

Comportamiento bioclimático de *aschersonia* spp. Una contribución para la precisión del manejo fitosanitario de aleyrodidos y coccoideos en cítricos.

Autores: Alexis A. Hernández Mansilla¹, María Ofelia López Mesa², Caridad Daquinta Rico³, Caridad Casola³ y Jorge David Alonso Sánchez¹

1. Centro Meteorológico Provincial de Ciego de Ávila. Email: ahmansilla@meteo.fica.inf.cu , david@meteo.fica.inf.cu

2. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Email: molopez@inisav.cu

3. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Ciego de Ávila

Resumen

Con el objetivo de alcanzar mayor precisión en el manejo fitosanitario de aleyrodidos y coccoideos en el cultivo de los cítricos, se realizaron trabajos sobre la biología y epizootiología de especies del género *Aschersonia* presentes en el agroecosistema citrícola de Ciego de Ávila. Los experimentos se ejecutaron en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de esta provincia y Empresa de Cítricos Ceballos de 1996 a 2004. Se realizaron pruebas «in vitro» de germinación de conidios a diferentes porcentajes de humedad relativa y temperatura; siembras de aislamientos en distintos medios de cultivo a temperaturas e iluminación mediante los métodos propuestos por el Manual para Patólogos Vegetales (FAO, 1985). Además se determinó el comportamiento poblacional del hongo y su relación con el clima mediante datos obtenidos en el monitoreo de campo del entomopatógeno según la metodología de Suris y Varona (1988) y las variables climáticas procedentes de la Estación Meteorológica Camilo Cienfuegos, los cuales se sometieron a análisis multivariado de «Componentes principales» y análisis de varianza con SPSS (2002). Se demostró que las condiciones óptimas para la germinación son: un 100 % de HR, temperatura de 23 y 24 °C en un término de 72 y 96 horas de exposición que contrastan con 18 y 32 °C donde se inhibe el proceso. Su mayor crecimiento y esporulación ocurren en medio de cultivo agar saboraud dextrosa a 24 °C. Su epizootiología se caracteriza por presentar tres momentos diferentes, de ellos el de mayor incremento ocurre de octubre a febrero con incidencia de temperaturas medias próximas a 23 y 24°C, HR superior a 80 %, escasa precipitación y nubosidad, de las cuales son determinantes la temperatura y la humedad relativa para la aparición de epizootias, resultados a utilizar en las decisiones de las medidas fitosanitarias para el manejo de estas plagas.

Introducción

El género *Aschersonia* Mont. es un eficiente parásito de la entomofauna dañina en los cultivos de cítricos y guayaba (Silva, 1996 e Ibrahim *et al.*, 1993). Su actividad entomopatógena se conoce desde 1897 (Fransen, 1987 b)). En este género, se destacan especies como *Aschersonia aleyrodis* (Webber), microorganismo típico de amplia actividad reguladora de poblaciones aleyrodidos y coccoideos (Gao *et al.*, 1985 y Zou, 1988). Además de su empleo como bioplaguicida en Holanda, Ucrania, Estados Unidos y Malasia contra insectos como *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de pepino en invernaderos, flores y ornamentales (Ramackers y Samson, 1984; Foschi y Deseo, 1987).

El éxito y la efectividad de la explotación de los entomopatógenos descansan sobre el conocimiento sobre el mecanismo de acción, biología, comportamiento epizootológico y otros que permitan su manipulación como biorregulador.

El sistema de manejo fitosanitario de las principales plagas y enfermedades del cultivo de los cítricos, indica la utilización de los organismos benéficos presentes en ese agroecosistema como uno de los elementos para establecer las medidas a tomar en el control de las plagas y enfermedades que lo afectan (Otero *et al.*, 1994). Por tanto, la necesidad de ejercer un manejo eficiente sobre aleyrodidos y coccoideos en este cultivo requiere del conocimiento de *Aschersonia* spp. lo cual permitirá el enriquecimiento del «Manual de Orientaciones para el Manejo Fitosanitario de las Principales Plagas y Enfermedades de los Cítricos» mediante las indicaciones para la utilización de este entomopatógeno en las decisiones de las medidas fitosanitarias, sobre la base de su biología y epizootiología, por tanto los objetivos del presente trabajo son: evaluar los efectos de humedad relativa y la temperatura según tiempos de exposición en la germinación de los conidios de las especies de *Aschersonia* presentes en Ciego de Ávila; evaluar «in

vitro» el efecto de la temperatura, la humedad relativa y la luminosidad ; caracterizar la dinámica poblacional en plantaciones de cítricos e interpretar el comportamiento epizootológico para su inserción en el manejo de aleyrodidos y coccoideos.

Materiales y métodos

Los trabajos de esta investigación se desarrollaron durante 1996 a 2004, los ensayos de campo se realizaron en la Empresa Cítricos Ceballos, en plantaciones de naranjo Valencia (*Citrus sinensis* (L), injertado sobre patrón naranjo Agrio (*Citrus aurantium* (L) con una distancia de plantación de 8x 4 metros sobre suelo ferralítico rojo compactado de pH ligeramente ácido de 6,5. Los ensayos de laboratorio se ejecutaron en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Los procesos estadísticos y la elaboración del informe en el Grupo Científico del Centro Meteorológico Provincial de Ciego de Ávila, con el empleo del estadístico SPSS versión 11.5 (2002) y Microsoft Excel, sobre Windows 2000.

1. Germinación de los conidios. Influencia de humedad relativa y temperatura

Se emplearon conidios producidos en condiciones naturales de *Aschersonia* spp , para lo cual se tomaron conidiomas de hojas de naranjo siguiendo una doble diagonal y se trasladaron al laboratorio. Se seleccionaron una o dos de estas estructuras por especie, se desinfectaron y se depositaron portaobjetos estériles y se trituraron para su posterior incubación en cámara húmeda con diferentes porcentajes de HR a probar.

Humedad Relativa (Manual de Patólogos Vegetales del CMI (FAO, 1985)).

La germinación de los conidios se comprobó a 79 %, 90 %, 95 % y 100 % y 100 % + H₂O de HR, mediante la introducción de conidiomas triturados y depositados en 5 portaobjetos (réplicas) en placas de Petri de 20 cm, que contenían una solución sobresaturada de diferentes sales según el porcentaje de HR recomendadas en este Manual. Se incubaron a temperatura de 20 °C, durante 2 horas para su ambientación y posteriormente se sellaron con precinta sintética. Pasadas 24, 48, 72 y 96 horas, se realizaron conteos de 100 esporas al azar con ayuda de un microscopio óptico.

Temperatura (Manual de Patólogos Vegetales del CMI (FAO 1985)).

Las temperaturas a probar fueron: 18, 20, 22, 23, 24, 26, 28, 30 y 32 °C. Luego de aplicar el mismo procedimiento en la preparación de la muestra, se prepararon cámaras húmedas a un 100% y un 100 % + H₂O (condiciones de sobresaturación). Pasadas

las 24, 48, 72 y 96 horas, se realizó un conteo de 100 conidios al azar y se determinó el porcentaje de germinación.

En ambos casos, los datos del número de conidios germinados se transformaron en Ln y se sometieron a un análisis de varianza con su correspondiente prueba de Duncan (p<0.05).

2. Crecimiento y esporulación de aislamientos de *Aschersonia* spp. en diferentes medios de cultivo. Efecto de la temperatura

Se dispuso de dos aislados uno de *Aschersonia aleyrodidis* y otro de *Aschersonia* sp. de un primer pase de 20 días, obtenidos a partir de hojas de cítricos muestreadas mediante la metodología de Suris y Varona (1988), que consiste en dividir los campos en 5 bloques, donde cada uno integra un área de muestreo, con una disposición que corresponden a dos en cada extremo (lados norte y sur) y uno en el centro del campo. En cada bloque, se muestrearon 2 plantas aleatoriamente y de ellas se tomaron 3 hojas de acuerdo a su disposición en los puntos cardinales y centro de la planta a diferentes niveles de altura de la copa (1, 2 y 3 m), señalados como inferior, medio y superior, para un total de 45 hojas /planta, que implican 450 hojas /campo. En el aislamiento se empleó el método propuesto Hernández (2005), con los cuales se preparó una suspensión de esporas que se sembró mediante inoculación por dispersión en placas de Petri de 8 cm que contenían agar papa dextrosa, las cuales se sellaron con material sintético transparente y se incubaron durante 12 días en condiciones de 22± 2 °C con 6 primeras horas a oscuridad total y posteriores intervalos de luz/oscuridad de 8/16 horas, en un cuarto climatizado. Luego se procedió a la obtención de discos (10 mm de diámetro), estos se sembraron en placas de 8 cm que contenían: Agar papa dextrosa (PDA); Agar sabouraud dextrosa (SDA); Extracto de Malta y Agar Soya y Agar Czpek dox. Se dispuso de 5 réplicas que fueron incubadas a las temperaturas de 22, 24, 26, 28 °C bajo total oscuridad en una incubadora. Se evaluó el diámetro de las colonias durante el período de crecimiento, luego de 72 horas de sembrados y a una frecuencia de 5 días hasta alcanzar el total crecimiento de las colonias y determinar el nivel de esporulación.

