



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN DEL EFECTO INSECTICIDA DE *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseus*, SOBRE MOSQUITA BLANCA (*Bemisia tabaci*) EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L)

T E S Í S

(Idónea Comunicación de Resultados)

Que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTA

ING. MICAELA PUCHETA DIAZ

Comité Tutorial

Dr. Antonio Flores Macias
Director

M en C. Silvia Rodríguez Navarro
Asesor

Dra. Mayra de la Torre Martínez
Asesor

Febrero 2006

"La Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana"

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la unidad Xochimilco
aprobó la tesis que presentó

MICAELA PUCHETA DÍAZ

El día ____ de _____ del año 2006

Comité Tutorial:

Director: _____
Dr. Antonio Flores Macias

Asesor: _____
M en C. Silvia Rodríguez Navarro

Asesor: _____
Dra. Mayra de la Torre Martínez

I. ANTECEDENTES.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1 Hongos entomopatógenos como agentes de control biológico.....	3
2.2 Relación patógeno-hospedero.....	3
2.3 Características de los hongos entomopatógenos.....	4
2.4 Mecanismo patogénico y degradación de cutícula.....	5
2.5 Toxinas de hongos entomopatógenos.....	7
2.6 Selección y mejoramiento de cepas.....	9
2.7 Producción y formulación.....	10
2.8 Productos formulados con entomopatógenos.....	12
2.9 Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci</i>	13
2.10 Pérdidas ocasionadas por <i>Bemisia tabaci</i>	14
2.11 Resistencias de <i>Bemisia tabaci</i> a insecticidas químicos.....	15
III. OBJETIVOS e HIPÓTESIS.....	16
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1 Caracterización biológica de bioinsecticidas.....	17
4.2 Evaluación de campo – invernadero.....	19
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1 Caracterización biológica de bioinsecticidas.....	22

5.2 Evaluación de campo – invernadero.....	27
VI. CONCLUSIÓN.....	41
VII. LITERATURA CITADA.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Principales hongos entomopatógenos e insectos que controla.....	3
Cuadro 2	Bioinsecticidas comerciales formulados con hongos entomopatógenos.....	12
Cuadro 3	Nivel de contaminación.....	18
Cuadro 4	Caracterización biológica de <i>Beauveria bassiana</i>	22
Cuadro 5	Caracterización biológica de <i>Metarhizium anisopliae</i>	23
Cuadro 6	Caracterización biológica de <i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	25
Cuadro 7	Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en el estrato bajo de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.	28
Cuadro 8	Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en el estrato medio de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.	29
Cuadro 9	Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en el estrato alto de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.	30

- Cuadro 10 Valores porcentuales de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* en el los tres estratos estudiados de las plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004. 31
- Cuadro 11 Matriz de doble entrada en la que se muestran los tratamientos y las variables climáticas que mostraron altos coeficientes de determinación ($R^2 \geq 0.7$) 40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Distribución a nivel mundial de mosquita blanca.	13
Figura 2	Ciclo de vida de mosquita blanca.....	14
Figura 3	Colonia de <i>Beauveria bassiana</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.....	23
Figura 4	Colonia de <i>Metarhizium anisopliae</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.	24
Figura 5	Colonia de <i>Metarhizium anisopliae</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.	24
Figura 6	Colonia de <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.	25
Figura 7	Colonia de <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.	26
Figura 8	Colonia de <i>Paecilomyces fumosoroseous</i> en medio de cultivo agar papa dextrosa.	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Relación de humedad mínima – insectos micosados.	33
Gráfico 2	Relación de humedad máxima - insectos micosados.	34
Gráfico 3	Relación de promedio de humedad - insectos micosados.	35
Gráfico 4	Relación de temperaturas mínimas – insectos micosados.....	36
Gráfico 5	Relación de temperaturas máximas – insectos micosados.....	36
Gráfico 6	Relación de temperatura promedio – insectos micosados.....	37
Gráfico 7	Relación de radiación máxima – insectos micosados.	38
Gráfico 8	Relación de radiación promedio – insectos micosados.....	38

RESUMEN

Existen diversos factores que afectan la productividad en el campo. De entre ellos, las plagas de insectos sobresalen por las cuantiosas pérdidas que pueden provocar en poco tiempo. En México, el frijol es el cultivo que ocupa el segundo lugar en superficie sembrada, forma parte de su dieta básica y sufre el ataque de plagas. Entre ellas, la mosquita blanca se ha considerado a partir de 1991 como un verdadero problema fitosanitario ya que ha estado provocando pérdidas económicas resultantes de bajas en su productividad e incrementos en costos por la necesidad de realizar aplicaciones extras de insecticidas. El hecho de que los insecticidas químicos se empleen intensivamente y de manera indiscriminada en su combate, ha generado grandes desequilibrios en el agroecosistema, favorecido la aparición de poblaciones resistentes y la disminución de enemigos naturales. Estudios realizados sobre plaguicidas muestran que solo 1% de ellos llega hasta el organismo blanco. El 99% restante se queda en el ecosistema como contaminante. Una respuesta a esta situación está en la Agrobiotecnología, la que mediante el uso de microorganismos y sus productos aplicados al manejo integrado de plagas resulta una alternativa promisorio al problema de plagas y al uso excesivo de insecticidas químicos.

