

PROSPECCIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DEL PULGÓN DEL CIPRÉS EN DOS REGIONES ECOLÓGICAS DE CHILE. I.

(*Prospection of entomopathogenic fungi of cypress aphid in two ecological regions of Chile. I.*)

Cristian Montalva, R^{1*}. Mónica Gutiérrez, A². Eladio Rojas, P².
Dolly Lanfranco, L³. Eduardo Valenzuela, F⁴.

*Autor de correspondencia: ¹Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Escuela de Graduados. Casilla 567. Valdivia. Chile (cristian.montalva@alumnos.uach.cl).

²Laboratorio Regional SAG, Ruta a Puerto Octay U-55-V, Calle de Servicio, Osorno. Chile.

³Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Casilla 567. Valdivia. Chile.

⁴Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Instituto de Microbiología. Casilla 167, Valdivia. Chile.

Palabras clave: *Cinara cupressi*, control biológico, hongos entomopatógenos, Hypocreales.

Key words: *Cinara cupressi*, biological control, entomopathogenic fungi, Hypocreales.

RESUMEN

*El pulgón del ciprés (Cinara cupressi), es una plaga exótica distribuida en todo el territorio continental chileno que ha provocado daños importantes tanto en especies forestales introducidas como nativas. Se han estudiado algunos aspectos de la biología de este pulgón, mediante control biológico y productos químicos, los cuales no presentan actualmente resultados satisfactorios. Durante el tiempo que esta plaga se ha establecido en Chile, no se ha realizado un estudio sistemático de hongos entomopatógenos asociados a este pulgón, aunque se cuenta con antecedentes de un control promisorio en pulgones con estos agentes en otros países. Con el objetivo inicial de aislar en una primera fase del presente estudio hongos patógenos potenciales para el control biológico de C. cupressi, iniciamos su búsqueda en dos regiones ecológicas del sur de Chile (Región ecológica Mediterránea Per-Húmeda y Región ecológica Oceánica con influencia Mediterránea), seleccionándose en cada una de ellas 6 sitios de muestreo donde en cada uno se recolectaron 10 ramas con colonias de pulgones que fueron mantenidas en una cámara bioclimática (20 ± 2 °C, 16:8 h) por 7 días, para estimular el desarrollo fúngico. Se aislaron integrantes de lo géneros *Verticillium*, *Paecilomyces* (ambos con mayor frecuencia de presencia), *Fusarium* y un entomofthoral en estudio.*

ABSTRACT

*The cypress aphid (Cinara cupressi) is an exotic plague distributed throughout the Chilean continental territory which has caused significant damage both in introduced forest species as well as in native ones. Some characteristics as to the biology of this aphid have been studied by means of biological control and chemicals yet they have not revealed any satisfactory results up to now. During the time of occurrence of this plague in Chile systematic study on entomopathogenic fungi associated to this aphid has failed to be accomplished although information about a promissory control in aphids with these agents has been reported in other countries. In order to carry out an isolation of potential pathogenic fungi for the biological control of C. cupressi in the first phase of this present research, we began to look for them in two ecological regions from southern Chile (Ecological Mediterranean Per-humid Region and Ecological Oceanic Region having Mediterranean influence). Six sampling sites were selected in each of them while 10 branches infected with aphid colonies were kept in a bioclimatic chamber (20±2°C, 16:8 h) for 7 days to stimulate fungal growth. Fungi of genera *Verticillium*, *Paecilomyces* (both showing the highest occurrence frequency), *Fusarium* and an entomofthoral under study were isolated.*