Concentración de esporas

Se tomaron 5 ponchetes (10 mm de diámetro) réplica por medio de cultivo y temperatura, se prepararon las suspensiones y se contabilizaron los conidios en cámara de Neubauer de 16 cuadrículas y se determinó la concentración en esporas/mL, finalmente transferida a conidios/cm². El diseño consistió en un bifactorial y los datos se

procesaron mediante análisis de varianza con su correspondiente prueba de significación de Duncan ($p < 0.05$) (Lerch, 1977).

2.2. Crecimiento y esporulación de especies de *A. aleyrodís* en diferentes condiciones de iluminación y temperatura

Se seleccionó un aislamiento de *A. aleyrodís*. Las siembras y la incubación se realizaron de forma similar al anterior experimento en medio agar sabouraud dextrosa (SDA). La incubación se ajustó en un diseño bifactorial, un primer factor A: T1 (oscuridad inicial de 6 horas antes del ciclo alterno de luz/oscuridad de 8/16 horas y T2 (total oscuridad); un factor B: temperatura, dispuesto en 3 subtratamientos St 1 (testigo 24 °C); St 2 (26 °C) y St 3 (30 °C); cada tratamiento constó con 40 placas, 20 por cada subtratamientos, con una placa como réplica, para un total general de 120 unidades. Para esto se empleó una incubadora con luz amarilla de 40 watt. Pasados 42 días en estas condiciones, se midieron el crecimiento radial de las colonias y el nivel de esporulación, los cuales se procesaron estadísticamente igual al acápite anterior.

3. Dinámica poblacional de *Aschersonia* spp. en *coccoideos*.

Para determinar la dinámica poblacional del entomopatógeno se realizaron muestreos de hojas decenales a 10 plantas, mediante la metodología de Suris y Varona (1988). Las hojas colectadas se trasladaron en bolsas de polietileno al laboratorio, las cuales se analizaron en dependencia de las especies *Aschersonia*, así como sus hospedantes, en su determinación se emplearon los criterios de Sutton (1983) en el caso del entomopatógeno y para *coccoideos* los de Hamon y Williams (1984); Claps y Terán (2001). La fluctuación poblacional se comparó de forma gráfica con las variables climáticas (medias) de Temperatura, Humedad Relativa y Precipitación total que incidieron durante cada período analizado procedentes de la Red de Estaciones Meteorológicas de Ciego de Ávila.

En un primer ensayo, se realizó un muestreo de las especies de *coccoideos* presentes: *P. ziziphii*; *Selenaspidus articulatus*, *Lepidosaphes becckii*, *Lepidosaphes gloverii*; *Unaspis citri* durante 1998 y 1999 en cítrico donde se contabilizaron los hiperparasitados y el número de especímenes sanos y se calcularon los porcentajes en función de las especies de *Aschersonia*.

En un segundo, se analizó la dinámica del entomopatógeno sobre *P. ziziphii*; *L. beckii* y *L. gloverii*, durante febrero del 2003 a febrero del 2004, en el cual se determinó gráficamente la dinámica de las

poblaciones de *Aschersonia* spp. Los datos obtenidos, se procesaron estadísticamente, los porcentajes fueron transformados a $\arcsin \sqrt{x}$ y se sometieron a análisis de varianza con su correspondiente prueba Duncan ($p < 0,05$).

Las dinámicas se compararon con las condiciones climáticas procedentes de la Estación 347 «Camilo Cienfuegos».

4. Análisis del efecto climático sobre el desarrollo poblacional de *Aschersonia* spp. Condiciones favorables para la aparición y evolución de epizootias

Se desarrolló un proceso estadístico de factorial múltiple «Componentes Principales» para 5 componentes con el objetivo de determinar la correlación (matriz de coeficientes) y determinar la relación entre el nivel porcentual del parasitismo decenal del entomopatógeno sobre los *coccoideos*, las variables climáticas y la población viva de estos insectos no parasitada. Se utilizaron los valores promedios decenales de las variables climáticas excepto precipitación que se corresponde con el total acumulado. Se analizó de forma independiente cada población de *A. aleyrodís* y *Aschersonia* spp. y la selección de los componentes se ejecutó a través del gráfico de sedimentación, rechazando los que se encuentran posterior al punto de inflexión de la curva, además del criterio de autovalores iniciales mayores o iguales a 1 de acuerdo a Linares *et al.*, (1986) y el Manual de SPSS (2002).

Las variables incluidas en estos análisis fueron: % de Parasitismo, Población viva de *coccoideos*; Temperatura máxima, media y mínima; Humedad relativa máxima, media y mínima; Precipitación; Nubosidad y Temperatura punto de rocío. Las bases de datos del parasitismo de las especies de *Aschersonia* sobre *coccoideos*, población viva y climáticos, se corresponden con los datos del acápite 3.

Resultados y Discusión

1. Germinación de los conidios. Influencia de la humedad relativa y la temperatura

En la figura 1 se aprecia los índices de germinación de conidios de *A. aleyrodís*. Los mayores valores se observan en 100%. Mientras que en condición de 100% HR+agua (sobresaturación) se observó un número inferior de conidios germinados en las mismas horas de permanencia (Figura 2), no obstante, se demuestra que en estas condiciones también germinan. Los restantes porcentajes de HR, 79, 90 y 95 % no mostraron germinación alguna dentro de los tiempos observados. Los análisis estadísticos corroboran el

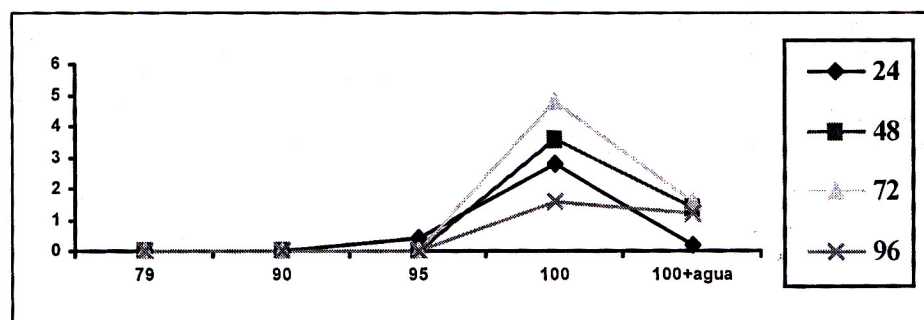
comportamiento de la germinación, los niveles más altos, se presentaron en el tratamiento de 100 % de HR con diferencias significativas de los restantes, aunque en el caso de 100 % + agua también difiere de los demás tratamientos.

No de conidios germinados

Un comportamiento similar se presenta con *Aschersonia* sp. en 100 % de HR, al igual que a 100 % + agua donde se presentó una germinación inferior para la misma secuencia de horas de exposición. Los

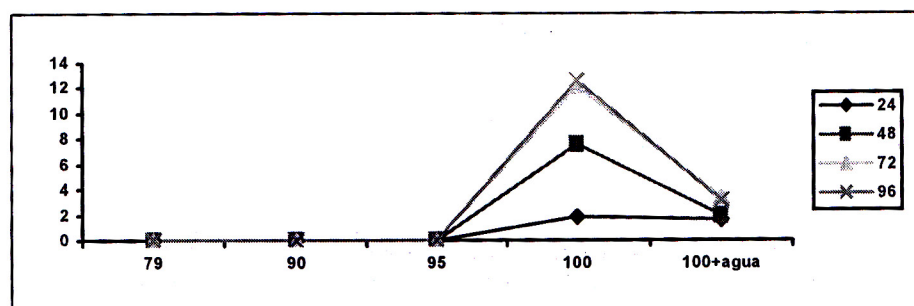
restantes porcentajes de HR a prueba, tampoco tuvieron respuesta alguna a la germinación (Figura 2). Esto demuestra que este hongo para desarrollar un óptimo proceso de germinación necesita de altos porcentajes (100 %) de HR y que la presencia permanente de agua, a pesar de constituir un elemento importante, no favorecen la germinación. Referente al papel de la HR existen %

criterios de Fransen 1987 a) y b); Yusof y Tang (1992) y Ponomarenko *et al.*, (1975) que coinciden con estos resultados.



Humedad relativa

Fig.1. Dinámica de germinación de conidios de *A. aleyrodis* ante diferentes condiciones de humedad relativa y tiempo de exposición. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.



Humedad relativa

Fig.2. Dinámica de germinación de conidios de *Aschersonia* sp. ante diferentes condiciones de humedad relativa y tiempo de exposición. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

El comportamiento de las especies según el tiempo de exposición, mostró una desigualdad entre ellas, aunque en ambos casos a medida que los conidios se someten a un mayor tiempo en condiciones de HR favorables (100 %), los índices aumentan. En particular como mínimo debe transcurrir un período de exposición de 24 horas para iniciar este proceso y que de continuar hasta las 96 horas, se incrementará en el caso de la población de *A. aleyrodís* (Figura 1). Mientras que la población de *Aschersonia* sp. necesita sobrepasar las 48 horas, lo que indica una exigencia superior del nivel de HR.