Entre los microorganismos utilizados para el control biológico de insectos plaga, como la mosquita blanca, están los hongos entomopatógenos que son capaces de producir una enfermedad en los insectos. Sólo algunos hongos entomopatógenos han sido estudiados a fondo como: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brogniartii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Langenedium giganteum*.

En la presente investigación se evaluaron tres hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* recomendados comercialmente para el control de mosquita blanca *Bemisia tabaci*. El objetivo del trabajo fue caracterizarlos y evaluar su efecto bioinsecticida sobre mosquita blanca

Bemisia tabaci (Gennadius) en el cultivo de frijol. El trabajo se realizó en las siguientes etapas.

1. Caracterización biológica de tres bioinsecticidas. En esta etapa se determinó la cantidad de conidias presentes en un 1g del producto; para conocer la viabilidad se realizó el conteo de conidias germinadas y no germinadas; se estudio la pureza del producto definiendo la cantidad porcentual de microorganismos contaminantes presentes en 1g del producto; finalmente, se tipificó el hongo comparando las estructuras morfológicas encontradas en el producto con las reportadas bibliográficamente.
2. Evaluación de la inocuidad de los bioinsecticidas sobre el cultivo de frijol.
La inocuidad fue determinada mediante la siembra en medio de cultivo de fragmentos de hoja, con posterior determinación del posible crecimiento de hongos fitopatógenos.
3. Evaluación el efecto bioinsecticida de los tres hongos sobre la densidad poblacional de *Bemisia tabaci* (Gennadius) y su comportamiento en cuanto a su distribución en estratos del dosel vegetal. En esta etapa se montó un experimento bajo condiciones de invernadero en el que se evaluaron cuatro tratamientos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseous* y un testigo –sin aplicación-). Cada tratamiento fue aplicado sobre plantas de frijol previamente infestadas con mosquita blanca. El dosel vegetal fue dividida en tres estratos (bajo, medio y alto) y sobre ellos se realizó el muestreo de insectos micosados. Análisis estadísticos fueron realizados a los datos obtenidos.
4. Realización de un análisis de regresión entre algunas variables climáticas y los estadios micosados estudiados. Esta última etapa tuvo como finalidad el determinar posibles asociaciones entre el número de organismos micosados y las variables climáticas de humedad, temperatura y radiación solar.

La caracterización biológica mostró que la cantidad de conidias y la viabilidad del producto resultaron menores que las reportadas por el fabricante. En cuanto a la tipificación y la presencia de microorganismos contaminantes no se encontraron diferencias con lo reportado en el producto.

Al no encontrarse el crecimiento de hongos fitopatógenos en los medios de cultivo utilizados, se infiere que no existen evidencias para no acreditar la prueba de inocuidad.

La acción de los micoinsecticidas sobre el control de mosquita blanca no mostró un patrón de comportamiento en cuanto a estratos del dosel vegetal y de los estadios micosados del insecto plaga. Los tres hongos mostraron un comportamiento bioinsecticida superior respecto al testigo. El hongo *B. bassiana* resultó el mejor tratamiento para el control del estadio adulto de mosquita blanca. Fue *Metarhizium anisopliae* el que mostró el mayor número de casos con superioridad bioinsecticida en el conjunto de la planta.

No se encontró un patrón de comportamiento en cuanto a la asociación entre las variables climáticas y la acción micoinsecticida de las tres especies de hongos evaluadas. El tratamiento con el hongo *B. bassiana* fue el que mostró mayor número de asociaciones (coeficientes de regresión positivos) con altos coeficientes de determinación ($R^2 \geq 0.7$) entre las variables climáticas y los estadios micosados

Abstract.

Several issues affect productivity of the fields. Insect pests are more notorious among them because of the enormous losses they may cause in little time. In México, beans occupy the second place on cultivated areas, are part of the basic diet, and suffer attacks by pests. For instance, whitefly has been deemed, as from 1991, as a real phytosanitary problem since it has been causing economic losses as a result from lower productivity and higher costs due to additional pesticides' applications. The fact that chemical pesticides are being intensively used without discrimination to fight it has generated huge imbalances in the agro-ecosystem, favoring the offspring of more resilient populations, and a decrease of natural enemies. Studies conducted on pesticides show that only 1% of them reaches their target organism. Remaining 99% stays on the ecosystem as pollutant. Agro-biotechnology is one answer to this situation, through the use of micro-organisms and their byproducts on integrated management of pest results in a promising alternative to pest problems and the excessive use of chemical pesticides.

Entomopatogen fungi, capable of causing a disease on insects, are among the micro-organisms used for biological control of insect pests, such as whitefly. Only a few entomopatogen fungi have been seriously studied, such as: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brogniartii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Langenedium giganteum*.