Recibido el 23 de Noviembre 2010

Aceptado el 17 de Diciembre 2010

INTRODUCCIÓN

El pulgón del ciprés (*C. cupressi* (Buckton)), pertenece a un complejo de especies (Watson *et al.*, 1999) que fue detectado por primera vez en Chile el año 2003 en árboles del género *Cupressus* (Silva *et al.*, 2005), el año 2004 en *Austrocedrus chilensis* (ciprés de la cordillera) (Instituto Forestal, 2008) y el año 2007 se encontró este pulgón asociado a *Fitzroya cupressoides* (alerce), especie forestal declarada monumento natural a través del Decreto Supremo N°490, Chile (1976). Por lo tanto, afecta a especies arbóreas nativas como introducidas (Aguayo *et al.*, 2005; Servicio Agrícola Ganadero, 2005). Algunas de las invasiones biológicas más catastróficas son las de insectos exóticos asociados a bosques nativos (Liebhold *et al.*, 1995; Mondor *et al.*, 2007; Liebhold & Tobin, 2008). En ese sentido, el pulgón del ciprés se encuentra considerado dentro de las 100 especies invasoras más dañinas del mundo (Lowe *et al.*, 2004), pues a fines de la década de los 80 de siglo XX, *C. cupressi* llevó casi a la extinción a especies cupresáceas nativas en África (Ciesla, 1991). Hoy en día, se sabe que las especies exóticas invasoras son la segunda causa de amenaza y extinción de especies, precedida tan sólo por la pérdida de hábitat (Walker & Steffen, 1997; Badii & Landeros, 2007).

Durante el tiempo que esta especie invasora ha permanecido en Chile se han detectado dos especies de hongos entomopatógenos produciendo epizootias, pero han sido poco estudiadas y no se ha realizado una búsqueda sistemática de estos agentes controladores en el país (Montalva *et al.*, 2010). En Brasil, bajo condiciones de laboratorio, se han logrado altos porcentajes de control sobre la especie *Cinara atlántica* Wilson, mediante el uso de *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas (Leite *et al.*, 2005). Más de 750 especies de hongos son patógenos de insectos y muchos de ellos ofrecen un gran potencial para el manejo de plagas succionadoras como los pulgones (Rabindra & Ramanujam, 2007). Por otra parte, el uso de estos organismos para controlar plagas tiene bajo impacto ambiental comparado a los insecticidas, junto con ser más específicos y económicos (Rodríguez & Arredondo, 2007).

El estudio de hongos entomopatógenos en Chile asociados a *C. cupressi*, ha recibido alguna atención sólo en los últimos años y podría ser un valioso complemento al control biológico efectuado por el parasitoide introducido *Pauesia juniperorum* Sary. En este contexto, este trabajo plantea realizar prospecciones de hongos entomopatógenos asociados a *C. cupressi* en dos regiones ecológicas del sur de Chile y determinarlos primariamente a nivel genérico.

Los aislamientos obtenidos se utilizarán en una nueva investigación (Parte II) que permita seleccionar sus

grados de patogenicidad y efectuar la clasificación mediante taxonomía fenética y genética de las especies más efectivas, con la finalidad de proponer nuevas alternativas de control en las poblaciones de estos insectos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La prospección de hongos que afectan al pulgón del ciprés, se realizó en dos transectos de la cordillera de la Costa a cordillera de los Andes, un transecto en la Región ecológica Mediterránea Per-Húmeda, situada entre los 37°00' y los 38°40' S y otro transecto en la Región ecológica Oceánica con influencia Mediterránea, situada entre los 38°40' y los 43°47' S. En los transectos de ambas regiones ecológicas se establecieron 6 sitios de muestreo, sin embargo en la Región ecológica Oceánica con influencia Mediterránea se tomó un sitio más de muestreo, debido a que solo en esta área se encuentra alerce. En cada uno de estos sitios, se seleccionaron y recolectaron 10 ramas basales de cipreses que crecen en el lugar de muestreo (alerce, ciprés de California y ciprés de la cordillera) con presencia de pulgones (Ciesla, 1991). Las muestras fueron depositadas en bolsas plásticas, las cuales se rotularon con la siguiente información: lugar (nombre del área y coordenadas geográficas), altura, fecha y observaciones adicionales como estado del insecto, signo, síntomas y condiciones climáticas (Cañedo & Ames, 2004) (Datos no incluidos en resultados). Posteriormente fueron llevadas al laboratorio de entomología del Servicio Agrícola y Ganadero en Osorno.