Estadísticamente, *A. aleyrodís* demuestra que los periodos de exposición de 96 horas son más favorables que los de 24 horas. Estas esporas admiten un menor tiempo de exposición para su germinación, posterior a las 24 horas comienzan a germinar y mantienen un mismo nivel hasta llegar a 96 horas donde aumenta este proceso (Tabla 1). Los conidios de *Aschersonia* sp. requieren un mayor tiempo de exposición, que entre 24 y 48 horas existe un mismo nivel de germinación

que aumentará posterior a las 48 horas y que requieren de 72 horas para que la germinación aumente nuevamente, hasta llegar a 96 horas donde el número de conidios germinados es significativamente mayor que a 24, lo que indica mayor sensibilidad a los cambios de HR (Tabla 2).

Respecto a la temperatura, *A. aleyrodís*, se caracterizó por presentar una dinámica que incrementó el número de conidios germinados a partir de 20 °C, aumentan progresivamente hasta 23 °C donde se alcanza un óptimo, descendiendo ligeramente en 24 °C y cae abruptamente a los 26 °C para continuar estable en las restantes temperaturas 28 y 30°C. Mientras que a 32 °C y a 18 °C, se inhibe este proceso (Figura 3). Semejante, se muestra el comportamiento *Aschersonia* sp. pues a los 18 y 32 °C no hay germinación, mientras que a 24 °C alcanza un buen índice de germinación que se diferencia discretamente de los alcanzados a 23°C (óptimo), a 26 °C descendiendo pero continúa en niveles semejantes a 28 y 30 °C (Figura 4).

Tabla 1. Comportamiento de la germinación de conidios de *A. aleyrodís* a diferentes tiempos de exposición.

Agrupamientos según nivel de significación de los subtratamientos (tiempo de exposición, horas). Valores medios de conidios germinados		
1	2	
24 (0.68) b	48 (1.00)	ab
48 (1.00) ab	72 (1.28)	ab
72 (1.28) ab	96 (2.20)	a
ES: 0.139 CV: 4.6 %	Letras desiguales indican diferente nivel de significación	

Tabla 2. Comportamiento de la germinación de los conidios de *Aschersonia* sp. a diferentes tiempos de exposición.

Agrupamientos según nivel de significación de los subtratamientos (tiempo de exposición, horas). Valores medios de conidios germinados	
1	2
24 (0.68) b	48 (1.92) ab
48 (1.92) ab	72 (3.12) a
	96 (3.16) a
ES:0.226 y CV: 8.5 %	Letras desiguales indican diferencias significativas

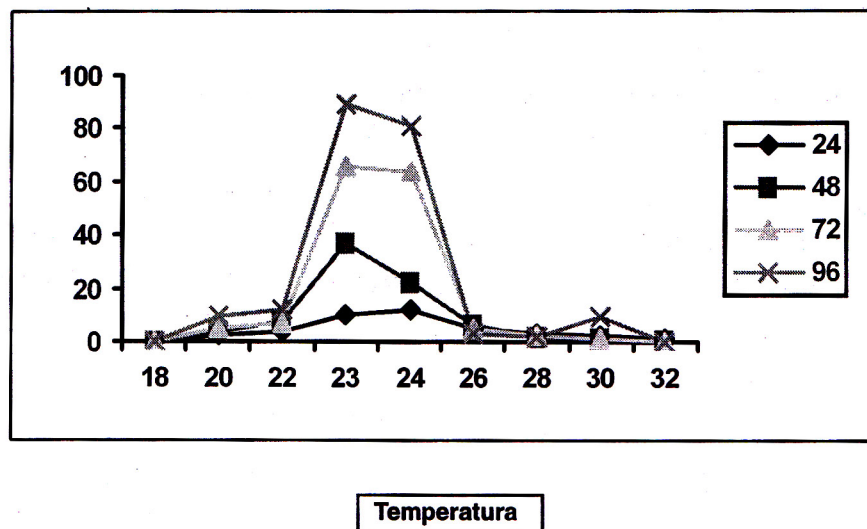


Fig.3. Dinámica de la germinación de conidios de *A. aleyrodis* a diferentes temperaturas, tiempo de exposición y humedad relativa de un 100 %.LAPROSAV Ciego de Ávila,Año 2004.

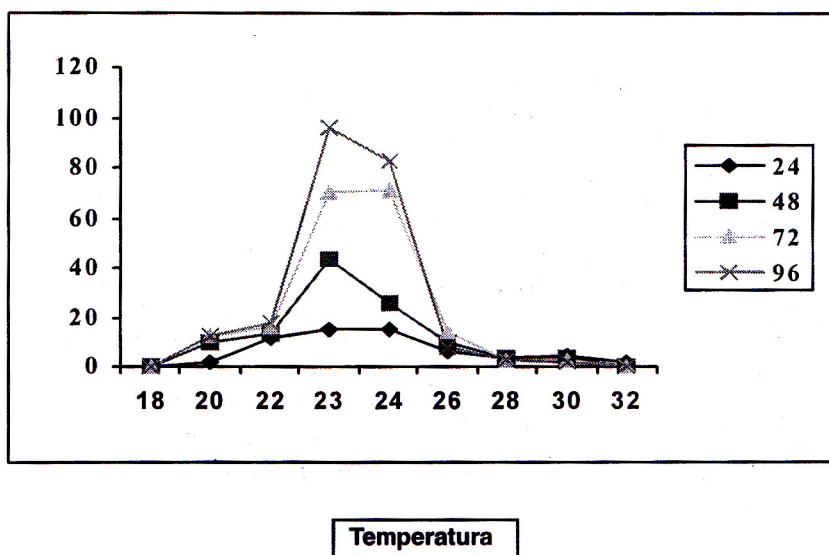


Fig.4. Dinámica de la germinación de conidios de *Aschersonia* sp. a diferentes temperaturas, tiempo de exposición y humedad relativa de un 100 %. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

Las estadísticas de las poblaciones de *A. aleyrodis* y *Aschersonia* sp. (Tabla 3 y 4), demuestran que no existen diferencias en el comportamiento general, ambas poblaciones se comportaron similarmente en las condiciones a que fueron sometidas, para resumir que el parámetro temperatura óptima para la germinación de los conidios de estas especies es de

23 y 24 °C de temperatura con un límite para la inhibición a los 18 y 32 °C a una humedad relativa de un 100 %, aspecto que se corrobora con los niveles de significación entre los tratamientos. Referente a los rangos de esta variable, Evans (1994) plantea las esporas germinan en condiciones naturales entre 25 y 31°C.

Tabla 3. Comportamiento de la germinación de los conidios de *A. aleyrodis* a diferentes temperatura y 100 % de HR. Prueba Duncan $P<0,05$.

Agrupamientos de los tratamientos (temperatura °C) según nivel de significación. Valores medios de conidios germinados				
1	2	3	4	5
18 (0.00) e	30 (1.1) d	20 (5.25) c	22 (7.725) b	23 (50.625) a
32 (0.00) e	28 (2.45) d	26 (4.95) c		24 (44.75) a
ES: 0.206 CV: 8.5 %		Letras desiguales indican niveles diferentes en la significación		

Tabla 4. Comportamiento de la germinación de los conidios de *Aschersonia* sp. a diferentes temperaturas y 100 % HR. Prueba Duncan $p<0.05$.

Agrupamientos según nivel de significación de los tratamientos (temperatura °C). Valores medios de conidios germinados				
1	2	3	4	5
18 (0.00) e	30 (3.0) d	20 (9.05) c	22 (14, 775) b	24 (48.8) a
32 (0.00) e	28 (3.25) d	26 (9.3) c		23 (56,55) a
ES: 0.255 y CV: 7.5 %		Letras desiguales indican diferencias significativas		

No obstante, el comportamiento de la germinación descrito en condiciones de humedad relativa de un 100 %, puede variar si cambia el porcentaje de HR a condiciones sobresaturadas (100%+agua), esto aporta elementos que permiten considerar el efecto predominante de la temperatura y corroborar que el 100 % de HR es un parámetro decisivo en el proceso de germinación, mucho más favorable que las condiciones de sobresaturación.

En condiciones de 100 %+ agua se observa un comportamiento similar pero con índices más bajos en la germinación que a HR de 100 %. Este análisis, señala que existe una marcada diferencia en la sensibilidad de la población *Aschersonia* sp. a cambios en la relación temperatura – humedad relativa en este proceso, lo que permite considerar a la población naranja con una mayor estabilidad, comportamiento que le confiere una mayor plasticidad ecológica, para desarrollar los procesos fisiológicos relacionados con la germinación de los conidios.

Además, se pudo apreciar en estos ensayos que el efecto de la temperatura es fundamental, este factor dirige el proceso de la germinación al cual la humedad relativa esta subordinada pero ligada de forma insoluble e integrando un sistema lo que admite plantear que las especies de *Aschersonia* analizadas, requieren de determinadas condiciones de humedad y temperatura, periodos frescos entre 23 y 24°C, con alta humedad relativa (100 %) para iniciar el desarrollo del proceso infeccioso y propiciar la aparición de

epizootias, independientemente del carácter densodependiente que tienen los entomopatógenos u otro factor que pueda intervenir.

