



Efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre el ácaro *Panonychus citri* en condiciones de laboratorio

Effect of *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii* on mite *Panonychus citri* under laboratory conditions

Erika P. Alayo-Aguirre¹ y Juan H. Wilson-Krugg².

¹Exalumna de la Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo.

RESUMEN

Se evaluó el efecto patogénico de *Lecanicillium lecanii* (Zimm) y *Beauveria bassiana* (Bals.) sobre el ácaro rojo de los cítricos, *Panonychus citri*, en condiciones de laboratorio. Se realizaron cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno: (i) al primero se le aplicó Tween 80 al 0.1% , (ii) al segundo y tercero, una suspensión de *L. lecanii* a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL, respectivamente, y (iii) al cuarto y quinto, una suspensión de *B. bassiana* a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL, respectivamente. Luego de la inoculación con los hongos entomopatógenos, los especímenes de *P. citri* presentaron lentitud en movimiento, alteración en el color del tegumento y muerte. Los ácaros muertos fueron colocados en cámara húmeda hasta la aparición de micelio, el cuál fue aislado en agar papa sacarosa con antibiótico para su posterior observación microscópica y determinación. Se encontró que el menor porcentaje de supervivencia del ácaro fue frente a *B. bassiana* con un 17% y 6% a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL ($p < 0,05$), mientras que con *L. lecanii* el porcentaje de supervivencia fue de 29% y 20% a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL ($p > 0,05$). Se concluye que, en condiciones de laboratorio, *B. bassiana* tuvo efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *P. citri*, observándose un menor porcentaje de supervivencia del ácaro al incrementar la concentración de conidias del hongo, mientras que *L. lecanii* no tuvo efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *P. citri*.

Palabras clave: Entomopatógenos, *Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Panonychus citri*

ABSTRACT

The pathogenic effect of *Lecanicillium lecanii* (Zimm) and *Beauveria bassiana* (Bals.) on citrus red mite, *Panonychus citri*, in laboratory conditions was evaluated. Five treatments with three replicates each were performed: (i) the first was applied to 0.1% Tween 80, (ii) the second and third, a suspension of *L. lecanii* at concentrations of 10⁶ / mL and 10⁷ / mL, respectively, and (iii) the fourth and fifth, a suspension of *B. bassiana* at concentrations of 10⁶ / mL and 10⁷ / mL, respectively. After inoculation with the entomopathogenic fungi *P. citri* specimens showed slow motion, color alteration of the integument and death. The dead mites were placed in a moist chamber until the appearance of mycelium, which was isolated on potato sucrose agar antibiotic for subsequent microscopic observation and determination. It was found that the lowest percentage of mite survival against *B. bassiana* was 17% and 6% at concentrations of 10⁶/10⁷ mL and / mL ($p < 0.05$), whereas *L. lecanii* the survival rate was 29% and 20% at concentrations of 10⁶ / mL and 10⁷ / mL ($p > 0.05$). We conclude that, under laboratory conditions, *B. bassiana* entomopathogenic took effect on nymphs and adults of *P. citri*, with a smaller percentage of mite survival by increasing the concentration of conidia of the fungus, while *L. lecanii* had no effect entomopathogenic on nymphs and adults of *P. citri*.

Keywords: Entomopathogens, *Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Panonychus citri*

INTRODUCCIÓN

El cultivo de los cítricos en el Perú ha adquirido significativa importancia debido a los elevados niveles de consumo tanto en el mercado interno como externo y se encuentra más desarrollada, desde el punto de vista agronómico y comercial, en la costa central¹. No obstante, tal desarrollo se encuentra amenazado por enfermedades y plagas que afectan de modo negativo la producción de este cultivo, como es el caso de la araña roja de los cítricos, *Panonychus citri*^{2,3}.

P. citri desarrolla de huevo a adulto en sólo 13 días: el huevo en siete días y los estados inmaduros activos en seis; los adultos hembras viven un promedio de 15 días, oviponen un promedio de 50 huevos en el transcurso de su vida, de modo tal, que en el campo se pueden desarrollar de 12 a 15 generaciones cada año, aspecto que repercute negativamente en la producción de cítricos, porque además de los adultos las larvas y ninfas se alimentan de hojas y frutos deteriorándolos^{4,5,6}.