Las ramas de 20 cm, con colonias de *C. cupressi* fueron depositadas en un matraz con agua y éste dentro de una cámara bioclimática con temperatura de 20 ± 2 °C y fotoperiodo de 16 horas luz: 8 horas oscuridad, para generar las condiciones que los hongos necesitan para su desarrollo (Cespedes *et al.*, 2008). A los 7 días se evaluaron los pulgones que se encontraban sobre las ramas, aquellos muertos con desarrollo de micelio sobre su cuerpo y se depositaron individualmente en frascos plásticos (40 x40 mm). Luego, para el aislamiento de los insectos, estos últimos se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad Austral de Chile, Valdivia, donde los pulgones con micelio se depositaron en placas Petri que contenían agar quitina al 2%; las placas fueron incubadas en una estufa a 23 ± 1 °C por 5 días. Posteriormente, se rescató individualmente micelio de los hongos que surgieron y se sembraron en placas Petri que contenían agar malta al 2% (AM), las cuales fueron incubadas a 23 ± 1 °C por 5 días. Finalmente, a partir de las colonias que se desarrollaron en el AM se realizaron preparaciones microscópicas utilizando agua y lactofenol como líquidos de montaje; en las preparaciones se observaron y midieron las estructuras

de valor taxonómico (esporas, células conidiogénicas y estructuras de resistencia) y posteriormente fueron comparadas con las que aparecen en claves taxonómicas (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1988; Humber, 1997; Barnett & Hunter, 1998) para establecer solo hasta el rango de género a las cepas fúngicas en estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 13 cepas fúngicas obtenidas en cultivo puro, provenientes tanto de pulgones tratados en laboratorio como de pulgones que en terreno presentaban micelio sobre su cuerpo, fueron asignadas a 4 géneros de hongos (Tabla 1).

En la mayoría de los lugares muestreados se encontraron pulgones produciendo daño en especies cupresáceas, excepto en el Monumento Natural Alerce Costero, lugar en que los alerces se encontraban sanos sin problemas provocados por insectos y el sector costero El Manzano, cercano al Parque Nacional Nahuelbuta, donde los cipreses de la cordillera tampoco presentaban daño por pulgones. Por lo observado en terreno, cabe hacer notar que hay una preferencia de *C. cupressi* hacia

permitió que se asociara a estos cipreses nativos. Sin embargo, en *C. macrocarpa* se observó, que en todos los lugares de muestreo, los árboles estaban afectados por los pulgones.

Cinco integrantes del género *Verticillium* Nees ex Link, (Fig.1), fueron aislados desde pulgones recolectados en ambas regiones, todos ellos presentaban un micelio blanco sobre el cuerpo (Fig. 1a). La particularidad de *Verticillium* es que sus mitosporas se forman sobre las hifas y se encuentran expuestas libremente al medio ambiente (Agrios, 1996). El género *Verticillium*, se caracteriza por presentar conidióforos solitarios o verticilados y postrados (1d), que llevan apicalmente masas de conidios hialinos (1c), unicelulares, subglobosos, ovoides, falcados, fusiformes, subcilíndricos y no presenta estructuras de latencia (Zare *et al.*, 2000). Los conidios miden 5,8-10,5 x 3,0-4,0 μm (Sugimoto *et al.*, 2002). Estas medidas y descripción concuerdan con lo observado en todas las cepas de *Verticillium* obtenidas en el presente trabajo y posiblemente correspondan a *V. lecanii*, dado que esta especie es entomopatógena principalmente de pulgones (*Aphididae*) y mosquitas blancas (*Aleyrodidae*) (Milner, 1997). Se han desarrollado cepas de *V. lecanii* altamente virulentas y epizoóticas como agentes biocontroladores

Tabla 1. Taxas fúngicas aislados de pulgones provenientes de ambas regiones ecológicas.

