tanto, *A. yasumatsui* ha tenido un impacto considerable en la industria ornamental donde ha sido introducida sin enemigos naturales (Watson 2005). El uso de agentes de control biológico como hongos entomopatógenos puede ser una buena alternativa para el manejo de la escama de las cícadras; sin embargo, no existe mucha información ni evidencia sobre los efectos del hongo entomopatógeno *P. fumosoroseus* sobre la escama. Este estudio evalúa el potencial de *P. fumosoroseus* como agente de control biológico para *A. yasumatsui* en los primeros estadios de la plaga.

El propósito general del estudio fue determinar el efecto de *P. fumosoroseus* a cuatro concentraciones en la escama de las cícadras *A. yasumatsui*. Específicamente, el objetivo del experimento fue determinar la tasa de infección del hongo, mortalidad y muda de las ninfas de primer a segundo estadio de *A. yasumatsui* bajo dos temperaturas (20 y 30°C); además de determinar el crecimiento radial de PFR97 en PDA (Potato dextrose agar) a 20 y 30°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colonias de escamas

El experimento se hizo en condiciones de laboratorio en el Indian River Research and Education Center (IRREC), de la Universidad de Florida, ubicado en Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Las colonias de *A. yasumatsui* se criaron colocando cícadras sanas (*Cycas revoluta* Thundberg) al lado de cícadras infectadas con la escama para que las hojas quedaran en contacto unas con otras. Así, las ninfas móviles de primer estadio pasaron de las hojas infectadas hacia las sanas. Las escamas se criaron en cámaras de crecimiento bajo condiciones controladas (27°C, 80% de humedad relativa y 12:12 horas de fotoperíodo).

Suspensiones de esporas de PFR97

Las suspensiones se prepararon en el Laboratorio de Fitopatología de IRREC. Estas suspensiones se prepararon en un beaker y reposaron por 20 minutos hasta que el exceso de producto comercial se precipitó en el fondo del beaker. La parte líquida de la suspensión contenía las esporas que son el ingrediente activo de la formulación comercial de PFR97. Se usaron esporas porque tienen una tasa de germinación más rápida que las conidias en la cutícula de *B. argentifolii* (Vega *et al.* 1999). Después de preparar las suspensiones, éstas se colocaron en botes asperjadores de laboratorio para aplicarlas en las colonias de la escama.

Primero se preparó una suspensión con 1.0 g de formulación comercial de PFR97 en 100 ml de agua destilada estéril. Se hizo el conteo de esporas en la cámara de Neubauer para esta suspensión y se obtuvo una concentración de 5.35×10^7 esporas/ml de agua. Para hacer las siguientes diluciones se tomó un ml de la suspensión anterior y se colocó en 9 ml de agua destilada estéril para obtener una suspensión de 10 ml a una concentración de 9.9×10^6 esporas/ml de agua. Este procedimiento se usó también para obtener las concentraciones siguientes de 6.38×10^5 y 1.7×10^5 esporas/ml de agua.

La concentración de esporas se calculó contando el número de esporas en la cámara de Neubauer y utilizando la siguiente fórmula:

Concentración = (promedio de esporas por cuadro) $\times 20 \times 2 \times 10^5$

Donde:

Promedio de esporas por cuadro = promedio de esporas en 20 cuadros de la cuadrícula en la cámara de Neubauer.

Aspersión y almacenamiento

Se trabajó con la misma cantidad de insectos en cada folíolo. Se dejaron 10 ninfas de primer estadio de *A. yasumatsui* en cada folíolo y se removieron los insectos sobrantes de la colonia. Una vez que las suspensiones de esporas estuvieron listas, los folíolos se asperjaron con las suspensiones en una cámara de flujo laminar. Para la aspersión, los folíolos se colocaron uno al lado de otro y se asperjaron de arriba hacia abajo en el envés. Con cada concentración se asperjaron cinco folíolos (repeticiones) y cinco folíolos más se asperjaron con agua destilada estéril para control, para un total de 25 folíolos que se expusieron a una temperatura de 20°C. Otros 25 folíolos se trataron exactamente igual y se expusieron a 30°C.

Una vez que los folíolos se asperjaron, se colocaron en platos petri con papel filtro mojado para mantener la humedad alta. Antes del ensayo, se hizo una prueba de tolerancia a la desecación de los folíolos. Se colocaron diez folíolos en platos petri con papel filtro mojado para determinar el tiempo que resistían vivos despegados de la planta. Los folíolos permanecieron verdes dos semanas dentro de los platos petri, tiempo suficiente para que los insectos siguieran vivos y alimentándose mientras se completaba el ciclo de vida del hongo. Los platos petri con los folíolos tratados se sellaron con parafilm y se almacenaron en cámaras de crecimiento bajo sus respectivas condiciones. El ensayo se repitió dos veces para un total de 100 folíolos y 1000 insectos.