Three entomopatogen fungi are assessed on the foregoing study, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* commercially recommended to control whitefly, *Bemisia tabaci* the purpose of this study is to characterize them and assess their bio-pesticide effect on whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), on bean crops. This study was conducted in three stages.

1. Biological characterization of the three bio-pesticides. Quantity of conidia present

in 1 g of the product was determined in this stage; germinated and non-germinated conidia count was conducted in order to learn viability; product's purity was studied by defining the percentage of contaminant micro-organisms present in 1 g of the product; and, finally, fungi were typified comparing morphological structures found in the product with those bibliographically reported.

2. Assess safety of bio-pesticides on bean crops. Safety was determined planting leave fragments in the middle of the crop, and then determine potential grow of phytopathogen fungi.
3. Assessment of the bio-pesticide effect of the three fungi on *Bemisia tabaci* (Gennadius) population, and its behavior regarding their distribution on vegetable canopy strata. An experiment under greenhouse conditions was executed in this stage to assess four treatments (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* and one control –no application-). Each treatment was applied on bean plants previously infested with whitefly. Vegetable canopy was divided into three strata (low, medium, high), and sampling of fungi infested insects was conducted therein. Statistical analyses were conducted with gathered data.
4. Conduct a regression analysis among various weather variables and studied fungi infested stages. This last stage served to determine the possible relationships between the numbers of fungi infested organisms and weather variables such as humidity, temperature, and solar radiation.

Biological characterization showed that conidia quantities and product viability are lower than reported by the manufacturers. Regarding typification and presence of contaminant micro-organisms, there were no differences found from product's reports.

The action of micro-pesticides controlling whitefly did not show a behavioral pattern regarding vegetable canopy strata and fungi infested stages of the pest. *Metarhizium anisopliae* showed, in all strata, a bio-pesticide behavior higher than the other two species as compared to control for the egg, nymph I, nymph II, nymph III and pupa. All

three fungi showed a bio-pesticide behavior higher than control.

The lack of phytopathogen fungi growth in the crop media used suggests there is no evidence to keep from certifying this safety test.

No behavior pattern was found regarding association between weather variables and micro-fungicide action of the three assessed fungi species. Treatment with *Beauveria bassiana* showed the highest number of associations (positive regression rates) with high determination rates ($R^2 \geq 0.7$) between weather variables and fungi infested stages.

I. ANTECEDENTES

Durante el desarrollo de la humanidad la relación productiva entre sociedad y naturaleza se ha basado en una serie de conocimientos generados en el proceso de la práctica productiva, donde un ataque de insectos plaga puede significar la diferencia entre el éxito o el fracaso de cualquier tipo de agricultura. La “revolución verde” iniciada en 1940, desarrolló un gran número de productos químicos para su aplicación en los sistemas agrícolas con el propósito de proteger a los cultivos de daños causados por insectos (Glick y Pasternak, 1998; Tengerdy y Szakács, 1998). El uso de agroquímicos logró controlar muchas plagas y patógenos para los que no existían medidas de control eficientes, resultando ser mucho más rápidos, baratos y con un espectro de acción más amplio que los enemigos naturales (Asaff *et al.*, 2002). Si bien los insecticidas químicos han permitido un control eficaz de las plagas (Gelman *et al.*, 2001), se ha establecido que estos compuestos son altamente perjudiciales para la salud humana y los ecosistemas; además, por su persistencia en el ambiente, favorecen que los insectos plaga sean resistentes a ellos, lo que ha motivado el uso de dosis cada vez mayores o de productos cada vez más tóxicos. Esto ha generado mucha preocupación en el ámbito mundial, por lo que ahora los científicos se enfrentan a la necesidad de buscar alternativas efectivas y ecológicamente menos nocivas al entorno para el control de plagas (Herrera y Carsolio, 1998). Una de las alternativas es el control biológico, definido como la manipulación de los enemigos naturales de los insectos plaga para limitar su población. A estos organismos se les llama agentes de control, entre los que se encuentran insectos depredadores y parásitos, así como microorganismos patógenos de los insectos (Nuñez, 2000; Asaff *et al.*, 2002). Este método tiene grandes ventajas, ya que elimina o reduce el uso de insecticidas y si el agente biológico introducido se establece adecuadamente, el control es durable y se abaten inversiones posteriores; en este aspecto difiere del uso de insecticidas químicos, los cuales requieren de aplicaciones repetidas (Herrera y Carsolio, 1998). Los agentes de control biológico son de gran importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad natural de regular las poblaciones de insectos plaga, debido a la interacción patógeno-hospedero, en muchos casos específica, desarrollada por un proceso evolutivo, ya que el insecto puede ejercer una presión de selección que favorece a pocos genotipos del

patógeno, donde su actividad patogénica es expresada respecto al hospedero (Maurer *et al.*, 1997)