Referente a estos aspectos, Fransén (1987 b)) señala que más de un 90 % de los conidios germinan en agar-agar a un rango de temperatura entre 15 y 28 °C una vez pasadas las 48 horas de exposición, a lo que agrega que si el tiempo de permanencia de los conidios se extiende por encima de 168 horas en condiciones de humedad relativa de 100%, la germinación es más rápida.

Estos resultados, presentados por primera vez en Cuba, confieren gran novedad científica al trabajo y permiten explicar y definir las condiciones más favorables para la iniciación y el desarrollo de epizootias.

2. Crecimiento y esporulación de aislamientos de *Aschersonia* spp. en diferentes medios de cultivo. Efecto de la temperatura

El hongo logra desarrollar el crecimiento en la mayoría de los medios de cultivo a prueba a excepción de agar czapex en el cual no creció. En cuanto al tamaño de las colonias de *A. aleyrodis*, se aprecian diferencias en cada uno de los medios, en agar soya (AS) alcanzó el mayor diámetro, seguido de agar sabouraud dextrosa (SDA) y agar papa dextrosa (PDA),

mientras que agar extracto de malta (AM) presentó el menor tamaño. Los análisis estadísticos del diámetro de las colonias muestran que el crecimiento en agar soya presenta diferencias significativas, respecto al tamaño en agar extracto de malta pero no con los restantes medios de cultivo. Aunque en este mismo medio el diámetro de las colonias, no difieren significativamente del presentado en agar papa

dextrosa, ni con agar sabouraud dextrosa (Figura 5), lo que indica que cualquiera de estos medios resulta adecuado para propiciar el crecimiento vegetativo de este hongo. Al respecto, se plantea que en agar sabouraud dextrosa y agar avena dextrosa el crecimiento de esta especie es óptimo (Vargas *et al.*, 1997), así como su reproducción es favorablemente en agar papa sacarosa (PSA) según Berger en 1920 citado por Berlanga y Hernández, 2002.

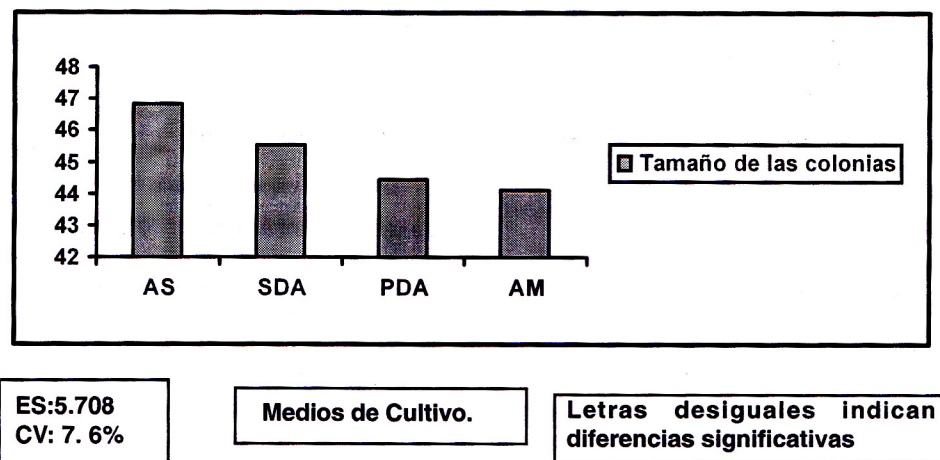


Fig.5. Comportamiento del crecimiento de las colonias de *A. aleyrodís* en diferentes medios de cultivo. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

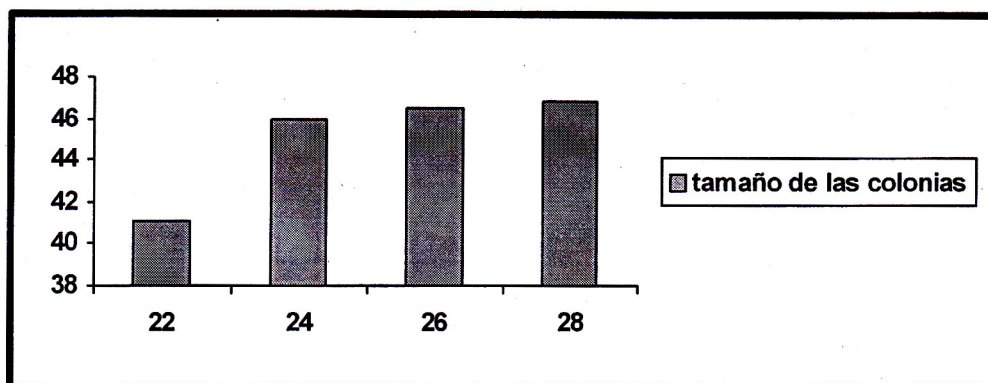
El crecimiento a diferentes condiciones de temperatura señala que este factor tiene un acentuado efecto sobre el desarrollo micelial, indican que a medida que se incrementa entre 22 y 28 °C el tamaño aumenta. Esto permite definir que este hongo se desarrolla más vegetativamente a 24, 26 y 28 °C, con una disminución en su crecimiento a 22 °C (Figura 6).

Referente a los efectos de la temperatura, se señala por Vargas *et al.*, (1997) que a 28 y 30 °C el crecimiento de *A. aleyrodís* se incrementa.

Los valores de la esporulación comienzan a partir de los 9 y 12 días de sembrado para esta especie, aunque sus niveles varían según los medios de cultivo en relación con la temperatura de incubación. Esta, se caracterizó por presentar en agar soya los niveles más bajos, mientras que agar sabouraud dextrosa alcanzó la concentración más alta, así como agar papa dextrosa y agar extracto de malta mostraron buena esporulación (10^9) (Tabla 5). La temperatura muestra un marcado efecto sobre la esporulación, este parámetro aumenta de 22 °C a 24 °C, los niveles más altos ocurren a 24 °C, con diferencias significativas ante el resto de las temperaturas, mientras que a 22 y 26 °C alcanzan valores semejantes, la concentración menor se encontró a temperatura de

28 °C, lo que indica que los aumentos de temperatura por encima de 26 °C no favorecen la actividad reproductiva de este microorganismo (Tabla 6). Estos resultados señalan que la combinación de agar sabouraud dextrosa a 24 °C, resulta muy ventajoso para la reproducción de *A. aleyrodís*. No obstante, la estabilidad que muestra esta población en los otros medios de cultivo y temperaturas indican que tiene una alta capacidad de adaptación ante los cambios que puedan sufrir estos factores.

Aschersonia sp. muestra un amplio contraste con *A. aleyrodís*. *Aschersonia* sp. se caracterizó por un crecimiento menor y más lento en forma de agregado, con una gran diferencia en el tiempo para el comienzo de la esporulación, la cual ocurre 30 días posteriores a la siembra. Este parámetro fue abundante a 22 °C y a 24 °C en agar soya; mientras en agar papa dextrosa solo se iniciaba de forma escasa; los restantes como agar sabouraud dextrosa y extracto de malta el hongo no esporuló, al igual que a 28 °C en todos los medios de cultivo. El crecimiento de las colonias siguiendo un orden mayor a menor se observó en agar papa dextrosa, agar soya y agar sabouraud dextrosa que contrasta fuertemente con agar extracto de malta el cual resulto incapaz de satisfacer sus necesidades fisiológicas (Figura 7).



ES: 5.708
CV: 7.6 %

Temperatura

Letras desiguales indican diferencias significativas.

Fig.6. Comportamiento del crecimiento de las colonias de *A. aleyrodis* a diferente temperatura. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

Tabla 5. Comportamiento de la esporulación de *A. aleyrodis* en diferentes medios de cultivo. Prueba Duncan $p < 0.05$

Concentración de esporas según medios de cultivo Valores medios por tratamientos		
Medios de cultivo	Concentración conidios/cm ²	Significación
Agar soya	9.11X 10 ⁸	c
Agar sabouraud dextrosa	2.96 X 10 ¹⁰	a
Agar papa dextrosa	3.05 X 10 ⁹	b
Agar extracto de malta	1.51 X 10 ⁹	b
ES: 4.60 y CV: 12.5 %		Letras desiguales indican diferente significación

Tabla 6. Comportamiento de la esporulación de *A. aleyrodis* a diferente temperatura. Prueba Duncan $P < 0.05$.