Géneros	Lugar procedencia	Pulgón hospedero	Árbol hospedero
<i>Verticillium</i> sp.	Curacautín	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Verticillium</i> sp.	Paillaco	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Verticillium</i> sp.	Llifén	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Verticillium</i> sp.	Segundo Corral	<i>Cinara thujafilina</i>	<i>Austrocedrus chilensis</i>
<i>Verticillium</i> sp.	Futaleufú	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Austrocedrus chilensis</i>
<i>Paecilomyces</i> sp.	Angol	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Paecilomyces</i> sp.	Collipulli	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Paecilomyces</i> sp.	Paillaco	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Paecilomyces</i> sp.	Llifén	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Fusarium</i> sp.	Angol	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Fusarium</i> sp.	Mehuín	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Fusarium</i> sp.	Mehuín	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>
<i>Neozygites</i> sp. ?	Osorno	<i>Cinara cupressi</i>	<i>Cupressus macrocarpa</i>

el hospedero *Cupressus macrocarpa*. Según lo descrito por el Instituto Forestal (2008), debería haberse encontrado *C. cupressi* asociado a *Austrocedrus chilensis* en ambas regiones ecológicas, lo que no ocurrió, solo se encontró en la región ecológica Oceánica con influencia Mediterránea, esto puede deberse a la alta densidad poblacional de *C. cupressi* durante aquellos años, lo que

de ciertos insectos (Hall, 1984; Hsiao *et al.*, 1992; Yokomi & Gottwald, 1998) y desde 1990, los productos comerciales tales como Mycotal y Vertalec obtenidos de este hongo, son usados contra mosquitas blancas y áfidos, respectivamente (Hall, 1984; Lenteren, 2003; Allendes, 2007). *V. lecanii* también es un micoparásito de royas (Spencer & Atkey, 1981; Allend, 1982). Vu *et al.*, (2007)

señalan que la aplicación de *V. lecanii* bajo condiciones de laboratorio a una concentración de 1×10^7 conidios/mL sobre poblaciones de *Myzus persicae*, produjo una mortalidad del 50% de la población a los 2,1 días de aplicación, mientras que el uso de este entomopatógeno sobre poblaciones de *Aphis gossypii* produjo una mortalidad del 50% a los 1,5 días a una temperatura de 25 °C y 75% de humedad relativa. Saranya *et al.* (2010), obtuvieron un 100% de mortalidad de adultos de *Aphis craccivora* al sexto día bajo condiciones de laboratorio, ambos estudios demuestran que cepas de *Verticillium* podrían ser agentes controladoras del pulgón del ciprés, por ello se debe determinar la especie aislada y evaluar su virulencia.

Otros aislados corresponden a integrantes del género *Paecilomyces* Bain. (Fig. 2a), obtenidos desde pulgones recolectados en ambas regiones ecológicas, este género está relacionado con *Penicillium*, pero se distingue de este último principalmente por las fialides divergentes, que consisten en una base dilatada que va disminuyendo en un cuello más largo y delgado (Domsch, 1980). Conidióforos erectos, mononematosos, pero las especies en insectos a menudo son sinnematosas, verticiladas, con ramas divergentes y fialides; conidios (3-4 x 1-2 µm) unicelulares, hialinos o ligeramente pigmentados, en cadenas divergentes secas, de paredes lisas o a veces espinosas (Samson *et al.*, 1988). De los 4 aislados obtenidos 3 son semejantes a *P. fumoroseus*, una especie que se utilizó por Gokse & Kubilay (2005) contra ninfas de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*). Los resultados que obtuvieron estos autores bajo condiciones de laboratorio a 24 °C, fue entre un 10% (Pfr4401) y un 80% (Pfr4406) de mortalidad al sexto día post-aplicación. Vu *et al.* (2007), mediante el uso de *P. farinosus* (J67) obtuvieron un 50% de mortalidad de la población de *M. persicae* a los 3,75 días y de *A. gossypii* a los 2,16. Por lo tanto, los integrantes del género *Paecilomyces* también pueden ser considerados como entomopatógeno que deben ser evaluados, por su efectividad como biocontroladores.