Se asperjaron cuatro platos petri con las suspensiones de esporas (uno por cada dosis) y se almacenaron en las mismas condiciones de los tratamientos de las ninfas para medir la viabilidad de las esporas. La viabilidad de las esporas se midió a las 24 horas después de asperjar las suspensiones en los platos de PDA; se contaron las esporas no germinadas para determinar un porcentaje de germinación. La viabilidad promedio fue de 90% para las cuatro concentraciones.

Monitoreo de la infección

El conteo de insectos al estereoscopio se hizo a los 3, 5, 6 y 8 días después de la aplicación hasta observar producción de conidias del hongo. Se determinó la tasa de infección de cada dosis en cada temperatura, así como también la mortalidad y muda de las ninfas de primer a segundo estadio en cada dosis y cada temperatura.

Crecimiento radial de PFR97

El crecimiento radial de PFR97 se determinó a dos temperaturas (20 y 30°C). Se colocó una gota de 0.4 ml (5.35×10^7 esporas/ml) de suspensión de esporas en el centro de cada uno de 20 platos petri con PDA. Diez platos petri se almacenaron a 20°C y diez a 30°C. Se midió el crecimiento radial del hongo a los 4, 7, 10, 13, 15, 18 y 20 días después de inocularlo en PDA para compararlo a las dos temperaturas. El ensayo se repitió dos veces.

Diseño experimental y análisis estadístico

El ensayo fue un factorial con dos temperaturas (20 y 30°C) y cinco dosis, cinco folíolos en cada dosis (repeticiones) y diez insectos en cada folíolo y se repitió dos veces. Los datos de la tasa de infección del hongo, la mortalidad y muda de los insectos se procesaron mediante el análisis de GLM por el ANDEVA y separación de medias por el método de SNK (Student - Newman - Keuls) en el programa SAS (SAS Institute Inc. 2002-2004) con un nivel de significancia de 0.05 a los 8 días después de la aplicación. Se usaron datos transformados con logaritmos para reducir el coeficiente de variación y mejorar el ajuste del modelo.

El crecimiento de PFR97 en PDA se determinó con un ensayo en un diseño completo al azar (DCA), cuyos datos se procesaron con una regresión lineal en el programa SAS. La mortalidad de los insectos bajo las cuatro concentraciones y las dos temperaturas se analizó con el programa Probit (Finney 1971) para determinar la CL_{50} y TL_{50} . Los datos de ambas repeticiones del experimento se analizaron juntos porque no hubo diferencia significativa entre las dos repeticiones ($P > 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de infección de PFR97 sobre *A. yasumatsui* aumentó desde el tercer hasta el octavo día después de la aplicación. Los porcentajes de infección de PFR97 a 20 y 30°C fueron de 34 ± 7 y $36 \pm 5\%$, respectivamente, a los 8 días ($P < 0.05$). Para el porcentaje de infección no hubo interacción entre la temperatura y la dosis usada ($P > 0.05$) (Figura 1).

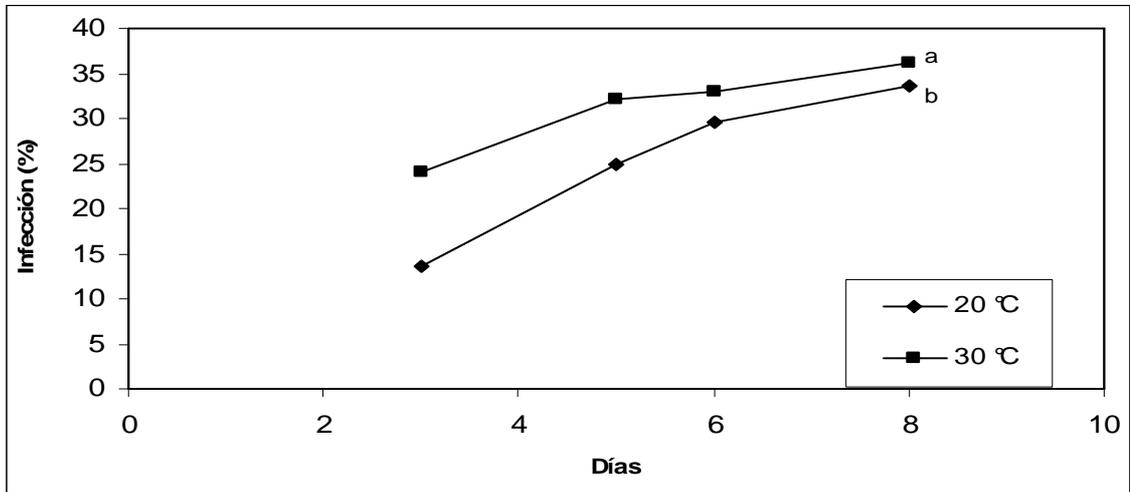


Figura 1. Porcentaje de infección de PFR97 sobre ninfas de primer estadio de *Aulacaspis yasumatsui* usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