Existen microorganismos que actúan como agentes de control que son conocidos como bioinsecticidas los que incluyen a diferentes géneros y especies de bacterias, hongos, nemátodos y virus (De Liñan, 2001; Asaff *et al.*, 2002). El uso de agentes microbianos para el control de plagas prácticamente estaba restringido a la aplicación de *Bacillus thuringiensis*; sin embargo, en los últimos años se han introducido otros hongos entomopatógenos producidos y comercializados masivamente a bajo costo para dar solución a problemas de baja producción y pérdidas económicas de cultivos (CIAD, 2003). El objetivo principal en el uso de los bioinsecticidas es lograr una agricultura sustentable, ya que con ello se busca reducir la dependencia de químicos sin afectar la productividad en campo (Boyetchko *et al.*, 1999; Menn y Hall, 1999; Gelman *et al.*, 2001; Tamez *et al.*, 2001).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Hongos entomopatógenos como agentes de control biológico

Se ha reconocido el potencial que tienen los hongos entomopatógenos como agentes de control, ya que constituyen un grupo muy grande con más de 750 especies en casi 100 géneros, la mayoría de los cuales se encuentra clasificado entre las divisiones Zigomicota (Entomoptorales), Deuteromicota (hifomicetos) y Ascomicota (Hegedus y Khachatourians, 1995; Khachatourians, 1996), que pueden parasitar insectos; estos grupos taxonómicos son encontrados comúnmente en la naturaleza (Deshpande, 1999; Milner, 2000). Sin embargo, sólo algunos hongos entomopatógenos (Cuadro 1) han sido estudiados a fondo como: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Langenedium giganteum* (Wraight *et al.*, 1998; Monzón, 2001)

Cuadro 1. Principales hongos entomopatógenos e insectos que controla.

Especie	Insecto plaga
<i>Beauveria bassiana</i>	Langostas, chapulines, áfidos, escarabajos, mosquita blanca
<i>Beauveria brongniartii</i>	Moscas, escarabajos
<i>Langenedium giganteum</i>	Mosquitos
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Termitas, chapulines, gallina ciega, langostas, picudos del chile y algodón, escarabajos
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquita blanca
<i>Lecanicillium (Verticillium) lecanii</i>	Áfidos, trips, mosquita blanca

Adaptado de Wraight *et al.*, 1998

2.2 Relación patógeno-hospedero

Los hongos entomopatógenos son de gran importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad natural para regular las poblaciones de los insectos; dicha capacidad depende de la susceptibilidad del hospedero o de la asociación patógeno–hospedero. En este último caso, el insecto huésped puede ejercer una presión de selección tal, que favorezca a pocos genotipos del patógeno, es decir, aislados donde la diversidad patogénica sea expresada en términos de especialización respecto al hospedero (St. Leger *et al.*, 1992; Maurer *et al.*, 1997). Para que la manifestación epizoótica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores ambientales físicos y químicos

tienen una enorme influencia. Dentro de los primeros, se encuentran los nutrimentos, que son aquellos elementos necesarios para que un microorganismo satisfaga sus requerimientos nutricionales y obtenga energía. Entre los factores físicos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioleta, la temperatura, la humedad relativa y los funguicidas. La susceptibilidad y la relación con los hospederos dependen de los nutrimentos presentes en los insectos, que son el medio para su propagación, dispersión y persistencia. Las esporas de los hongos entomopatógenos se valen para su desarrollo de requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedante (Hajek, 1997). Además, los hongos entomopatógenos destacan por su mecanismos de infección, ya que no necesitan ser ingeridos (Carruthers y Hural, 1990), pudiendo ocurrir la infección entre las partes bucales, membranas intersegmentales o a través de los espiráculos (Charnley, 1997; Kershaw y Talbot, 1998; Jeff *et al.*, 1997)

2.3 Características de los hongos entomopatógenos

La estructura de la pared celular de los hongos esta constituida por polisacáridos (80%), proteínas (3 a 20%), lípidos, pigmentos y sales inorgánicas en cantidades menores. La quitina es el polisacárido característico de la pared celular en hongos e insectos; es un polisacárido no ramificado constituido de N-acetil-D-glucosamina (NAcGlc), los monómeros están unidos por enlaces β -1,4 y la quitina forma microfibrillas. Existen tres tipos de quitina α , β , γ . Las proteínas están en forma de glicoproteínas, la fracción glicosilada esta formada por galactosa y manosa (Ruiz, 1991; Wessels, 1999); los lípidos en la pared celular de los hongos están presentes en un rango de 1 a 10% de su peso seco; los ácidos grasos más abundantes son C16 y C18. La coloración característica de la pared celular se debe a la presencia de melaninas, producto de la oxidación de diferentes fenoles. La importancia de estos pigmentos se debe a su carácter protector ante efectos deletéreos ocasionados por la luz o por las enzimas líticas (Ruiz, 1991).