Otros 3 aislamientos corresponden a integrantes del género *Fusarium* Link ex Fr. (Fig. 2b), obtenidos desde pulgones muertos después de haber permanecido 7 días en la cámara bioclimática y se caracterizaron por su rápido crecimiento, con colonias de diversos colores conidióforos solitarios o agrupados en esporodoquios, que consisten en verticilos de células conidiógenas fialídicas; fialides en forma de botella a menudo con varias aberturas (polifialides) y la producción de dos tipos de conidios: (1) macroconidios (20-70 µm) en forma de plátano, con uno a varios tabiques transversales, por lo general liberados en cabezas viscosas o en masas de esporas. (2) microconidios (8-10 µm), unicelulares, pequeños, ovalados a cilíndricos, producidos en falsas cabezas o en cadenas (Domsch, 1980;

Samson *et al.*, 1988). La diversidad morfológica macro y microscópica de los 3 aislados, hace pensar en la presencia de morfotipos diferentes que deberán clasificarse si se demuestra su virulencia frente a este pulgón. Al igual que *Verticillium* y *Paecilomyces*, algunas especies de *Fusarium* como *F. semitectum* se ha utilizado contra el pulgón *M. persicae* (Asharani *et al.*, 2009) y los resultados obtenidos en ensayos han arrojado un 62% de mortalidad de adultos después de 6 días de la aplicación con aspersión de $4,2 \times 10^9$ conidios/mL y de 84% de mortalidad de ninfas después de 6 días de la aplicación con aspersión de $4,2 \times 10^9$ conidios/ml.

Finalmente y en baja frecuencia, se determinó la presencia de un integrante del género *Neozygites* Wiltaczil (Fig. 2c-e), este hongo se ha detectado en las prospecciones realizadas por el SAG, en pulgones provenientes de Valdivia y Osorno; no se ha logrado desarrollar en condiciones de laboratorio, debido a que es un parásito obligado, en base a esto, se está buscando un medio de cultivo que proporcione los nutrientes adecuados para su desarrollo. Las características de este hongo son: esporangióforos no ramificados; cuerpos hifales de forma irregular; esporas primarias en su mayoría con forma de pera, redondeadas con papilas truncadas, a menudo con cuatro núcleos con heterocromatina, capas de la pared no separadas y esporas secundarias casi exclusivamente en alargados tubos curvados germinales capilares. Si están presentes las esporas de reposo, se observa con su esporo de color negro. Los hongos de este género se asocian principalmente a insectos de los órdenes **Hemiptera** y **Thysanoptera** y ácaros. (Samson *et al.*, 1988; Humber, 1998). *Neozygites fresenii* Nowakowski, esta especie llamada y descrita como *Empusa fresenii* por Nowakowski (1883), fue descubierta infectando pulgones naturalmente en Polonia (Barta & Cagán, 2006). Un estudio en Estados Unidos demostró que *N. fresenii* aislado de *A. gossypii* de Arkansas al ser utilizado contra *A. gossypii* de California fue capaz de infectarlo exitosamente (Steinkraus *et al.*, 2002). Remaudiere & Latgé (1985) en México, encontraron *N. turbinata* (Kenneth) en una colonia de *Cinara curvipes* (Patch.), estos se encontraban llenos de esporas de resistencia típicas del hongo, en este estudio se considera a *N. turbinata* como patógeno específico de pulgones de la subfamilia **Lachninae**. *N. cinarae* Keller, fue colectada en una plantación de *Picea abies* Karst. en colonias del pulgón *Cinara pilicornis* (Hartig) en Suiza, *N. cinarae* está estrechamente relacionada desde el punto vista morfológico y taxonómico a *N. fresenii* y *N. microlophii* Keller. Esta puede ser distinguida principalmente por el largo de sus conidios, el número de núcleos en el conidio y el tamaño del tubo capilar (Barta & Cagán, 2006).

Todos los hongos asociados a *C. cupressi* identificados en este estudio han sido utilizados contra