El porcentaje de infección de PFR97 sobre *A. yasumatsui*, independientemente de la temperatura (20 ó 30°C), fue más alto con la mayor dosis (5.35×10^7 esporas/ml) a los 8 días, con un valor de $79 \pm 12\%$ ($P < 0.05$). La tendencia de la infección es a aumentar a partir del tercer día después de la aplicación probablemente debido a la germinación progresiva de las esporas y la producción de nuevas conidias del hongo al completar el ciclo de vida (Figura 2).

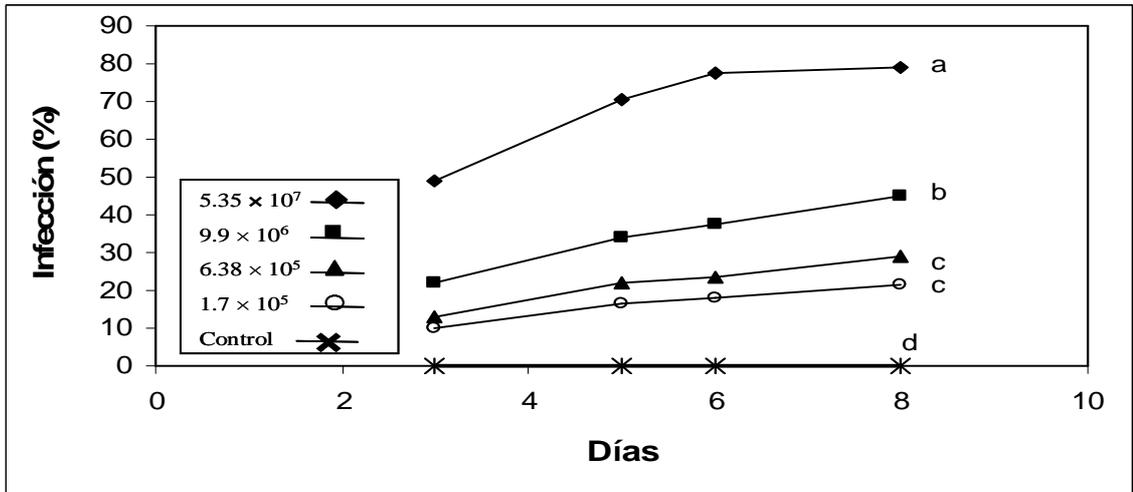


Figura 2. Porcentaje de infección de cuatro dosis de PFR97 sobre las ninfas de primer estadio de *Aulacaspis yasumatsui* a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

Los porcentajes de mortalidad a 20 y 30°C fueron de 30 ± 6 y $36 \pm 5\%$, respectivamente, a los 8 días ($P < 0.05$). Al igual que la infección, la mortalidad aumentó en ambas temperaturas a partir del tercer día después de la aplicación. La diferencia entre temperaturas se debe a que el hongo se disemina más rápido a 30°C, lo que le da una mayor capacidad de infección (Figura 3).

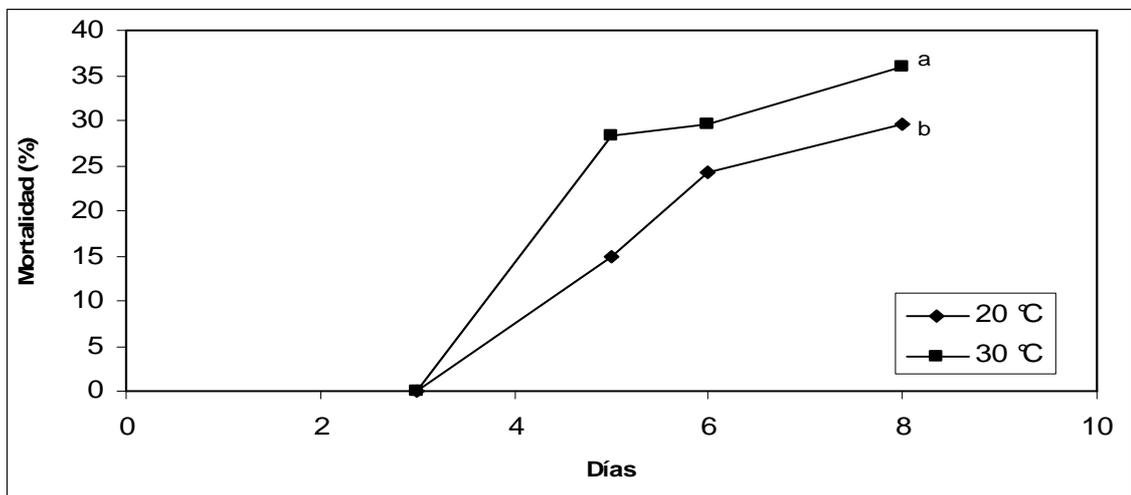


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de ninfas de primer estadio de *Aulacaspis yasumatsui* usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