Concentración de esporas a diferentes temperatura. Valores medios por subtratamientos		
Temperaturas ° C	Concentración conidios/cm ²	significación
22	4.8 X 10 ⁹	b
24	2.33 X 10 ¹⁰	a
26	7.0 X 10 ⁹	b
28	4.52 X 10 ⁶	C
ES:4.60 y CV: 12.5 %		Letras desiguales indican diferencias significativas

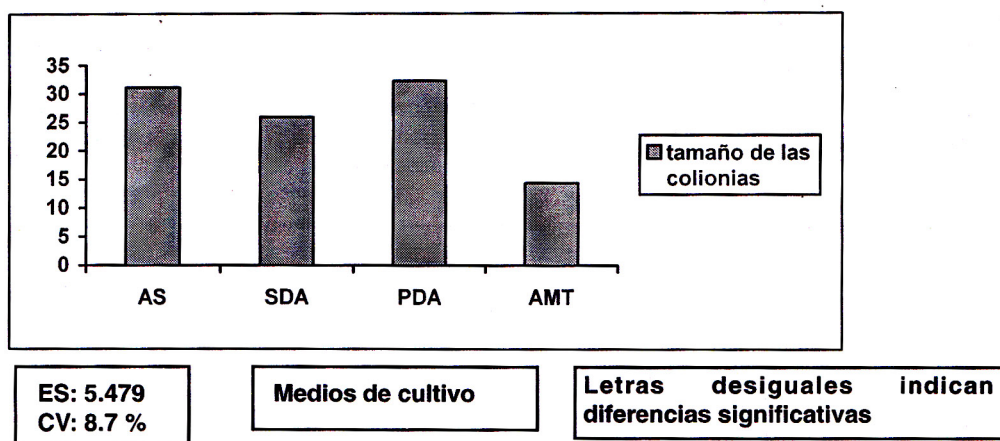


Fig. 7. Comportamiento del crecimiento de las colonias de *Aschersonia sp.* en diferentes medios de cultivo. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

La temperatura mostró un efecto acentuado sobre el crecimiento de las colonias de esta especie, los índices más favorables de esta variable fueron a 24 y 26 °C, mientras que los menos favorables fueron a 22 °C y 28 °C (Figura 8). Existe una similitud para ambas poblaciones a 24°C que indican que este es el nivel más favorable, no obstante, a diferencias respecto a 26 y 28°C, donde *A. aleyrodinis* aumenta su crecimiento mientras que en *Aschersonia sp.* es menor.

La esporulación de *Aschersonia sp.* en los diferentes medios de cultivo, se caracterizó por una mayor producción de conidios en agar soja y agar papa dextrosa, mientras que en agar sabouraud dextrosa fue muy bajo (10^5), con fuerte contraste ante agar extracto de malta donde no se encontró producción de conidios (Tabla 7). En cuanto a temperatura los mejores índices de concentración de conidios se determinaron a 22 °C y 24 °C, con un fuerte descenso a 26 y 28 °C (Tabla 8).

Tabla 7. Comportamiento de la esporulación de *Aschersonia sp.* en diferentes medios de cultivo. Prueba Duncan $p < 0.05$.

Concentración de conidios en diferentes medios de cultivo. Valores medios por tratamientos		
Medios de cultivo	Concentración (conidios/ cm ²)	Significación
Agar soja	6.07×10^7	a
Agar sabouraud dextrosa	2.58×10^5	c
Agar papa dextrosa	1.19×10^7	b
Agar extracto de malta	-----	-----
ES: 2.54 y CV: 14.2 %		Letras diferentes indican diferente nivel de significación

Tabla 8. Comportamiento de la esporulación a diferente temperatura. Prueba Duncan $p < 0.05$.

Concentración de conidios a diferentes temperatura. Valores medios por subtratamientos.		
Temperatura ° C	Concentración Conidios/cm ²	Significación
22	1.88×10^7	a
24	4.14×10^7	a
26	3.56×10^6	b
28	1.98×10^6	b
ES: 2.54 y CV: 14.2 %		Letras desiguales indican diferencias significativas

Referente al efecto de las temperaturas sobre la esporulación, se plantea por Garza (1977) que producciones masivas a 28 °C en un medio compuesto por arroz, solución de extracto de malta y tetraciclín durante 42 días alcanzan niveles de 1.3×10^4 esporas /mL

Las diferencias encontradas entre las dos especies indican que *A. aleyrodis* tiene una capacidad superior para esporular que *Aschersonia* sp. similares condiciones, todos estos resultados permiten llegar a conclusiones de que la primera tiene superioridad en lo que respecta capacidad adaptativa y plasticidad.

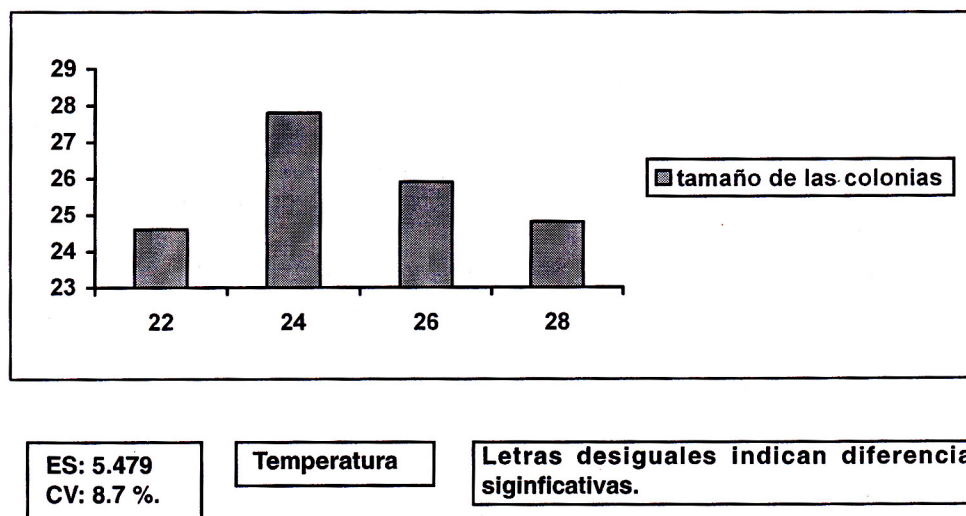


Fig.8. Comportamiento del crecimiento de las colonias de *Aschersonia* sp. a diferente temperatura. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

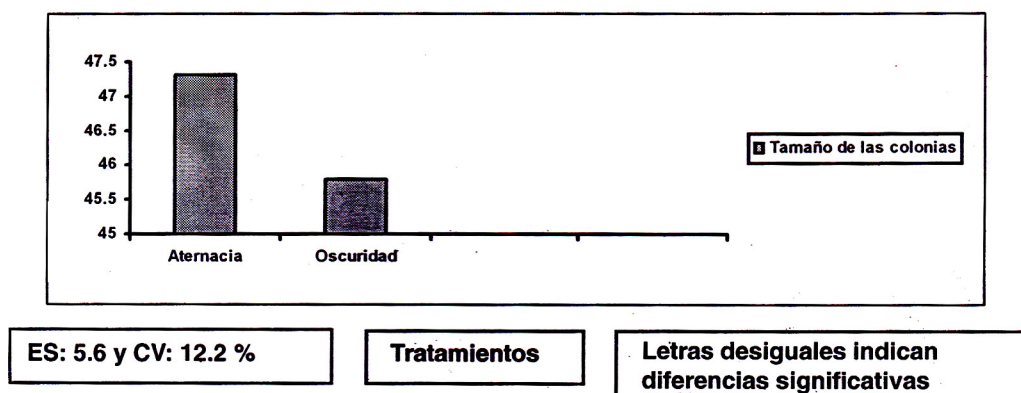


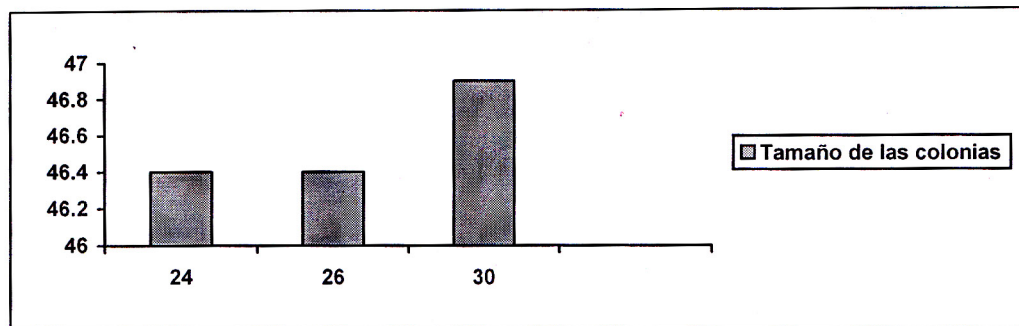
Fig.9. Efecto de condiciones de diferentes condiciones de iluminación en el crecimiento de *A. aleyrodis*. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

2.2.Crecimiento y esporulación de especies de *A. aleyrodis* en diferentes condiciones de iluminación y temperatura

Se observó que un período de 6 horas de oscuridad seguido de periodos alternos de luz oscuridad de 8/16 ejercen un efecto favorable para

el crecimiento de *A. aleyrodis* en medio agar sabouraud dextrosa, si se compara con el tratamiento sometido a total oscuridad (Figura 9).

En relación con la temperatura, el tamaño de las colonias fue similar a 24 y 26°C al que muestra el anterior experimento para esta especie en este medio de cultivo; con un aumento a 30°C, al igual que a 28°C (Figura 10).