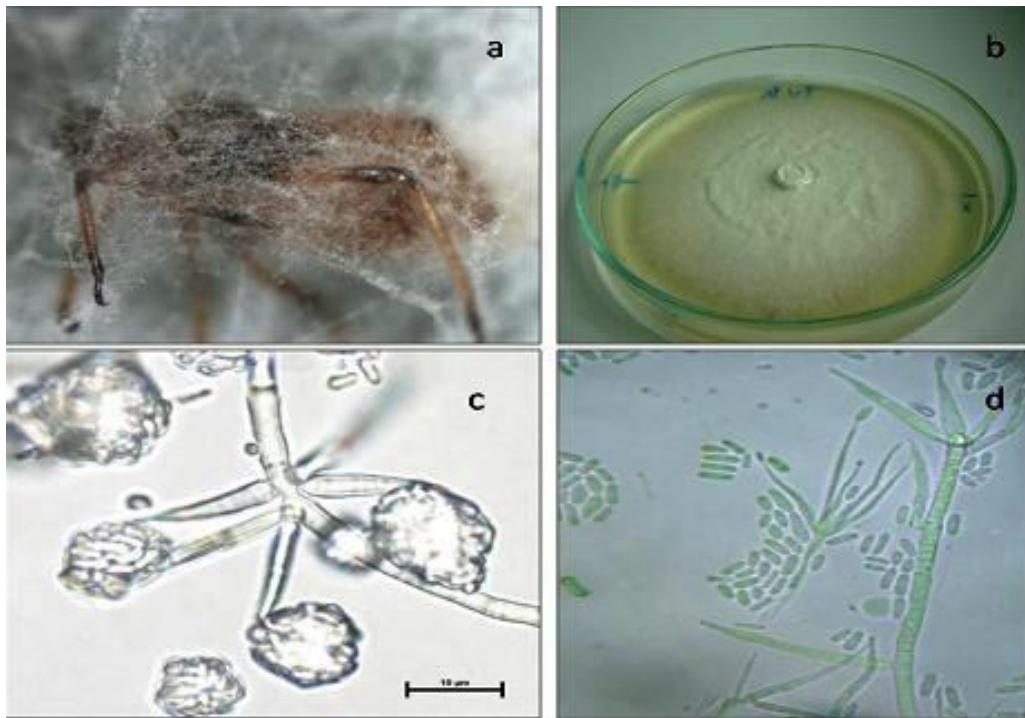


Figura 1. a. Pulgón muerto con micelio de *Verticillium* , b. Colonia de *Verticillium* sp. en agar malta, c - d. Conidióforo y conidios de *Verticillium* sp.