El porcentaje de mortalidad de las ninfas de primer estadio de *A. yasumatsui* fue más alto en la mayor dosis (5.35×10^7 esporas/ml) independientemente de la temperatura (20 ó 30°C), con un valor de $77 \pm 15\%$ a los 8 días ($P < 0.05$). No hubo interacción entre la temperatura y la dosis para el porcentaje de mortalidad ($P > 0.05$). La mortalidad, al igual que la tasa de infección, aumentó a partir del tercer día después de la aplicación probablemente debido a la germinación progresiva de las esporas y la producción de nuevas conidias del hongo que continuaron diseminando la infección (Figura 4).

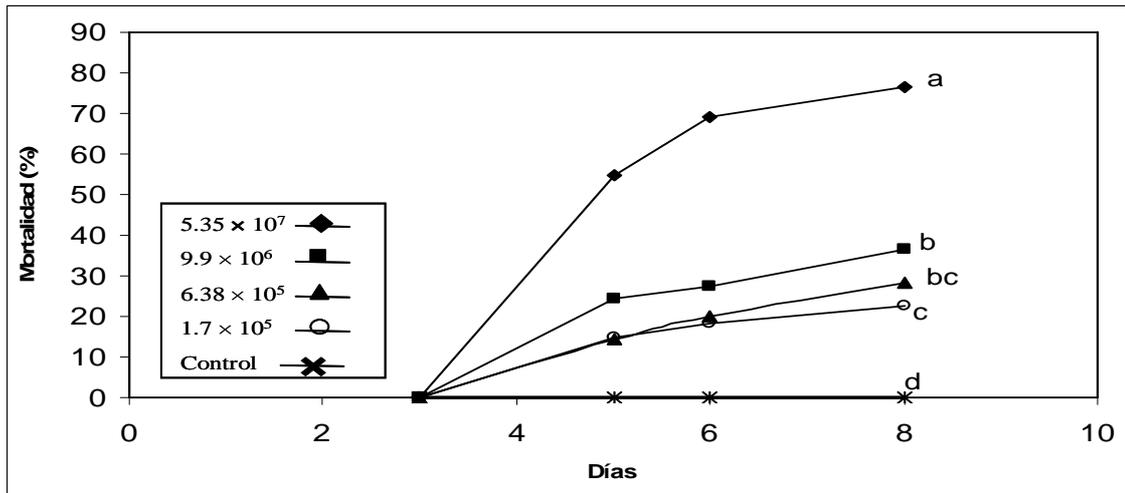


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de las ninfas de primer estadio de *Aulacaspis yasumatsui* usando cuatro dosis de PFR97 a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

Los porcentajes de muda de primer a segundo estadio a 20 y 30°C fueron de 32 ± 4 y $52 \pm 2\%$, respectivamente, a los 8 días después de la aplicación de PFR97 ($P < 0.05$). La tendencia de la muda en ambas temperaturas fue de aumentar a partir del tercer día después de la aplicación. La diferencia entre 20 y 30°C, se debe a que la temperatura afecta directamente la fisiología y metabolismo de los insectos. Cuanto mayor es la temperatura, el ciclo de vida y muda de *A. yasumatsui* se completan más rápidamente (Figura 5).