ES: 5.6 y CV: 12.2 %

Temperatura

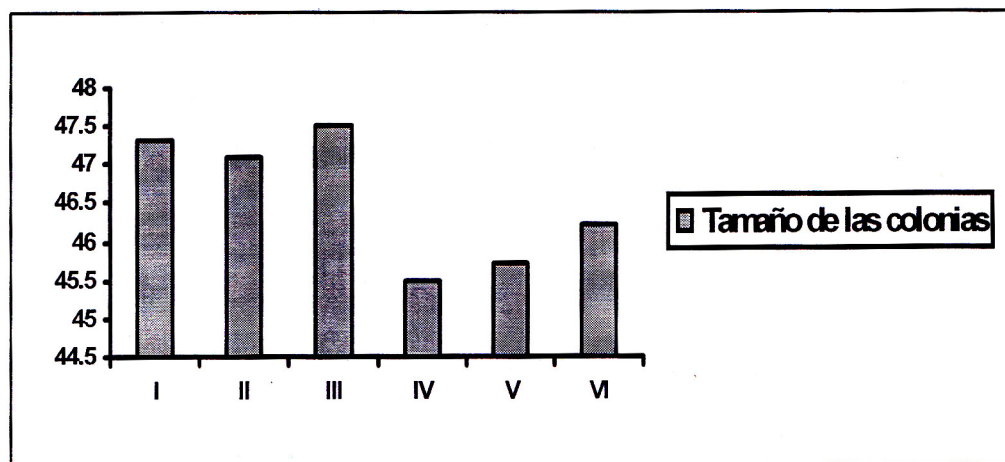
Letras desiguales indican diferencias significativas

Fig.10. Comportamiento del crecimiento de *A. aleyrodis* a diferentes temperaturas, LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

La exposición a períodos de oscuridad inicial seguidos de alternancia de luz/oscuridad y oscuridad total, combinados con la temperatura. La variante III presenta el mayor crecimiento, seguido por la variante I y la variante II, mientras que los valores correspondientes a las variantes IV, V y VI fueron todos inferiores, aunque en el caso de la VI alcanzó un valor ligeramente más alto (Figura 11).

La esporulación, se comportó inverso al crecimiento, las mejor concentraciones de conidios se encontraron en la variante I, seguidos por la variante II y IV, al igual que la variante V, mientras que las

variantes III y VI con un nivel de 10^3 esporas/cm² mostraron los índices más bajos (Tabla 9). Estos resultados muestran que la temperatura es decisiva en el proceso de la esporulación, a medida que aumenta ejerce un efecto negativo, más acentuado que la alternancia de luz/oscuridad. No obstante, se plantea que la luz es un elemento indispensable para el crecimiento de los hongos (Zhang *et al.*, 1984), así como largas exposiciones entre 12 y 24 horas de luz sin alternar con la oscuridad pueden ocasionar una disminución significativa en la esporulación (Kang *et al.*, 1972).



ES: 5.6 y CV: 12.2 %

Variantes

Letras desiguales indican diferencias significativas

Fig.11. Efecto de diferentes condiciones de temperatura e iluminación sobre *A. aleyrodis*. LAPROSAV Ciego de Ávila, Año 2004.

Tabla 9. Comportamiento de la concentración de esporas de *A. aleyrodis* a diferentes temperaturas y régimen de iluminación. Prueba Duncan $p<0.05$

Concentración de conidios. Valores medios por variantes		
Variantes	Concentración (conidios/cm ²)	Significación
I (6- 8/16 a 24 °C)	4.6 X 10 ¹¹	a
II (6- 8/16 a 26 °C)	3.5 X 10 ¹⁰	b
III (6-8/16 a 30 °C)	4.3 X 10 ³	d
IV (oscuridad a 24 °C)	2.6 X 10 ¹⁰	b
V (oscuridad a 26 °C)	6.5 X 10 ⁸	c
VI (oscuridad a 30 °C)	2.2 X 10 ³	e
ES: 5,6 y CV: 14.4		Letras desiguales indican diferencias significativas

Dinámica poblacional de *Aschersonia* spp. en *coccoideos*.

En el primer ensayo, *A. aleyrodis* y *Aschersonia* sp., muestran un comportamiento general con tres momentos de diferente desarrollo poblacional, uno con porcentajes de parasitismo muy bajos que ocurre durante los meses de mayo, junio, julio y agosto inferiores a un 6 %, otro de moderado desarrollo en marzo, abril y septiembre con porcentajes entre el 4 y el 14 % y un tercero de octubre a febrero donde ocurren epizootias con los mayores porcentajes de parasitismo que van desde un 8 % hasta un 52 % (Figura 12).

Se puede observar en el fenoclimatograma la estrecha relación de *Aschersonia* spp. con el comportamiento climático, los meses de octubre a febrero de mayores porcentajes, son frescos con temperaturas moderadas que oscilan en octubre desde

24.2 a 27.1 °C, las cuales descienden a un rango entre 17,6 y 21.4 °C en febrero, con un valor medio durante este período para esta variable (temperatura media) de 22.8 °C. Acompañada de una humedad relativa que oscila entre 82 y 90 % en octubre, mientras que en febrero se registran índices entre el 69 y 79 %, con una media decenal para todo el período de 82 %. La precipitación se caracterizó por ser escasa en los meses de diciembre, enero y febrero, con ligeras incidencias en octubre y noviembre.

La dinámica de las especies de *Aschersonia* sobre *P. ziziphii*, *L. beckii* y *L. Gloverii* en el segundo experimento (Figura 13), presentó un incremento durante los meses de enero y febrero seguido de un descenso moderado en marzo y abril que continúa disminuyendo de forma progresiva hasta el mes de agosto. Comienza a ascender nuevamente en septiembre aceleradamente hasta diciembre.

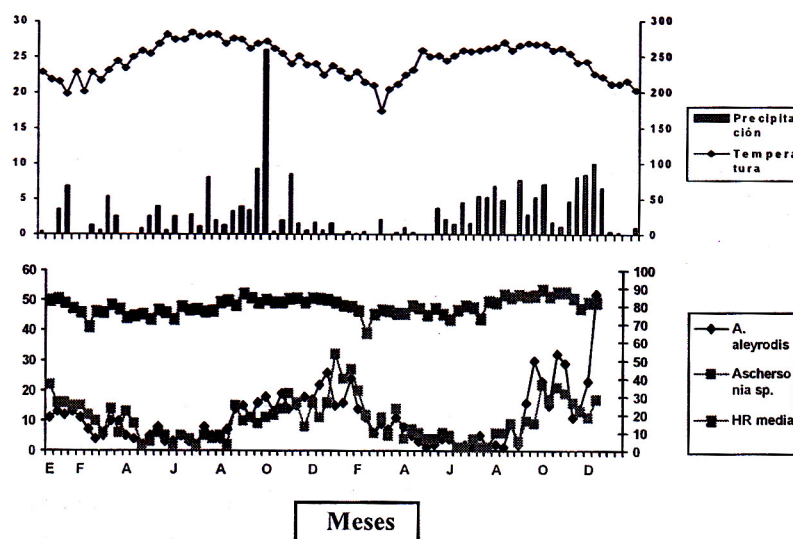


Fig.12. Dinámica poblacional del parasitismo de *Aschersonia* spp. en *coccoideos* en naranjo valencia. Empresa Cítrico Ceballos, Años 1998 - 1999

El análisis estadístico de los porcentajes de parasitismo de las poblaciones de *Aschersonia* spp. sobre sus hospedantes señalan que los mayores índices ocurren *A. aleyrodis* (A. a) -*P. ziziphii*; *Aschersonia* sp. (A.sp.) -*P. ziziphii*; (A. sp) -*L. beckii* y (A.sp.) -*L. gloverii*,

sin diferencias significativas entre ellos y sí ante los mostrados por A.a. sobre *L. beckii* y *L. gloverii*, lo que indica que estos hospederos muestran menor y semejante susceptibilidad ante *A. aleyrodis*, pues sus porcentajes no difieren significativamente (Figura 13).