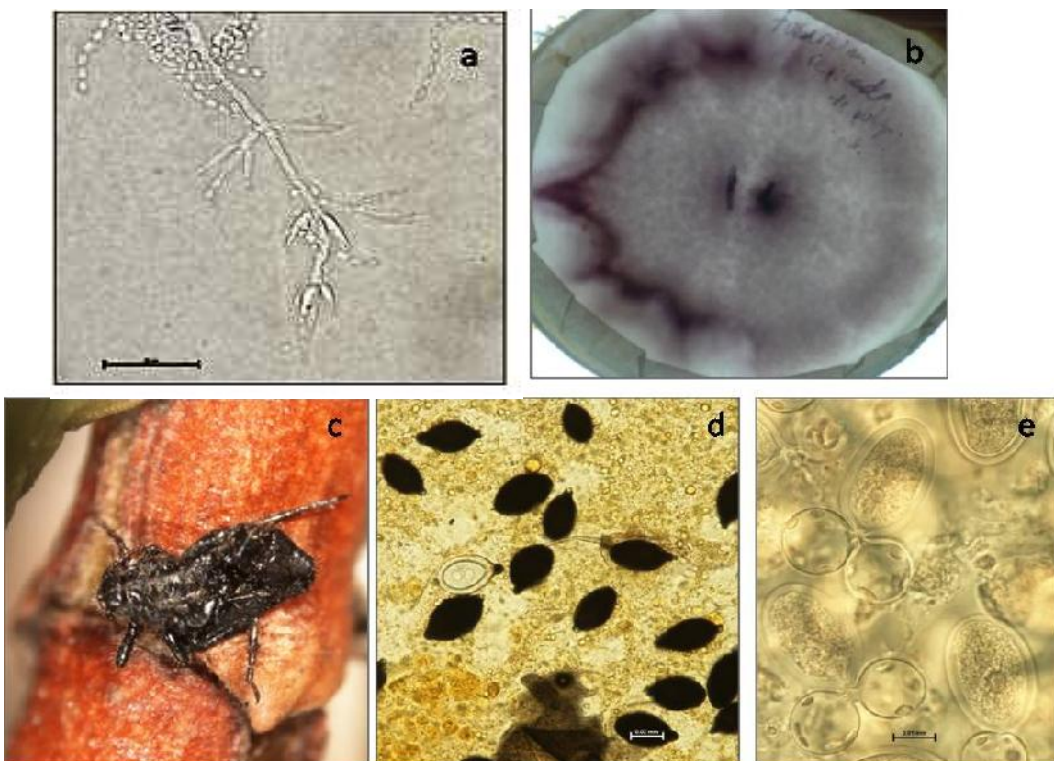


Figura 2. a. Conidióforo de *Paecilomyces* sp., b. Colonia de *Fusarium* sp. en agar malta al 2%, c. Entomophthorid en pulgón, d - e. Esporas de latencia

pulgonos pero no todos han tenido los mismos resultados, algunos han sido más exitosos que otros, en base a esto, cada cepa se evaluará con posterioridad con el fin de determinar la especie que presente la mayor virulencia, para proponer su uso dentro del manejo integrado de la plaga.

REFERENCIAS

- Agrios, G.** (1996). Fitopatología. Tercera edición. Editorial Limusa, México.
- Aguayo, J.; Sartori, A. & Baldini, A.** (2005). El complejo *Cinara cupressi* (Hemiptera: Aphididae): una amenaza para las cupresáceas nativas de Chile. Nota Técnica, 23 N° 46.
- Allend, D.** (1982). *Verticillium lecanii* on the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. Transactions of the British Mycological Society 79:362-364
- Allendes, G.** (2007). Evaluación de ocho cepas de nativas de *Metarhizium anisopliae* (Metsh) Sorokin., para el control de *Aleurothrixus floccosus* (Maskell). Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile.
- Asharani, A.; Manjunatha, M.; Naik, M.; Shivanna B.; Gayathridevi, S.; Pradeep, S.** (2009). Evaluation of fungal pathogen, *Fusarium semitectum* Berk and Ravenel against tobacco aphid under laboratory and greenhouse conditions. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 22:495-498
- Badii, M. & Landeros, J.** (2007). Invasión de especies o el tercer jinete de apocalipsis ambiental, una amenaza a la sustentabilidad. International Journal of Good Conscience 2:39-53
- Barnett, H. & Hunter, B.** (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. Mac Millan. Minnesota, USA.
- Barta, M. & Cagáñ, L.** (2006). Aphid-pathogenic Entomophthorales (their taxonomy, biology and ecology). Biología, Bratislava 61:543-616
- Cañedo, V. & Ames, T.** (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú.
- Céspedes, Y.; del Pozo, E.; García, I. & Méndez, A.** (2008). Efecto de la temperatura sobre el hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson y su efectividad sobre *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith. Revista de Protección Vegetal 23:176-182
- Ciesla, W.** (1991). The Cypress aphid, *Cinara cupressi* (Buckton) in Africa. FAO (Food and Agriculture Organization). Exotic aphid pests of conifers: a crisis in african forestry. Kenia, África.
- Domsch, K.; Gams, W. & Anderson, T-H.** (1980). Compendium of Soil Fungi, Vol. 1. IHW-Verlag. London, Gran Bretaña.
- Hall, R.** (1984). Epizootic potential for aphids of different isolates of the fungus *Verticillium lecanii*. Entomophaga 29:311-321
- Hsiao, W.; Bidochka, M. & Khachatourians G.** (1992). Effect of temperatura and relative humidity on the virulence of the entomopathogenic fungus, *Verticillium lecanii*, toward the oat-bird berry aphid, *Rhopalosiphum padi* (Hom., Aphididae). Journal of Applied Entomology 114:484-490
- Humber, R.** (1997). Fungi: Identification. En: Manual of techniques in insect pathology. Biological Techniques Series. Academic Press. New York, USA. pp.153-185
- Humber, R.** (1998). Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA Workshop. American Phytopathological Society/Entomological Society of America Joint Annual Meeting. Las Vegas, USA.
- Instituto Forestal (INFOR).** (2008). Manejo integrado: Técnica para la recuperación del crecimiento de *Austrocedrus chilensis*. Santiago, Chile.
- Leite, M., Penteado, S., Zaleski, S., Camargo, J. & Ribeiro, R.** (2005). Seleção de isolados de *Verticillium lecanii* para o controle de *Cinara atlantica*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40:1141-1144
- Lenteren, J.** (2003). Quality control and production of biological control agents Theory and testing procedures. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Liebholt, A.; Macdonald, W.; Bergdahl, D. & Mastro, V.** (1995). Invasion by Exotic Forest Pests: A Threat to Forest Ecosystems. Forest Science Monographs 30.
- Liebholt, A. & Tobin, P.** (2008). Population Ecology of Insect Invasions and Their Management. Annual Review of Entomology 53:387-408
- Lowe, S.; Browne, M.; Boudjelas, S. & De Poorter, M.** (2004). 100 de las especies invasoras más dañinas del mundo. Una selección del Global Invasive Species Database. http://www.issg.org/pdf/publications/worst_100/english_100_worst.pdf (Julio, 2010)
- Milner, R.** (1997). Prospects for pesticides for aphid control. Entomophaga 42:227-239
- Mondor, E.; Tremblay, M. & Messing, R.** (2007). Morphological and ecological traits promoting aphid colonization of the Hawaiian Islands. Biological Invasions 9:87-100
- Montalva, C.; Rojas, E.; Ruiz, C. & Lanfranco, D.** (2010). El pulgón del ciprés en Chile: una revisión de la situación actual y antecedentes del control biológico. Bosque 31:81-88
- Rabindra, R. & Ramanujam, B.** (2007). Microbial control of sucking pests using entomopathogenic fungi. Journal of Biological Control 21:21-28
- Remaudiere, G. & Latgé, J.** (1985). Importancia de los hongos patógenos de insectos (especialmente *Aphididae* y *Cercopidae*) en Méjico y perspectivas de uso. Bol. Serv. Plagas 11:217-225
- Rodríguez, L. & Arredondo, H.** (2007). Teoría y aplicación del control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México.
- Saranya, S.; Ushakumari, R.; Sosamma, J. & Babu, M.** (2010). Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). Journal of Biopesticides 3:138-142