Los cambios en la pared celular y su composición ocurren durante diferentes etapas de desarrollo de los hongos mediante el ensamblaje de los componentes celulares como polisacáridos microfibrilares, la asociación de polisacáridos de reforzamiento y de complejos de proteínas (glicoproteínas). Las glicoproteínas inician su ensamblaje a nivel de lumen, en el interior del retículo endoplásmico rugoso; posteriormente, son transportadas a diferentes compartimientos membranosos del retículo endoplásmico liso y el aparato de Golgi hasta alcanzar la superficie celular mediante el aparato vesicular. Este conglomerado vesicular conduce a las glicoproteínas y otros componentes hacia la pared celular pasando por la membrana plasmática; los otros componentes siguen estas rutas metabólicas para integrarse a la pared celular, tanto para la formación de la espora como del desarrollo de micelio (Ruiz, 1991; Wessels, 1999; Harold, 1999).

2.4 Mecanismo patogénico y degradación de cutícula

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infectivo en los insectos hospedantes cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero (Jones, 1994), y forman túbulos germinales y a veces el apresorio, que sirve para el anclaje de la espora y que, en conjunto, facilitarán la invasión del hongo (Deshpande, 1999; Milner, 2000). En tanto se lleva a cabo la unión del hongo a la cutícula, un complejo celular de glicoproteínas junto con fenoloxidasas y lectinas intervienen en el reconocimiento del insecto para dar inicio a la respuesta inmunológica. La infección del patógeno puede llevarse a cabo siempre y cuando en el momento del reconocimiento, el insecto sea susceptible o exista en éste un sitio de infección penetrable. La conidia se vale de señales químicas y topológicas a nivel de epicutícula externa para dar inicio a la patogénesis (Hajek, 1997). El proceso inicia con el hinchamiento de la espora, favorecida por una humedad alta (70% durante 14 horas), la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto (Hegedus y Khachatourians, 1995; Khachatourians, 1996). La pared celular de la espora, mediante su capa de fibrillas elásticas compuesta de hidrofobinas e inmersas en un conjunto de elementos de las

glicoproteínas, específicamente lectinas y hemaglutininas, actúan como intermediarios en el reconocimiento de la cutícula del insecto. Éstas también intervienen en la adhesión y diseminación de las esporas, favorecida por sus secreciones extracelulares de consistencia musilaginosa; en conjunto con fuerzas de atracción de Van der Waals, hidrofóbicas y uniones de hidrógeno. Se ha sugerido que iones divalentes como el Ca^{+2} y el Mg^{+2} reducen las fuerzas de repulsión electrostática de la superficie de la cutícula del insecto, por lo que se puede afectar su hidrofobicidad y promover la adhesión pared celular-cutícula, creándose condiciones favorables para el establecimiento de la espora y la subsecuente invasión del hospedero (Jeffer *et al.*, 1997; Barnes y Moore, 1997; Kershaw y Talbot, 1998; Wessels, 1999). Los lípidos que se encuentran en la cutícula de los insectos, inhiben la germinación de los conidios, debido a una respuesta tóxica fungicida o fungistática, ya que actúa como barrera en la matriz de quitina en el exoesqueleto del insecto, previniendo que la espora entre en contacto con los nutrientes y se dispare la señal de germinación (James *et al.*, 2003). La acción mecánica se origina por la formación del tubo germinativo mediante el proceso de polarización típico del crecimiento apical de los hongos que estimula la síntesis de la pared celular. Los iones de hidrógeno y calcio entran en la punta de la hifa a través de un mecanismo de transporte pasivo, y son expulsados por mecanismos dependientes de la energía de desfosforilación del adenil trifosfato (ATP) a adenil mono-fosfato cíclico (AMPC). Este flujo transcelular permanece constante y mantiene el desarrollo del tubo germinativo y la formación del apresorio (Riquelme *et al.*, 1998; Harold, 1999; Wessels, 1999). El tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula (Wessels, 1999).

Una vez anclada la espora mediante el apresorio, este ejerce una presión hacia el interior del insecto. Paralelamente, el hongo excreta una gran cantidad de enzimas entre las que se incluyen proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas que van degradando la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo (Monzón, 2001). Una vez dentro del insecto, el hongo prolifera formando placas de penetración y cuerpos hifales secundarios, que se ramifican en la

procutícula conformada principalmente de fibrillas lameladas de quitina embebidas en una matriz proteínica que actúa como cubierta física protectora ante las secreciones extracelulares del patógeno. La resistencia mecánica de la cutícula dependerá del grado de la dureza por esclerización. Posteriormente, los cuerpos hifales se encuentran con la capa epidérmica y con su respectiva membrana basal, para diseminarse a través del hemocele (Deshpande, 1999), invadiendo diversas estructuras como tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico, membrana nuclear, además de causar parálisis celular. A diferencia de otros hongos entomopatógenos, *Paecilomyces fumosoroseus* forma cuerpos hifales semejantes a las levaduras (blastosporas) (Borror *et al.*, 1989; Roberts y Hajek, 1992; Clarkson *et al.*, 1998). Al ser penetrada la cutícula del insecto hasta el hemocele la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos. Algunos son utilizados como nutrimentos pero otros pueden inhibir su crecimiento ya que activan respuestas inmunes del insecto como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento (St. Leger y Roberts, 1997). Sin embargo, los hongos llegan a desarrollar cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomoduladoras que les permiten evitar este tipo de defensas (Khachatourians, 1991). Al agotarse los nutrimentos, el hongo inicia un crecimiento micelial invadiendo todos los órganos del hospedero. Finalmente, las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada (Gillespie y Claydon, 1989).