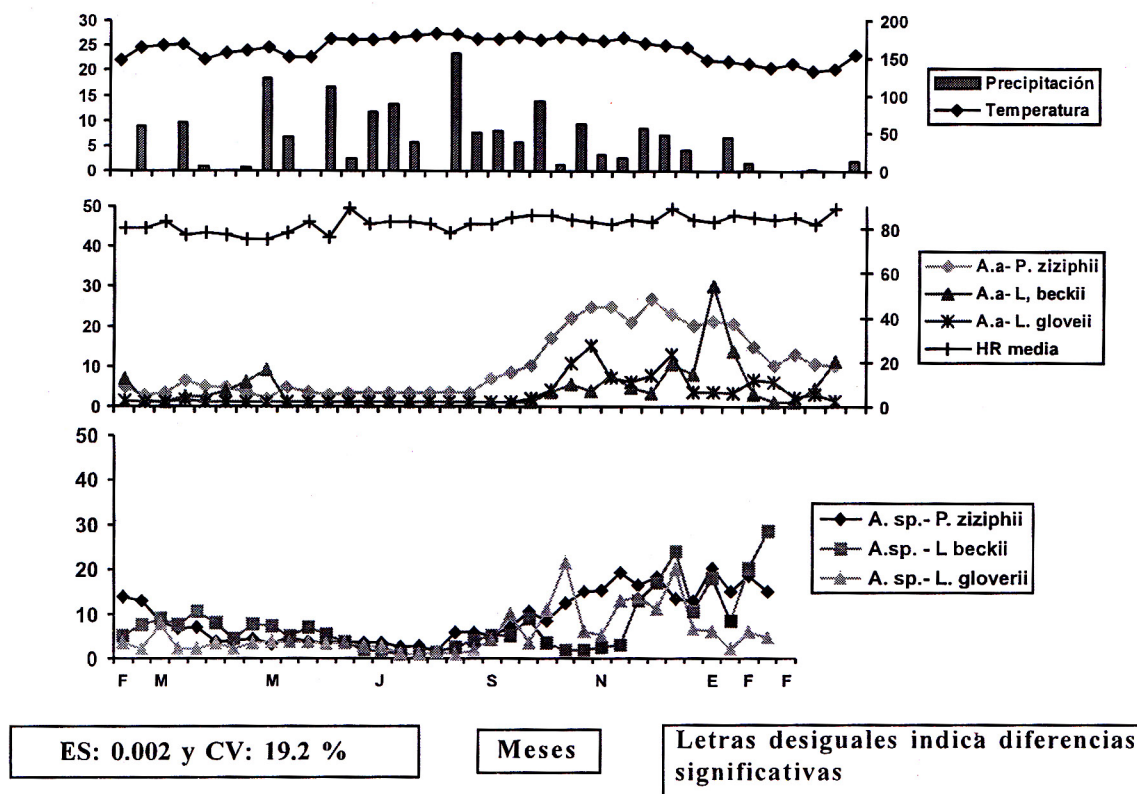


Fig.13. Dinámica poblacional de *A. aleyrodis* y *Aschersonia* sp. sobre *P. ziziphii*, *L. beckii* y *L. gloverii*. Empresa Cítricos Ceballos, feb 2003- feb 2004.

Las condiciones climáticas durante el período de mayor desarrollo de la epizootia son: temperatura media del aire de 23.2 °C, humedad relativa de 85 % (valores medios en ambas variables) y precipitación acumulada de 225.9 mm. Mientras que en el de menor desarrollo (meses de mayo a agosto), estas mismas variables se comportaron con un valor medio de 26 °C, 82 % y 659 mm de lluvia. Este comportamiento corrobora el resultado anterior, aunque puede señalarse además, el efecto negativo de la precipitación, se observa que cuando aumenta esta variable, la población disminuye aspecto que coincide con planteamientos de El Choubassi, (2001).

La distribución de las poblaciones de *A. aleyrodis* y *Aschersonia* sp. en relación con los hospederos *P. ziziphii*, *L. beckii* y *L. gloverii*, se observó un ligero aumento los porcentajes de *Aschersonia* sp. respecto *A. aleyrodis* en algunos hospedantes

4. Análisis del efecto climático sobre el desarrollo poblacional de *Aschersonia* spp. Condiciones favorables para la aparición y evolución de epizootias

La conformación de cinco componentes ilustra la medida de la relación de las variables con el proceso epizootológico, y discriminar las menos relacionadas. Las tres primeras componentes tienen un aporte en la extracción de un 67.9 y 69.4 % (Tabla 10). La cuarta y quinta están muy próximas a 1 y alcanzan un mayor porcentaje en la variabilidad general pero permiten ampliar el conocimiento de la epizootología. A continuación se describen según orden de importancia:

La primera componente «Temperatura» con 0.975, 0.951 y 0.848 para T_{\max} , T_{med} y T_{\min} respectivamente para *A. aleyrodis* y para *Aschersonia* sp. 0.977, 0.949 y 0.835 para las mismas variables, con sentido inverso (+) ante el parasitismo con -0.425 y -0.668, es la de mayor peso para el desarrollo de estas especies. Estos factores extraen 33.87 y 35.25 % del total de la variabilidad en cada análisis. Esto permite considerar que la T_{\max} y T_{med} , son decisivas, y que su aumento hace disminuir el parasitismo, por tanto valores medios superiores a 30.7 °C (T_{\max}) y 24.6 °C (T_{med})

son desfavorables para el desarrollo del entomopatógeno, resultado que coincide con el comportamiento biológico de estas poblaciones pues la germinación de los conidios desciende por encima de 24°C, al igual que la esporulación decrece significativamente a 28 °C (Figuras 3 y 4; Tabla 6 y 8). Además de concordar las dinámicas de los porcentajes de parasitismo y la temperatura media del aire (Figuras 13, y 14).

La segunda componente «Humedad relativa» con 0.811; 0.837 y 0.862 para HR máxima, media y mínima en *A. aleyrodís* y para *Aschersonia* sp. con 0.852, 0.843 y 0.844, con el mismo signo (+) del el parasitismo (0.568 y 0.373) y un aporte en la extracción de 22.9 % y 22.9 %, muestran que a medida que aumenta el porcentaje de esta variable la actividad del entomopatógeno progresa, índices por encima de 94 %, 81% y 55 % de H. Relativa (máxima, media y mínima) respectivamente, favorecen el aumento del parasitismo sobre *coccoideos*. Por tanto, este elemento es fundamental en la germinación de los conidios, y de conjunto con la temperatura conforman un sistema que dirige el proceso epizootiológico de estas especies, coinciden con niveles altos (100 %) (Figuras 4 y 5). Además en las dinámicas, se observa que los niveles de parasitismo aumentan siempre que esté por encima de un 80 % (Figuras 13, y 14). Cabe señalar que el sistema integrado por estas dos primeras componentes, activa las funciones fisiológicas en este hongo y de no cumplirse los parámetros anteriores no ocurren incrementos poblacionales de este entomopatógeno.

La tercera componente «nubosidad – precipitación», donde nubosidad tienen un valor de 0.821 y 0.827 para *A. aleyrodís* y *Aschersonia* sp respectivamente, informan que estas variables tienen una débil relación con el parasitismo (-0.02) de ambas especies. Es importante señalar que esta componente no ejerce un efecto acentuado, solo aportan un 11.074 y un 11.173 %. Su interpretación indica que una nubosidad en 4vo por un período prolongado y una precipitación acumulada con valor medio superior de 32 mm producen detrimentos en la población. Este comportamiento se explica por la estrecha relación entre la temperatura y la nubosidad, a medida que aumente la nubosidad, la temperatura asciende, producto de bloquear el reflejo de la luz y proporcionar una acumulación de calor por efecto de la radiación solar. No existen referencias sobre la relación del hongo y la nubosidad, pero el efecto indirecto de la temperatura es desfavorable. La precipitación juega un papel negativo en el proceso infeccioso, una exposición a un período lluvioso, ocasiona el lavado de los lóculos y arrastre de los conidios al suelo, lo que interfiere en dicho proceso con un retardo en la aparición de epizootias, resultado que coincide con criterios de El Choubassi (2001).

La cuarta componente «población», integrada por la población viva de *coccoideos*, muestra un 0.944 para *A. aleyrodís* y 0.936 para *Aschersonia* sp y en sentido inverso con el parasitismo (-0.485 y -0.512). Esta relación no concuerda con el carácter densodependiente de los hongos entomopatógenos. Sin embargo, si se tiene en cuenta la no coincidencia de los incrementos de la población del hongo con los momentos picos de las plagas a causa del efecto de la temperatura y la humedad relativa que hace que ocurran afectaciones de importancia por *coccoideos* y *aleyrodidos* en el cultivo, por no existir población suficiente del microorganismo para crear epizootia por la alta temperatura y baja humedad, situación que ocurre en los meses de mayo a agosto, no así en los meses de septiembre a marzo donde el biorregulador es capaz de producir fuertes, lo que confirma la utilidad de los parámetros climáticos que favorecen el entomopatógeno para decidir las medidas fitosanitarias para controlar las plagas. No obstante, a pesar de que el parámetro de población viva no mostró el carácter densodependiente de estos microorganismos, si permitió interpretar el papel de las poblaciones de los hospedantes dentro del sistema patógeno, hospederos y ambiente. La componente aportó una extracción de 8.83 % (*A. aleyrodís*) y 8.91 % (*Aschersonia* sp.) .

La quinta componente « Punto de rocío» (temperatura de punto de rocío) con un valor 0.963 (*A. aleyrodís*) y 0.981 (*Aschersonia* sp.), actúa en un mismo sentido que el porcentaje de parasitismo con un 0.137 y 0.01, lo que indica que su aumento favorece el desarrollo de epizootias (aunque más débil si se compara con las restantes componentes). Temperatura capaz de formar rocío favorecen el desarrollo del proceso infeccioso, ya que el agua proporciona la dispersión de los conidios y el contacto de estos con sus hospedantes. El nivel de extracción fue de un 8.1 y un 8.7%.

La varianza total de este proceso estadístico muestra los mayores valores de extracción acumulada en las tres primeras componentes, las dos primeras con un 56.8 y 58.2 % del total, que demuestran que el proceso epizootiológico tiene estrecha relación con la temperatura y la humedad relativa, factores determinantes que dirigen el comportamiento poblacional de este biorregulador, las restantes variables son secundarias pero su presencia implica un incremento del porcentaje de la varianza hasta un 85 y 86 %.

Este resultado permite determinar por primera vez en nuestras condiciones y a escala internacional, la participación del clima en el comportamiento epizootiológico de las especies *Aschersonia* presentes, el cual se caracteriza por un estado del tiempo con temperaturas frescas a moderadas (23 a 24°C), altos porcentajes de humedad relativa acompañadas de

poca nubosidad y precipitaciones, con horas en temperaturas propicias para la formación del rocío, situación que predomina en nuestro país a partir del mes de octubre hasta febrero, momento en el cual se presentan los incrementos poblacionales de este entomopatógeno y permiten regular los aleyrodidos y coccídeos de forma natural sin necesidad de aplicar otras medidas fitosanitarias.