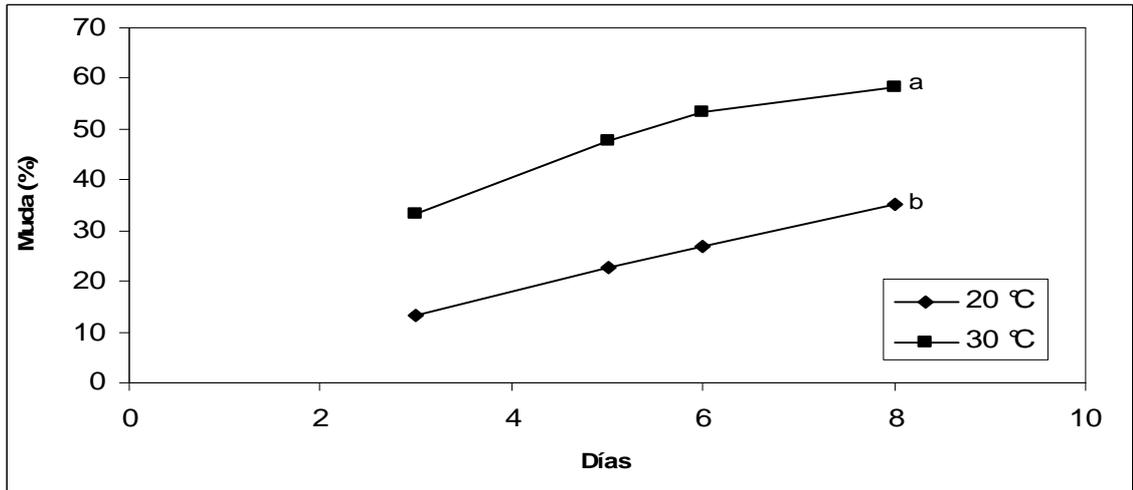


Figura 5. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de las ninfas de *Aulacaspis yasumatsui* usando dos temperaturas a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

El porcentaje de muda de primer a segundo estadio de *A. yasumatsui* fue menor con la dosis de 5.35×10^7 esporas/ml (la más alta) porque murieron más insectos y por ende menos insectos pudieron mudar. Ésta fue la mejor dosis, con la cual se obtuvo el menor porcentaje de muda ($20 \pm 13\%$) a los 8 días ($P < 0.05$). La muda de primer a segundo estadio de *A. yasumatsui* aumentó a partir del tercer día después de la aplicación (Figura 6).

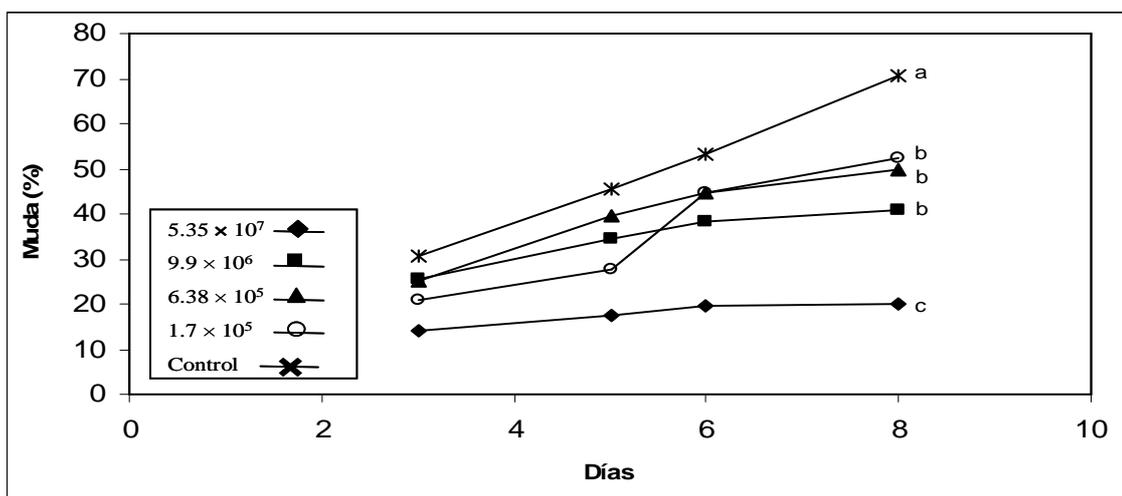


Figura 6. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de las ninfas de *Aulacaspis yasumatsui* usando cuatro dosis de PFR97 a los 8 días. Puntos con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

La interacción de 5.35×10^7 esporas/ml a 20°C , obtuvo un porcentaje de muda de $13 \pm 9\%$, el menor entre todas las interacciones ($P < 0.05$). Esto se debe a que en la dosis más alta, pudieron mudar menos individuos. Además, el porcentaje de muda a 20°C fue bajo ($32 \pm 4\%$) en promedio de todas las dosis, como resultado, la interacción de la dosis más alta y la temperatura más baja, limitó más la muda de la escama (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de muda de primer a segundo estadio de *Aulacaspis yasumatsui* expuesta a la interacción de dos temperaturas y cinco dosis de PFR97 a los 8 días después de la aplicación.

Tratamiento (Temperatura y esporas/ml)	Muda (%)
30 °C	
5.35 × 10 ⁷	27 b
9.9 × 10 ⁶	59 cd
6.38 × 10 ⁵	63 d
17.5 × 10 ⁴	66 d
Testigo	93 e
20 °C	
5.35 × 10 ⁷	13 a
9.9 × 10 ⁶	28 b
6.38 × 10 ⁵	45 c
17.5 × 10 ⁴	55 cd
Testigo	53 c

Medias en la columna con la misma letra no difieren significativamente entre sí (p>0.05).