2.5 Toxinas de hongos entomopatógenos

Literatura de las últimas décadas cita un considerable número de metabolitos secundarios de bajo peso molecular que han sido aislados de patógenos de insectos, muchos de los cuales han demostrado poseer una actividad insecticida marginal (Gillespie y Claydon, 1989). Muchas especies de hongos entomopatógenos son capaces de producir ácidos orgánicos, algunos de los cuales han sido implicados en el proceso infeccioso. Se ha reportado la producción de ácido oxálico por *Beauveria* spp., *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii*, *Paecilomyces* spp. y *Metarhizium anisopliae* (Hegedus y Khachatourians, 1995). Este compuesto ha sido descrito como un factor de

virulencia en hongos fitopatógenos y se ha sugerido que en el caso de los hongos entomopatógenos sea un factor coadyuvante a la solubilización de la proteína cuticular (Bidochka y Khachatourians, 1991). Otro compuesto importante producido por *Beauveria* spp., *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii*, *Paecilomyces* spp. y *Metarhizium anisopliae* es el ácido 2,6-piridindicarboxílico (ácido dipicolínico), que posee propiedades insecticidas contra larvas de *Calliphora erythrocephala* (Claydon y Grove, 1982).

Paecilomyces fumosoroseus se utiliza actualmente para el control biológico de la mosquita blanca (*Bemisia tabaci* y *B. argentifolii*). Asaff *et al.*, (2005) reportan que la fermentación en cultivo sumergido de *Paecilomyces fumosoroseus* produjo abundante micelio, conidias y blastoesporas los cuales fueron tóxicos a las ninfas de mosquita blanca. Se encontró que el ácido dipicolínico es el metabolito más importante encontrado en el sobrenadante en cultivo sumergido. También se han reportado toxinas peptídicas cíclicas y lineales; a las primeras pertenece una familia de péptidos cíclicos conocidos como depsipéptidos. El primer compuesto de esta naturaleza en ser caracterizado fue la beauvericina extraída del micelio de *Beauveria bassiana*, y posteriormente se han aislado de diferentes especies de *Fusarium* y *Paecilomyces* (Logrieco *et al.*, 1998), entre estos depsipéptidos se encuentran las eniatinas aisladas de *Fusarium* (Grove y Pople, 1980), que son tóxicas contra larvas de *Choristoneura fumiferana* (Strongman *et al.*, 1987). La acción insecticida de estos depsipéptidos es específica para ciertos grupos de insectos y su toxicidad se debe más bien a la acción sinérgica de un complejo de compuestos, entre los que se incluye la beauvericina, más bien que a la acción aislada de uno solo de ellos. La beauvericina es sintetizada de manera similar a las eniatinas y en su biosíntesis interviene una enzima multifuncional conocida como eniatina sintetasa cuya expresión es constitutiva (Billich y Zocher, 1988). Dos ciclotetrapéptidos muy parecidos denominados beauverólidos H e I fueron aislados del micelio de *B. bassiana* y *B. brongniartii* aunque no tuvieron actividad insecticida. También se aislaron beauverólidos L y La del micelio de *Beauveria tenella* y *Paecilomyces fumosoroseus*; estos compuestos tienen una fuerte acción inmunomoduladora pero no efecto insecticida (Jegorov *et al.*, 1994). Otro metabolito

aislado de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, conocido como basianólido mostró una fuerte acción insecticida tanto por ingestión como por inyección contra larvas de gusanos de seda *Bombix mori* (Kanaoka *et al.*, 1978). Algunos aislados de hongos entomopatógenos producen otro tipo de toxinas llamadas destruxinas, de entre ellas, la dimetildextruxina y la protodextruxina, están relacionadas con la virulencia (Guillespie y Claydon, 1989; Kershaw *et al.*, 1998; Monzón, 2001). Las destruxinas son los compuestos mejor caracterizados y su modo de acción ha sido el más estudiado. También inhiben la síntesis de ADN, ARN y de proteínas en las células de los insectos (Quiot *et al.*, 1985). Además las destruxinas son capaces de inhibir la secreción de fluidos por el tubo de Malpighi en *Schistocerca gregaria* (James *et al.*, 1993). Las destruxinas A, B y E producidas por *Metarhizium anisopliae*, mostraron propiedades insecticidas al ser probadas en larvas de *Plutella xylostella*, y además en larvas y adultos de *Phaedon cochleariae* (Amiri *et al.*, 1999).