Las máximas densidades poblacionales de *P. citri* ocurren frecuentemente en primavera y en otoño y se ha observado que la dinámica poblacional está influenciada por el clima (desarrolla mejor a 25°C y a 65 ± 10 % HR), estado vegetativo de la planta, prácticas agronómicas y enemigos naturales; en efecto, las elevadas temperaturas son letales para todas las formas móviles y las bajas temperaturas prolongan el tiempo de desarrollo y reducen la actividad alimenticia, la humedad relativa tiene un marcado efecto en el número de huevos colocados por la hembra, por lo que los extremos de ésta no solo reducen la fecundidad, sino que también aumentan la mortalidad^{7,8,9,10,11}.

El control de la “araña roja” se efectúa mediante el uso de sustancias químicas; sin embargo, resulta costoso, destruye a los controladores benéficos, influye sobre la planta provocando ciertos cambios en la constitución de sus tejidos que resultan favorables para el desarrollo de la plaga y, sobre todo, desarrolla con facilidad resistencia a los plaguicidas^{12,13}. Ante ello, el uso de hongos entomopatógenos surge como una buena alternativa de control porque son estables, eficaces y pueden aplicarse en completa armonía con las diferentes técnicas usadas en esquemas de manejo integrado^{15,16}.

En tal contexto, puede ser de utilidad *Lecanicillium lecanii*, hongo entomopatógeno de amplia distribución, que ocasiona epizootias de gran magnitud en ambientes cálidos y húmedos (humedad relativa encima de 80% y temperatura entre 20 a 25°C), en un amplio rango de hospederos: insectos de los órdenes Homoptera, Coleoptera, Diptera y Lepidóptera y ácaros de la familia Tetranychidae^{17,18}. Igualmente, *Beauveria bassiana*, otro hongo cosmopolita, que posee gran actividad entomopatógena contra diversas especies de insectos correspondientes a los órdenes Coleoptera, Lepidóptera, díptera, heteróptera, Homóptera y también contra los ácaros de la Familia Tetranychidae^{19,20}.

Teniendo en cuenta la importancia de *P. citri* como plaga en los campos citrícolas del Perú y que no se ha investigado la actividad de hongos entomopatógenos frente a ella, se planteó la presente investigación que estuvo dirigida a determinar el efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre la araña roja de los cítricos, *P. citri*, en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- Cultivos puros de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* proporcionados por la Cátedra de Fitopatología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo.
- Especímenes adultos y de estadío ninfal de *Panonychus citri* provenientes de la crianza masiva en el mismo laboratorio.

Recolección e identificación de *Panonychus citri*

Se realizó la recolección de hojas de naranjo infestados con *P. citri*, las cuáles se retiraron de la planta con ayuda de tijeras, se colocaron en bolsas de papel dentro de una caja de cartón y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. Para la determinación de *P. citri* se realizaron observaciones bajo el estereoscopio utilizando pinceles

entomológicos, teniendo en cuenta la coloración de los ácaros, las setas o pelos dorsales y los tubérculos prominentes del mismo color que el tegumento.

Crianza de *Panonychus citri*

La crianza se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo y consistió en colocar esponjas dentro de bandejas de plástico (35x25x5cm), sobre el lecho de esponjas se colocó papel toalla y sobre ellos se depositaron hojas de *Citrus limon* "limón" previamente lavadas y secadas, los bordes de las hojas fueron rodeados con papel toalla para evitar la huida de los ácaros. La esponja se mantuvo constantemente húmeda y las hojas eran cambiadas conforme se marchitaban, cada 8 días. Se infestó cada hoja con diferentes estadios poblacionales de *P. citri*, teniendo en cuenta la misma cantidad de individuos por hoja. La crianza se realizó a 22- 25°C y a 70% H.R aproximadamente.