La CL₅₀ de *P. fumosoroseus* a 20°C fue de $1.05 \times 10^7 \pm 1.3 \times 10^6$ esporas/ml y a 30°C fue de $5.9 \times 10^6 \pm 7.0 \times 10^5$ esporas/ml. La CL₉₀ de *P. fumosoroseus* a 20°C fue de $1.6 \times 10^8 \pm 7.0 \times 10^6$ esporas/ml y a 30°C fue de $1.1 \times 10^8 \pm 1.4 \times 10^7$ esporas/ml (Figura 7). El TL₅₀ de *P. fumosoroseus* a 20°C fue de 5.5 ± 0.4 días y a 30°C fue de 5.1 ± 0.3 días para la dosis más alta (5.35×10^7 esporas/ml). El TL₉₀ de *P. fumosoroseus* para la dosis más alta a 20 y 30°C fue igual (8.6 ± 0.4 días). Este resultado demuestra una mayor efectividad de *P. fumosoroseus* a 30°C en comparación con 20°C; a mayor temperatura, mayor crecimiento del hongo, mayor capacidad de dispersión de esporas, mayor capacidad de infectar a su hospedero, menos esporas se necesitan y menor es el tiempo que tarda en morir el 50% de la población (Figura 8).

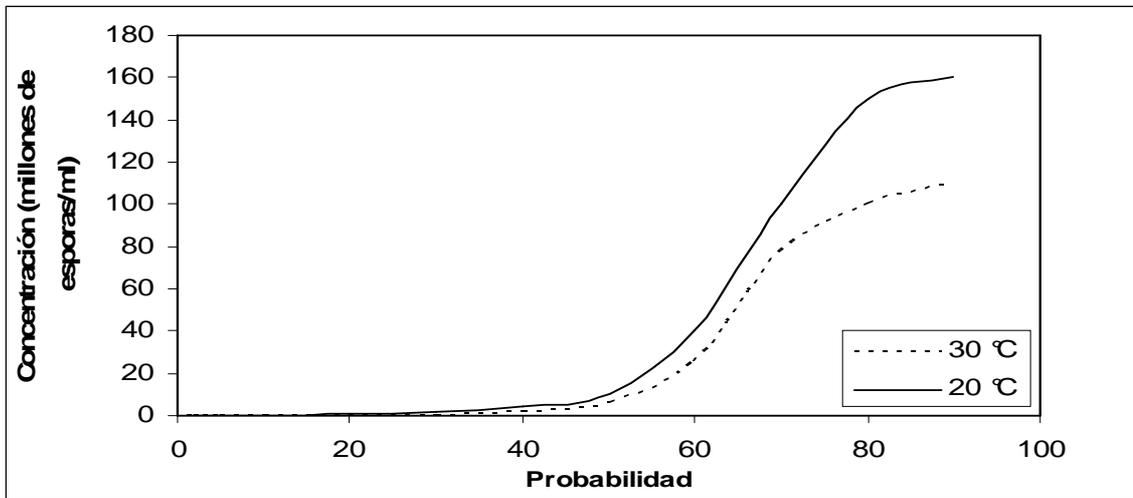


Figura 7. Concentración letal media (CL_{50}) de PFR97 a los 8 días usando dos temperaturas.

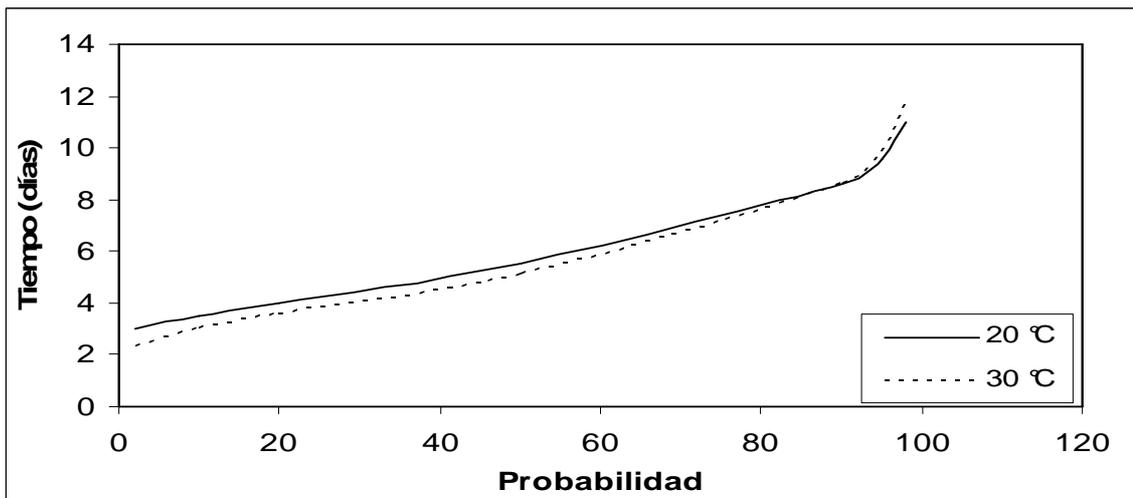


Figura 8. Tiempo letal medio (TL_{50}) de la dosis más alta de PFR97 (5.35×10^7 esporas/ml) usando dos temperaturas.