- Servicio Agrícola y Ganadero (SAG)** (2005). Nueva distribución de plagas. Informativo Fitosanitario Forestal 1:1-5
- Samson, R.; Evans, H. & Latgé, J.** (1988). Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, Berlin, Alemania.
- Silva, J.; Sartori, A. & Baldini, A.** (2005). El complejo *Cinara cupressi* (Hemiptera: Aphididae): una amenaza para las las cupresáceas nativas de Chile. Corporación Nacional Forestal. Nota Técnica, año 23 N° 46.
- Spencer, D. & Atkey P.** (1981). Parasitic effects of *Verticillium lecanii* on two rust fungi. Transactions of the British Mycological Society 77: 535-542.
- Steinkraus, D.; Boys, G. & Rosenheim, J.** (2002). Classical biological control of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) with *Neozygites fresenii* (Entomophthorales:Neozygitaceae) in California cotton. Biological Control 25:297-304
- Sugimoto, M.; Koike, M.; Hiyama, N. & Nagao, H.** (2002). Genetic, morphological, and virulence characterization of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. Journal of Invertebrate Pathology 82:176-187
- Vu, V.; Hong, I. & Kim, K.** (2007). Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. Journal of Bioscience and Bioengineering. 104:498-505
- Walker, B. & Steffen, W.** (1997). An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems. Conservation Ecology 1(2) <http://www.consecol.org/vol1/iss2/art2/> (Julio, 2010).
- Watson, G.; Voegtlin, D.; Murphy, S. & Fottit, R.** (1999). Biogeography of the *Cinara cupressi* complex (Hemiptera: Aphididae) on Cupressaceae, with description of a pest species introduced into Africa. Bulletin of Entomological Research 89: 271-283
- Yokomi, R. & Gottwald T.** (1998). Virulence of *Verticillium lecanii* isolates in aphids determined by detached-leaf bioassay. Journal Invertebrate Pathology 51:250-258
- Zare, R., Gams, W. & Culham, A.** (2000). A revision of *Verticillium* section *Postrata* I. Phylogenetic studies using ITS sequences. Nova Hedwigia 71:465-480