Reactivación de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*

A partir de los cultivos puros de *L. lecanii* y *B. bassiana* se hicieron suspensiones con Tween 80 al 0.1 %. Se seleccionaron dos bandejas de crianza con 30 individuos de *P. citri* cada una y se realizó la inoculación por aspersión. Los ácaros muertos fueron sometidos a condiciones de cámara húmeda, que consistió en colocarlos en una lámina porta objeto ubicada dentro de una placa de Petri estéril, la cual contenía algodón humedecido en agua destilada estéril. Las cámaras se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días hasta la aparición de micelio sobre la superficie de los ácaros muertos. En condiciones de esterilidad se transfirió el micelio que emergió sobre los ácaros, en tubos con Agar Papa Sacarosa y se llevaron a incubación durante 7 días a temperatura ambiente, para obtener cultivos puros reactivados. Se determinó taxonómicamente al hongo en base a las características morfológicas macroscópicas¹⁴

Propagación y estandarización del inóculo de *L. lecanii* y *B. bassiana*

Los hongos reactivados en el paso 2.3 fueron sembrados por el método de superficie en frascos planos conteniendo Agar Papa Sacarosa, los que se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días. Posteriormente a partir de los cultivos obtenidos en los frascos planos se preparó una suspensión de conidias en Tween 80 al 0.1 %, y se estandarizó con la ayuda de la cámara de Neubauer a una concentración de 10^6 y 10^7 con/mL para ambos hongos.

Inoculación de los hongos entomopatógenos *L. lecanii* y *B. bassiana*

Se aplicaron cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno, destinándose cuatro tratamientos para el grupo problema y uno para el grupo control. Cada uno de los cinco tratamientos estuvieron conformados por 30 individuos entre ninfas y adultos de *P. citri*. Al primer y al segundo tratamiento se les inoculó por aspersión, suspensiones de *L. lecanii* a las concentraciones de 2×10^6 con/mL y 2×10^7 con/mL respectivamente, al tercer y cuarto tratamiento se les aplicó suspensiones de *B. bassiana* a las concentraciones de 2×10^6 con/mL y 2×10^7 con/mL respectivamente. El último tratamiento fue destinado para el grupo control al cual se le aplicó Tween 80 al 0.1%. Todos los tratamientos se mantuvieron a 22-25°C y a 70% H.R aproximadamente¹³.

Evaluación de la actividad entomopatógena de *L. lecanii* y *B. bassiana*

• Observación de síntomas y/o signos

Después de la inoculación se evaluó diariamente en los grupos problemas la aparición de síntomas y/o signos de infección micótica, en comparación con el grupo control. Los síntomas evaluados fueron la carencia de coordinación, pigmentación, comportamientos alterados como movimientos lentos y la parálisis del ácaro, muerte y finalmente como signo la aparición de micelio sobre la exocutícula, siendo el tiempo máximo de observación 14 días.

• Aislamiento y confirmación de *L. lecanii* y *B. bassiana*^{13,20}

Para determinar, si los hongos entomopatógenos fueron los que originaron la muerte a *P. citri*, los ácaros muertos con síntomas de ataque fúngico fueron sometidos a condiciones de cámara húmeda con la finalidad de que si el hongo estuviera colonizando el interior del ácaro, se desarrolle y cubra la superficie exocuticular con micelio. Para ello, se colocó a los ácaros muertos en una lámina porta objeto ubicada en una placa de Petri estéril que contenía

algodón humedecido en agua destilada estéril., las cámaras húmedas se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días hasta la aparición de micelio sobre la superficie de los ácaros muertos. Con una asa bacteriológica y en completa esterilidad se transfirió el micelio que emergió sobre el ácaro hacia tubos conteniendo Agar Papa Sacarosa inclinado, los que se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días. Luego se procedió a la confirmación del hongo basándose en las características morfológicas macroscópicas, microscópicas y haciendo uso de las claves taxonómicas propuestas por Barnett y Hunter¹⁴.

• **Determinación del Porcentaje de mortalidad y análisis estadístico**²³

Para la determinación del porcentaje de muerte se empleó la fórmula de Abbott.

$$Mc = \frac{Mo - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Dónde: Mc = Porcentaje de mortalidad corregida; Mo = Porcentaje de mortalidad del tratamiento u observada; Mt= Porcentaje de muerte en el testigo.

• Los promedios del porcentaje de mortalidad fueron analizados mediante el Análisis de Varianza (ANAVA) con un nivel de confianza del 95% y para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados⁶.

RESULTADOS

La aplicación tanto de *L. lecanii* como de *B. bassiana* en las ninfas y adultos del ácaro *P. citri* determinó la aparición de signos y síntomas que condujeron a la muerte (Tabla 1). Se verificó que la sintomatología y muerte fueron provocadas ppor los entomopatógenos (Figs. 1 y 2).