El crecimiento radial (mm) de PFR97 en PDA a 20 y 30°C presentó diferencias significativas entre las dos temperaturas. El siguiente modelo de regresión explica estas diferencias y la interacción entre la temperatura y los días en el crecimiento de PFR97 en PDA ($P < 0.05$, $R^2 = 0.9$).

$$R = -9.45 + 1.29D + 0.44T$$

Donde:

R = radio (mm) de PFR97 en PDA.

D = días después de inoculación.

T = temperatura (°C).

Según el modelo de regresión, por cada día después de la inoculación y cada grado centígrado que incremente la temperatura, el radio de PFR97 incrementa en 1.29 y 0.44 mm, respectivamente. Esta diferencia en crecimiento se debe a un metabolismo más rápido del hongo cuando la temperatura es más alta y explica por qué el hongo fue más efectivo a 30°C que a 20°C (Figura 9).

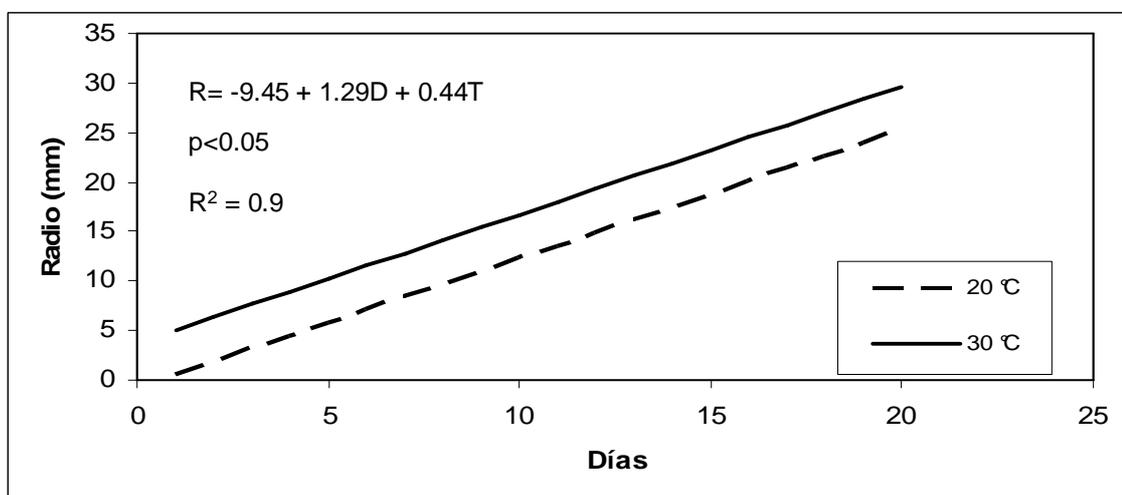


Figura 9. Crecimiento radial de PFR97 en PDA (Potato dextrose agar) usando dos temperaturas.

P. fumosoroseus demostró una efectividad aceptable para el control de los primeros estadios de *A. yasumatsui*, lo que lo agrega a la lista de potenciales controladores biológicos de la plaga. La temperatura óptima de crecimiento de *A. yasumatsui* es 30°C y *P. fumosoroseus* tiene una efectividad aceptable a esta temperatura, lo que indica que *P. fumosoroseus* puede usarse en las condiciones en que *A. yasumatsui* se desarrolla. Si la temperatura está cerca de 20°C, la escama tiene problemas en su crecimiento, especialmente la muda de primer a segundo estadio, lo que la haría más susceptible a *P. fumosoroseus* al prolongar la duración del estadio más susceptible. Sin embargo, a 20°C, la letalidad de PFR97 se reduce significativamente casi en un 18% comparado con la letalidad a 30°C. La mayor efectividad y crecimiento del hongo a 30°C, indica que puede ejercer un buen control a las temperaturas de Florida, donde su óptimo crecimiento se da entre 25 y 28°C como afirman Vidal *et al.* (1997).

P. fumosoroseus, por ser un hongo entomopatógeno muy agresivo, puede tener efectos negativos sobre las poblaciones de organismos no objetivos. Esto sugiere que

debe estudiarse la interacción entre *P. fumosoroseus* y otros enemigos naturales potenciales de *A. yasumatsui*. Si no hay un antagonismo entre los agentes de control biológico, podría aplicarse *P. fumosoroseus* cuando la población de la escama esté mayormente en su primer estadio y luego liberar los parasitoides y depredadores que atacarían los segundos estadios, huevos y los adultos; esto debido a que el efecto de *P. fumosoroseus* sobre *A. yasumatsui* es mínimo una vez que los primeros estadios desarrollan su coraza al mudar a segundo estadio.