2.6 Selección y mejoramiento de cepas

La virulencia no depende únicamente del patógeno, es el resultado de una interacción de diferentes factores entre los que se encuentran la naturaleza del insecto y las condiciones ambientales. Generalmente la virulencia es expresada en términos de la LC₅₀ y TL₅₀, ya que no hay un estándar que la defina (Khachaturians, 1991). La LC₅₀ se puede definir como la cantidad de esporas por unidad de área para provocar una mortalidad del 50% en una población de insectos, mientras que el TL₅₀ es el tiempo en que se alcanza el 50% de mortalidad de los insectos a una dosis determinada (Vidal *et al.*, 1997; Wraight *et al.*, 1998). Para que un microorganismo patógeno de insectos pueda ser utilizado como agente de control biológico debe de tener las siguientes características: inocuo para los seres humanos, no patogénico a los cultivos, genéticamente estable, compatible con otros productos, resistente a la desecación y a las condiciones ambientales al momento de la aplicación y relación positiva de costo - beneficio (Monzón, 2001).

La selección de un microorganismo como agente de control conlleva las siguientes etapas: aislamiento e identificación del organismo, pruebas de eficacia y estabilidad,

pruebas de seguridad ambiental, preservación de cepas, posibilidades de formulación, pruebas sobre estabilidad en el almacenamiento, evaluación del costo del producto, investigación de mercado, comercialización y distribución del agente de control biológico. Además, se deben de tomar en cuenta los factores que propician una epizootia, la dinámica de la interacción de las plagas, los patógenos, el ambiente y virulencia de la cepa (Deshpande, 1999; Milner, 2000; Monzón, 2001). Además de la virulencia, se debe considerar la especificidad del hospedero y la temperatura que son factores importantes para la selección y desarrollo de un aislado como bioinsecticida. La mayoría de los aislados crecen bien a temperaturas entre los 15 y 30°C, aunque algunos se desarrollan bien entre 5 y 10°C y otros crecen entre 35 y 40°C (Kershaw *et al.*, 1999; Monzón, 2001). Aunque el antagonismo ocurre naturalmente y ocasiona la aparición de nuevos aislados, el mejoramiento genético juega un papel importante en el desarrollo de los agentes de biocontrol. Esto involucra un cruce genético convencional así como mutaciones, también pueden usarse técnicas avanzadas de la ingeniería genética para obtener cepas superiores. Es importante para el desarrollo de bioinsecticidas con aislados que éstos sean relativamente termoestables y tengan un alto grado de virulencia (Deshpande, 1999).

2.7 Producción y formulación

Los propágulos fúngicos vivos son las unidades infectivas de los hongos entomopatógenos, generalmente son esporas, por lo cual los procesos están orientados a obtener un máximo de producción que pueda infectar a hongos patógenos y a insectos. Ésta es la característica que distingue la producción de hongos como bioinsecticidas. Existen dos métodos para la producción de bioinsecticidas: la fermentación en sustrato sólido y en cultivo sumergido. La fermentación en sustrato sólido es fácil de llevar a cabo ya que se utilizan bolsas con paja de arroz y las esporas producidas como conidios aéreos tienden a ser más tolerantes al desecamiento y a la luz ultravioleta (UV). La fermentación en cultivo sumergido realizada en fermentadores, proporciona ventajas como el control de pH, la velocidad del agitador, la proporción de la aeración de las esporas, que permiten obtener la cantidad de biomasa conveniente para el almacenamiento. Para la formulación de bioinsecticidas, se usan estructuras

morfológicas específicas (esporas, blastoesporas, conidioesporas, etc.), las cuales permanecen viables por largos periodos de tiempo. Los propágulos fúngicos deben estar vivos al momento de su uso; por lo que su vida de anaquel mínima es de 18 meses a temperaturas de 20°C (Deshpande, 1999).

La formulación con hongos entomopatógenos es el proceso mediante el cual el ingrediente activo se mezcla con materiales inertes, que actúan como vehículos, solventes, emulsificantes, protectores de luz ultravioleta (UV), etc. Todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de partículas del hongo en el producto comercial, para poder ser manipuladas y darles mayor resistencia ante las condiciones ambientales al momento de ser aplicadas. Para ser formulado, la viabilidad de los hongos no debe ser menor de 95% y el contenido de humedad debe estar entre 4 y 6%. La viabilidad de las conidias en el tiempo es mayor cuando el hongo ha sido debidamente formulado, en comparación con los productos que no han pasado por este proceso. Los dos tipos de formulaciones son el polvo humectable y el líquido emulsificable. En el polvo humectable, se utiliza un vehículo de origen animal o vegetal que ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable. El líquido emulsificable utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido utilizado tiene la función de mantener suspendidas las conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además, este líquido debe evitar la absorción de agua por las conidias y mantener su viabilidad. Ambas formulaciones son de fácil manejo y su uso depende de la disponibilidad. Los materiales utilizados en la formulación deben presentar las siguientes características (Jenkins *et al.*, 1998; Monzón, 2001):

- a) no debe tener actividad biológica sobre animales o plantas
- b) ser inocuos al ambiente
- c) tener características físicas adecuadas para mezclarse con las conidias
- d) facilitar la aplicación del producto
- e) no debe afectar la actividad del hongo
- f) debe ser económicamente rentable

2.8 Productos formulados con entomopatógenos

En la actualidad, los bioinsecticidas representan sólo el 1.3% del mercado global, estimándose que en las próximas décadas el crecimiento de productos químicos será del 2%, mientras que el de los bioinsecticidas alcanzará entre un 10 y 15% (Baum *et al.*, 1999). En el cuadro 2 se enlistan algunos productos formulados con hongos entomopatógenos.