El porcentaje de supervivencia de ninfas y adultos de *P. citri* frente a la concentración de 10⁶ con/mL de *L. lecanii* fue de 29%, mientras que a la concentración de 10⁷ con/mL fue de 20%, a los 14 días de evaluación (Fig. 3). En tanto, el porcentaje de supervivencia de ninfas y adultos de *P. citri* frente a la concentración de 10⁶ con/mL de *B. bassiana* fue de 17%, mientras que a la concentración de 10⁷ con/mL fue de 6%, a los 7 días de evaluación (Fig. 4).

Tabla 1. Síntomas y/o signo observados en ninfas y adultos de *Panonychus citri* después de la aplicación de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio.

SÍNTOMAS/SIGNO	TRATAMIENTOS		
	Control *	<i>Lecanicillium lecanii</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
Movimientos lentos	-	+	+
Alteración en el color del tegumento	-	+	+
Muerte	-	+	+
Aparición de micelio sobre los ácaros	-	+	+

*: Tween 80 al 0.1%; +: Presencia de síntoma o signo; - : Ausencia de síntoma o signo



Fig. 1. Adulto de *Panonychus citri*. A. Sin inocular (control); B. Inoculado con *Lecanicillium lecanii* (nótese la coloración oscura); C) Micelio de *L. lecanii* cubriendo la superficie de *P. citri*, D) Fiálides típicas de *L. lecanii* creciendo en la superficie de *P. citri*.



Fig. 2. Adulto de *Panonychus citri*. A. Sin inocular (control) B) Inoculado con *Beauveria bassiana* (nótese la coloración oscura); C) Micelio de *B. bassiana* cubriendo la superficie de *P. citri*, D) Disposición típica de conidias de *B. bassiana* en la superficie de *P. citri*,

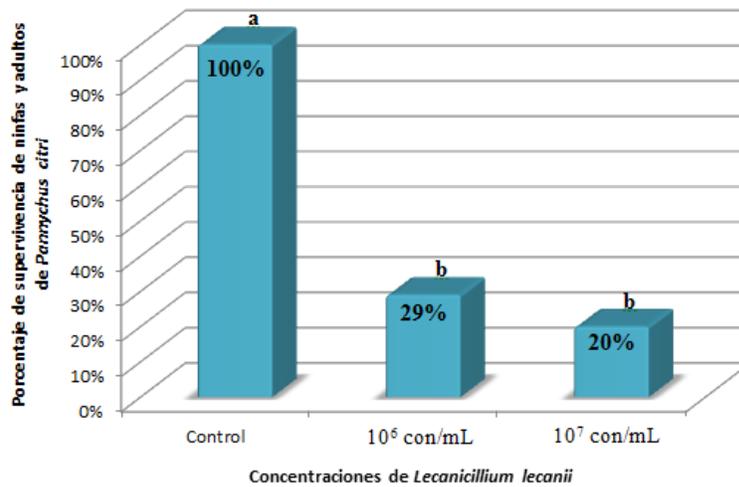


Fig. 3. Porcentaje de supervivencia de ninfas y adultos de *Panonychus citri* inoculados con *Lecanicillium lecanii* a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL, a los 14 días de evaluación. (a: p < 0.05, existe diferencia significativa; b: p > 0.05, no existe diferencia significativa).