En este trabajo dan a conocer aspectos desconocidos en Cuba y en el ámbito internacional, con los cuales se caracteriza la biología y epizootiología de los hongos del género *Aschersonia* que se encuentran en nuestras condiciones, además de definir su explotación como biorregulador en su agroecosistema. Todos estos aspectos dan la posibilidad de contar con un elemento más para el desarrollo en nuestro país del Manejo Agroecológico de Plagas y apoyar el incremento en la producción agrícola y contribuir a un desarrollo agrícola sostenible.

Conclusiones.

Las condiciones óptimas para la germinación de los conidios de las especies de *Aschersonia* presentes en Ciego de Ávila son: 100% de HR, Temperatura de 23 y 24°C en un término de 72 y 96 horas de exposición en los cuales alcanzan hasta índices de 89.3 y 96.2 conidios germinados. Temperaturas inferiores a 18°C y superiores a 32 °C son limitantes al proceso, así como no son suficientes HR de 79 , 90 y 95 %.

A. aleyrodís y *Aschersonia* sp. tienen una marcada diferencia de sensibilidad a los cambios en la relación «Temperatura- Humedad Relativa» y tiempo de exposición, que permiten considerar *A. aleyrodís* con una mayor estabilidad y plasticidad ecológica .

El medio de cultivo agar sabouraud dextrosa a 24 °C resulta ventajoso para el crecimiento y la esporulación de *A. aleyrodís*. Mientras que *Aschersonia* sp. tiene un menor crecimiento en todos los medios de cultivo y temperaturas de incubación.

La exposición a 6 horas de oscuridad seguidos de alternancia de periodos alternos de luz/oscuridad de 8/16 horas combinados con temperaturas favorables ejercen efectos estimulantes en el crecimiento y la esporulación de *A. aleyrodís* .

Existen tres momentos diferentes en el desarrollo poblacional del entomopatógeno, uno mínimo en los meses de mayo, junio, julio y agosto; otro moderado en marzo, abril y septiembre y un tercero de máximo desarrollo de octubre a febrero con epizootias hasta de un 52 % que dependen de condiciones de temperaturas medias próximas a 23 y

24 °C y HR superiores al 80 %, escasas precipitación y nubosidad, que demuestran que no hay necesidad de tomar otras medidas fitosanitarias contra aleyrodidos y coccídeos..

En el desarrollo poblacional de las especies de *Aschersonia*, presentes, las variables climáticas que inciden por orden de importancia son: la temperatura (inversamente proporcional), la humedad relativa (directamente proporcional) y la nubosidad y la precipitación en sentido inverso al desarrollo del hongo. Las dos primeras son determinantes en el comportamiento epizootológico de este microorganismo.

Bibliografía.

Berlanga, P, Angélica Maria y V. Hernández Velásquez. *Aschersonia aleyrodís* Webber en el control microbioal de mosca blanca de los cítricos *Dialeurodes* spp. Centro Nacional de referencia de Control Biológico. DGSV-SAGAR. Estación FFCC. Tecmán, Colima, México.2002.

<http://www.procesosvirtuales.com/documentos/archivos/DT-BT01-001.pdf>. 2002

Claps, Lucia. E, y A. Terán. Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) asociadas a Cítricos en la Provincia de Tucumán (República Argentina). SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY. Neotrop. Entomol. Vol.30.no.3 Londrina Sept. 2001

El Choubassi, W. Biología, ecología y manejo integrado de *Parlatoria ziziphii* (Lucas) en los cítricos de Ciego de Ávila. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. UNICA. Facultad de Agronomía, 2001.

Evans, H. C. «Spores germination in the entomopathogenic genus *Aschersonia*». Mycol-Res. Cambridge. University press. 96. 165. 1994.

FAO. Manual para patólogos vegetales. CMI. Kew surry: FAO. 438p. 1985.

Foschi, S; Deseo, K.V. Prospects of microbiological control of phytophagous pests in flowering and ornamental crops in protected environment. Difesa delle Pinate, 10(1):121-125. 1987.

Fransen, J. J. a) «Control of greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, by the fungus *Aschersonia aleyrodís*. Integrated control in Glass house». Budapest (Hungary). Bulletin SROP (France). 10 (2). 57-61, 1987.

Fransen, J. J. b) *Aschersonia aleyrodís* as a microbial control agent of greenhouse whitefly. Doctorate Thesis. Wageningen. The Netherlands: Wageningen Agricultural University. 1987.

- Gao, R. X.; Ouyang Z, Gao, Z. X; Zheng J. X.** «A preliminary report on the applications of *Aschersonia aleyrodis* for the control of citrus whitefly. Chinese Journal of Biological Control, 1 (14): 45-46. 1985.
- Garza, G. E.** Combate Biológico de la mosca de los cítricos (*Dialeurodes citri*) por el hongo entomopatógeno *Aschersonia* spp en el estado de colima. V Reunión Nacional de control Biológico y Sector Agropecuario C.D. Victoria Tams. 1977.
- Hamon, A.B. ; M.L.Williams.** The Soft Sacxale Insects of Florida (Homoptera: Coccidea: Coccidae). Florida Dept Agr and Consumer Serv.,Div. Planta Industry, Gainesille, Florida, U.S.A. 194 p. 1984.
- Hernández, A..** Metodología de aislamiento para las especies del género de *Aschersonia*. Informe no publicado. Centro Meteorológico Provincial Ciego de Ávila. Ciego de Ávila. 4p.2005.
- Ibrahim, Y.B; T.K. Lim; M.K. Tang and H.M. Teng.** Influence of temperature, pH y selected growth media on germination, growth and sporulations of *Aschersonia placenta* and *Hypocrella raciborskii*. Biocontrol Science and Tecnology, 3(1): 55-61. 1993.
- Kang, C. S.; Neergaard, P. and Mathur, S. B.** Seed health testing of rice. VI Detection of seed-borne fungi on blotters under different incubation condition of light and temperature. Proc. Int. Seed Test. Ass. 37: 731-740. 1972.
- Lerch, G.** La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. Editorial Científico-Técnico. La Habana. Cuba. 1977.
- Linares, F. Gladys; Liliams Acosta y Viviam Sistachs.** Estadística multivariada. La Habana. Universidad de La Habana,. Facultad de Matemática-Cibernética. 1986.
- Otero, Olga; J. Mora; Eva Artieaga; R. Cabrera; R. Broche y A. Castellanos.** Manual de orientaciones para el manejo fitosanitario de las principales plagas y enfermedades de los cítricos. Instituto Nacional de Investigaciones de los Cítricos. La Habana. Cuba. 1994. P. 1-14 y 97-98. 1994.
- Microsoft EXCEL** Microsfot Office. Copyright. Microsoft Corporation. 1985 – 2000. Windows 2000.
- Ponomarenko, N.G; Prilepskaya. H.A; Murvanidze M. Ya, Stolyarova, L. A.** *Aschersonia* against whiteflies. Zashchiita Rastenii, No. 6:44-45. 1975.
- Ramakers, P. M. J. y R. A. Samson.** «*Aschersonia aleyrodis*, a fungal pathogen of whitefly. Application as a biological insecticide in glasshouses». Research Inst. For plan protection. Wageningen (Netherlands). 97 (1). 1-8, 1984.
- Silva, A.** «Controle biologico natural da entomofauna daña da laranjeira en Belem e Capitaó Poco, Estado do Para». EMBRAPA-CPATU: Boletín de Pesquisa. 25. 162, 1996.
- SPSS.** El Paquete Estadístico SPSS para Windows. Versión 11.5' 2002.
- Suris, Moraima y Varona, Ivonne.** Distribución espacial de *Selenaspidus articulatus* (Coccoidae: Diaspididae) en una plantación de Naranja Valencia. Revista Protección de Vegetal. 3(1)9: 38-44. 1988
- Sutton, B.C.** The Coelomycetes. Fungi Imperfecti wiht Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological. Institute. Key Surrey, England. : 543-454. 1983.
- Vargas, M. M. ; D. A. Rodríguez y A. López.** «Aspectos básicos para el control biológico de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), con el hongo entomopatógeno *Aschersonia aleyrodis* Webber». Santafe de Bogota. Colombia. CORPOICA. 13-30, 1997.
- Yusof, I y M. K. Tang.** In vivo pathogenicity of *Aschersonia placenta* and its teleomorph on the scales, *Asterolecanium unguata* and *Coccus viridis*. MALAYSIAN APPLIED BIOLOGY, 21(2):71-75. 1992
- Zhang,Z; Large,L. and Mathur,S.B.** Telleospore survival and plant quarantine significance of *Tilletia indica* particularly in relation to China. EPPO Bul. 14: 119-128, 1984.
- Zou, W. H.** «Parasitism of *Dialeurodes citri* by *Aschersonia placenta*. Zhejiang Agricultural Sciences (China). (6). 280-282, 1988.