CONCLUSIONES

La mejor dosis de PFR97 fue de 5.35×10^7 esporas/ml de agua, que fue con la que se obtuvieron los mejores porcentajes de infección, mortalidad y la que más limitó la muda de primer a segundo estadio de las ninfas de *A. yasumatsui*.

La infección y letalidad de PFR97 sobre *A. yasumatsui* son mejores a 30 que a 20°C.

La muda de *A. yasumatsui* de primer a segundo estadio es más rápida a 30 que a 20°C aún expuesta a PFR97. La mejor interacción dosis – temperatura (la que más limitó la muda) fue una concentración de 5.35×10^7 esporas/ml a 20°C.

El crecimiento radial de PFR97 en PDA es mayor a 30 que a 20°C.

RECOMENDACIONES

Usar una concentración de 5.35×10^7 esporas/ml de agua de PFR97 o probar dosis mayores para comprobar si aumenta la efectividad del hongo.

Aplicar PFR97 cuando la temperatura esté cerca de los 30 °C en lugar de 20 °C ya que su crecimiento y efectividad sobre *A. yasumatsui* son mayores a 30 °C en condiciones de laboratorio.

Probar el desempeño de PFR97 sobre *A. yasumatsui* en las condiciones de campo en Florida donde existan producciones de cícadas infectadas con la escama.

Determinar el efecto de PFR97 sobre organismos no objetivos como *C. fulvus*, *A. chionaspidis* (parasitoides), *R. lophanthae* y *C. nipponicus* (depredadores), que son los enemigos naturales más efectivos hasta el momento para el control de *A. yasumatsui* en Florida.

LITERATURA CITADA

Cave, R.D. 2006. Agentes de Control Biológico para la Escama de las Cícadas *Aulacaspis yasumatsui* (En inglés). Proc. Fla. State Hort. Soc. 119: 422-424.

Cave, R.D., Sciacchetano, C. 2006. Desarrollo de la escama de las cícadas *Aulacaspis yasumatsui* (Hemiptera: Diaspididae) dependiendo de la temperatura (En inglés). Reunión Anual de la Sociedad Entomológica de Florida. 2006.

EPPO (Organización Europea y Mediterránea de Protección Vegetal). 2008. *Aulacaspis yasumatsui* (Homoptera: Diaspididae) (En inglés). (En línea). Consultado el 25 de Julio de 2008. Disponible en: http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/insects/AULSYA.htm

Finney, D. J. 1971. Probit Analysis, Cambridge University Press; 333 pp.

Howard, F.W., Hamon, A., Mclaughlin, M., Weissling, T., Yang, Si-Lin. 1999. *Aulacaspis yasumatsui* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Diaspididae), una escama plaga de las cícadas recientemente introducida a Florida (En inglés). Florida Entomologist 82(1): 14 – 27.

Howard, F. W., Haynes J. 2006. Base de Datos Global de Especies Invasivas: *Aulacaspis yasumatsui* (En inglés). (En línea). Consultado el 5 de febrero de 2008. Disponible en: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=814&fr=1&sts=>.

Lacey, A., Kirk, A., Millar, L., Mercadier, G., Vidal, C. 1999. Efecto ovicida y larvicida de las conidias y blastoesporas de *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) contra *Bemissia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) con una descripción de un sistema de bioensayo permitiendo la sobrevivencia prolongada de los insectos control (En inglés). Biocontrol Sci Technol 9:9 - 18.

SAS Institute Inc. 2002-2004. Sistema de Análisis Estadístico SAS (Software). Cary, Carolina del Norte, Estados Unidos.

Vega, F.E., Jackson, M.A., McGuire, M.R. 1999. Germinación de conidias y blastoesporas de *Paecilomyces fumosoroseus* sobre la cutícula de *Bemissia argentifolii* (En inglés). Mycopathologia 147: 33-35.

Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L. 1997. Variabilidad intraespecífica de *Paecilomyces fumosoroseus*: Efecto de la temperatura en el crecimiento vegetativo (En inglés). Journal of Invertebrate Pathology 70(1): 18-26.

Watson, G.W. 2005. Artrópodos de Importancia Económica: Diaspididae, *Aulacaspis yasumatsui* (En inglés). (En línea). Consultado el 4 de Febrero de 2008. Disponible en: <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php?menuentry=soorten&id=97>.

Weissling, T.J., Howard, F.W. 1999. Escama de las cícadras *Aulacaspis yasumatsui* Takagi (En inglés). (En línea). Consultado el 25 de Julio de 2008. Disponible en: http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/palms/cycad_scale.htm.