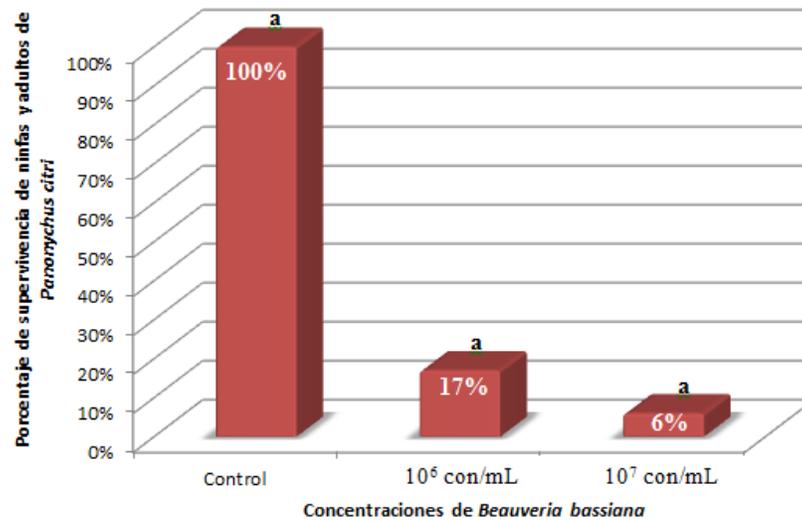


Fig. 4. Porcentaje de supervivencia de ninfas y adultos de *Panonychus citri* inoculados con *Beauveria bassiana* a las concentraciones de 10⁶ con/mL y 10⁷ con/mL, a los 7 días de evaluación. (a: p < 0.05, existe diferencia significativa entre los tratamientos).

DISCUSION

Los síntomas y signo observados en especímenes de los estadios de ninfa y adulto de *P. citri* luego de la aplicación de los hongos entomopatógenos *L. lecanii* y *B. bassiana* se deberían a la acción directa de éstos; es decir, para que tales síntomas se presenten ocurrió previamente un proceso de patogénesis, el cual se inicia con la adhesión de una conidia de los hongos inoculados a la cutícula de *P. citri*, siendo necesario el reconocimiento y compatibilidad (por ejemplo de enzimas y glicoproteínas) entre el conidio y las células del tegumento del ácaro, la que estuvo influida por dos acciones: una pasiva en la cual se ejercen fuerzas electroestáticas e hidrofóbicas y; otra activa en la cual se secretan mucílagos que interactúan químicamente con las lecitinas de la membrana generando un ambiente favorable para la secreción de enzimas. Luego de la adhesión, se inicia la germinación, que es dependiente de las condiciones que le pueda brindar el insecto y el ambiente para que la conidia germine^{20,21}

Carvalho²² menciona que *L. lecanii* y *B. bassiana* requieren una humedad relativa mayor a 70% y temperatura de 20 a 25°C, siendo la temperatura durante la investigación de 20 a 22°C y la humedad relativa de 70 a 75% aproximadamente, las que favorecieron la formación del tubo germinativo iniciando la penetración en la cutícula del ácaro, involucrando este proceso a diversos mecanismos enzimáticos y procesos físicos. Perdakis *et al.*²³ mencionan que las enzimas que participan en la penetración son proteasas, quitinasas y lipasas que actúan de forma secuencial, degradando la cutícula y liberando nutrientes para el hongo. Cazorla y Morales³⁹ mencionan además que estos hongos entomopatógenos al invadir a los Tetránquidos tienden a localizar sus hifas en el centro del hemocele, y producir toxinas como bassinolide (*L. lecanii*) y beauvericina, beauverolidasas, bassianolidasas e isarolidasas (*B. bassiana*) las que actúan bloqueando el aparato digestivo, además de tener acción histolítica, afectando el sistema nervioso y muscular produciendo síntomas como lentitud en sus movimientos (Tabla 1). Al llegar a la hemolinfa se transforman morfológicamente en blastosporas y cuerpos filamentosos de hifas que invaden el sistema inmune del hospedero multiplicándose rápidamente en los tejidos. En el mismo sentido, Prasad y Syed²⁴ mencionan que en esta etapa se activa el sistema inmune del insecto a través de los procesos de melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento; siendo la melanina la sustancia responsable del oscurecimiento del tejido, síntoma observado en la investigación (Fig. 1 y 2).

Luego de que los mecanismos de defensa del ácaro son sobrepasados, el hongo entomopatógeno entra en la fase de colonización agotando los nutrientes y el agua presente su interior, ocurriendo la muerte del hospedante, producto de la necrosis el cadáver se torna oscuro, se deshidrata y momifica²⁵. Luego ocurre la fase saprofítica de crecimiento micelial hacia el exterior (Fig. 1 y 2). Motta y Murcia¹⁴ mencionan que las hifas emergen de los cadáveres de insectos a través de la boca, ano, apéndices y aberturas genitales que concluye con la producción de nuevas unidades reproductivas (conidios) sobre la superficie cubriendo el cuerpo del ácaro. Todos los síntomas y signo observados y descritos en los grupos problema no se observaron en el grupo control.

Al incrementarse la concentración desde 10^6 a 10^7 con/mL de *L. lecanii*, el porcentaje de supervivencia de *P. citri* disminuyó de 29% a 20% respectivamente; sin embargo, esto es aparente porque al realizar el análisis estadístico se encontró que esta diferencia no era significativa, si existiendo diferencia significativa entre dichas concentraciones y el control; esto significa que las dos concentraciones empleadas tienen el mismo efecto sobre los individuos de *P. citri*, lo que se significaría que a la concentración de 10^6 con/mL *L. lecanii* llega a un umbral de infección, siendo la concentración de inóculo aplicada la máxima efectiva y que al aumentar la concentración de la dosis, no se generara mayor muerte en los ácaros, obteniéndose resultados con porcentajes de supervivencia que no varían estadísticamente. Estos resultados difieren con los hallazgos de Diaz *et al.*¹⁸, quienes observaron que especímenes de *Myzus persicae* presentaban una supervivencia del 0 % al ser inoculados con dosis de 1×10^9 con/mL de *L. lecanii*, concentración que fue más alta que la empleada en esta investigación, esto se puede deber a que *P. citri* presenta una mayor susceptibilidad a bajas concentraciones de conidios de *L. lecanii* que *M. persicae*²⁶. Ghosh *et al.*²⁵ encuentran que *L. lecanii* disminuía a la población de *Tetranychus*

urticae observando un porcentaje de supervivencia del 30% a la concentración de 6.5×10^6 con/mL, resultados similares a los obtenidos en la investigación; asimismo Amjad *et al*⁶ informan que al incrementar las concentraciones de *L. lecanii* de 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 con/mL, disminuye el porcentaje de supervivencia de hembras adultas de *T. urticae*, disminuyendo también el porcentaje de eclosión de huevos disminuye.

Asimismo, al incrementar la concentración de 10^6 a 10^7 con/mL de *B. bassiana*, el porcentaje de supervivencia disminuyó de 17% a 6% respectivamente, resulta real porque el análisis estadístico se encontró que existía diferencia significativa entre la supervivencia obtenida a las dos concentraciones de conidios empleadas, así como también existe diferencia significativa entre dichas concentraciones y el grupo control. Esto significa que las dos concentraciones empleadas no tienen el mismo efecto sobre los individuos de *P. citri*, y que dicho efecto se va acentuando conforme se incrementa la concentración de *B. bassiana*. Con los resultados obtenidos por Sanheedep *et al*⁷ demuestran que el más bajo porcentaje de supervivencia de larvas de *Spodoptera litura* fue registrada a la concentración de 2.03×10^9 con/ml, concentración que fue más alta que la empleada en esta investigación, asimismo Prasad y Syed²⁴ informaron que el porcentaje de supervivencia de larvas de *Helicoverpa armigera* fue de 13.3% al ser tratadas a la concentración de 0.25×10^8 con/ml de *B. bassiana*, esto podría atribuirse a la dosis de inóculo empleada y a la patogenicidad del aislamiento con el que ellos trabajaron.

CONCLUSIONES

- *Beauveria bassiana* tiene efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *Panonychus citri*, en condiciones de laboratorio; disminuyendo el porcentaje de supervivencia del ácaro al incrementarse la concentración de conidios del hongo.
- *Lecanicillium lecanii* tiene un efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *Panonychus citri* en condiciones de laboratorio, no existiendo diferencia significativa entre las concentraciones empleadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. León MG. Insectos de los cítricos. Colombia: Edit. Artes y Letras S.A.S. 2012.
2. Guanilo A, Martínez N. Predadores asociados a *Panonychus citri* McGregor (Acari: Tetranychidae) en la costa central del Perú. Ecol Aplic 2007; 6(1,2):118-129.
3. García F, Rivero M. El ácaro rojo *Panonychus citri*, nueva plaga de los cítricos en España. Bol Serv Plagas 1981; 7: 65-77.
4. Caraka I. Life table of Citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acarina: Tetranychidae) in laboratory. Turk Entomol Derg 1994; 18(2): 65-70.
5. Kasap I. The biology and fecundity of the citrus red mite *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) at different temperatures under laboratory conditions. Turk J Agric For 2009; 3: 593-600.
6. Puspitarini RD, Rauf A, Sosromarsono S, Santoso T, Santoso S. Abundance of citrus red mite *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), other mites and its natural enemies at several citrus plantation locations. J Agric Food Tech 2011; 1(11): 212-217
7. Swirski E, Gokkes M. Phenology and natural enemies of the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) in Israel. Israel J Entomol 1986; 20: 37-44.
8. Badii MH, Landeros J, Cerna E. Regulación poblacional de ácaros plaga de impacto agrícola. Intern J Good Conscience 2010; 5(1): 270-302.
9. Baker R. Pest risk assessment made by France on *Panonychus citri* considered by France as harmful in French overseas departments of French Guiana and Martinique. EFSA J 2008; 679: 1-17.
10. Guanilo A, Martínez N. Biología y comportamiento de *Amblyseius chungas* Denmark y Muma (Acari: phytoseiidae) como predador de *Panonychus citri* (Acari: tetranychidae). J Econ Entomol 1990; 83(3): 946-951.

11. Hare DJ, Pehrson JE, Clemens T, Menge JA, Coggins CW. Effects of managing citrus red mite (Acar: tetranychidae) and cultural practices on total yield, fruit size, and crop value of navel orange. J Econ Entomol 1990; 83(3): 976-984.
12. Jamieson LE, Stevens PS. Miticides against citrus red mites (*Panonychus citri*). New Zealand Plant Protection 2009; 62: 302-309.
13. Cisneros F, Sarmiento J. Dos ensayos sobre el control químico de la “araña roja de los cítricos”, *Panonychus citri* (McGregor) en La Esperanza, Huaral. Rev Per Ent 1966; 9(1): 110-117.
14. Hunter B, Barnett H. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th ed. California, USA: APS Press. 1968.
15. Motta-Delgado PA, Murcia-Ordoñez B. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. J Appl Sci 2011; 6 (2): 77-90.
16. Garcia-Mari F, Santaballa E, Ferragut F, Marzai C, Colomer P, Costa J. El ácaro rojo *Panonychus citri* (MacGregor) incidencia en la problemática fitosanitaria de nuestros agríos. Bol Serv Plagas 1983; 9:191-218.
17. Shinya R, Watanabe A, Aiuchi D, Tani M, Kuramochi K, Kushida A Koike M. Potential of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) hybrid strains as biological control agents for soybean cyst nematode: Is protoplast fusion an effective tool for development of plant-parasitic nematode control agents. Japanese J Nematol 2008; 38(1): 9-18.
18. Ayala Zermeño M, Mier T, Sánchez Robles J, Toriello C. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* por efecto de la temperatura. Rev mexicana Micol 2005; 20: 93-97.
19. Diaz B, Oggerin M, Lopez C, Rubio V, Fereres A. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphid species. BioControl 2009; 54: 825-835.
20. Santa-María A, Costa-Comelles J, Alonso A, Rodríguez M, Ferrer J. Ensayo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin para el control de la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae) y su acción sobre el parásito *Cales noacki* (Howard) (Hymenoptera: Aphelinidae). Bol San Veg Plagas 1998; 24: 695-706.
21. **Cazorla Perfetti D, Morales Moreno P.** Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). J Biopesticides 2011; 4 (2): 161-168.
22. Carvallo M, Guharay F. Control Biológico de plagas agrícolas. España: Edit. Managua. 2004.
23. Perdakis D, Kapaxidi E, Papadoulis G. Biological control of insect and mite pests in greenhouse solanaceous crops. European J Plant Scie & Biotech 2008; 2(1): 125-144
24. Prasad A, Syed N. Evaluating Prospects of Fungal Biopesticide *Beauveria Bassiana* (Balsamo) Against *Helicoverpa Armigera* (Hubner): An Ecosafe Strategy for Pesticidal Pollution. Asian J Exp Biol Sci 2010; 1 (3): 78-83.
25. Ghosh SK, Shivaprakash THM, Kharderr Khan H. Susceptibility of two spotted red spider mites, *Tetranychus urticae* (Koch) (Acarina: Tetranychidae) against entomofungal pathogens. J Biol Control 2007; 21:183-186.
26. Cavallazi G, Prieto A, Ariza R. Evaluación del entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas en el control de la mosca blanca *Philephedra tuberculosa* Nakahara y Gill en guanábana (*Anoa muricata*). Agron Colombiana 1998; 15 (2): 106-111.
27. Sanehdeep K, Harminder PK, Kirandeep K, Amarjeet K. Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). J Biopesticides 2011; 4 (2): 161-168.