Cuadro 2. Bioinsecticidas comerciales formulados con hongos entomopatógenos.

PRODUCTO	HONGO	INSECTO PLAGA	PRODUCTOR
Naturalis	<i>Beauveria bassiana</i>	Mosquitas blancas y áfidos	Trío Biosciences, EUA
Mycontrol-GH-OF	<i>Beauveria bassiana</i>	Langostas y chapulines	Mycotech, EUA
Botani-Gard	<i>Beauveria bassiana</i>	Mosquitas blancas y áfidos	Mycotech, EUA
Conidia	<i>Beauveria bassiana</i>	Broca del café	AgrEvo, Alemania.
Ostrinil	<i>Beauveria bassiana</i>	Barrenador del maíz	NPP (Calliope), Francia.
Boverol	<i>Beauveria bassiana</i>	Escarabajo rojo	República Checa/Eslovaquia
Boversil	<i>Beauveria bassiana</i>	Escarabajo rojo	República Checa/Eslovaquia
BeaSin	<i>Beauveria bassiana</i>	Mosquitas blancas, picudos del chile y del algodón	Agrobionsa, México.
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	Broca del café, mosquita blanca, chapulines	Centro Nacional de Referencia de Control Biológico
Bio-Fung	<i>Beauveria bassiana</i>	Chapulines	Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato
BioGreen	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Escarabajo cabeza roja	Australia
Bioplast	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Termitas	EcoScience, EUA
Bio 1020	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Gorgojo del vino	Bayer, Alemania
Green Muscle	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Langostas y chapulines	Cabi, Reino Unido
MetaSin	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Picudos del chile y el algodón	Agrobionsa, México.
Fitosan-M	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Gallina ciega, chapulines	Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato
DiTerraEs	<i>Myrothecium verrucaria</i>	Nemátodos de las cucurbitáceas	Abbott-DuPont
PFR-97	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquitas blancas y áfidos	Termo Trilogy, EUA
PreFeRai	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquitas blancas	BioBest, Bélgica
PaeSin	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquitas blancas	Agrobionsa, México.
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquitas blancas, chicharritas	Comité de Sanidad Vegetal de Guanajuato
Loginex	<i>Langenedium giganteum</i>	Mosquitos	AgraQuest, EUA.
Mycotal	<i>Verticillium lecanii</i>	Mosquitas blancas y trips	Kopper, Holanda
Vertalec	<i>Verticillium lecanii</i>	Áfidos	Kopper, Holanda
VertiSin	<i>Verticillium lecanii</i>	Áfidos	Agrobionsa, México.
Betel	<i>Beauveria brongniartii</i>	Mosca pinta	NPP (Calliope), Francia
Engerlingspiz	<i>Beauveria brongniartii</i>	Escarabajos	Andermatt, Suiza
Schweizer	<i>Beauveria brongniartii</i>	Escarabajos	Eric Schweizer, Suiza
Melocont	<i>Beauveria brongniartii</i>	Escarabajos	Kwizda, Australia

Wraight *et al.*, 1999; Butt *et al.*, 1999; Tamez *et al.*, 2001

2.9 Mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera:Aleyrodidae)

La utilización de micoinsecticidas ha tenido resultados positivos en el control de las diferentes especies de mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae) que en su conjunto constituyen uno de los grupos de plagas más importantes a nivel mundial (Figura 1) (Nava *et al.*, 1998; Ortega, 1991; García *et al.*, 1999; Martín *et al.*, 2000; Crafts 2001, Rivera *et al.*, 2002) ya que cuenta con alrededor de 1200 especies en 126 géneros (Byrne *et al.*, 1991; Ortega, 1991.). Es una plaga polífaga que ataca a más de 500 especies de plantas hospedantes correspondientes a 74 familias (Brown *et al.*, 1995, Cano *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2001; Gelman *et al.*, 2001).



Figura 1 Distribución a nivel mundial de mosquita blanca (Ortega, 1991)

Las mosquitas blancas son insectos hemimetábolos cuyo ciclo de vida incluye una etapa de huevecillo, 4 estadios ninfales y el adulto. Al último estadio ninfal se le denomina comúnmente “pupa”. El ciclo biológico es de 20 a 27 días y es capaz de reproducirse durante el invierno, aunque debido a la baja en su metabolismo, éste se

extiende considerablemente; la tasa de oviposición es de 48 a 394 huevecillos por hembra. Cada estadio tiene una duración que varía de 5 a 6 días para el primero, 2 a 4 días para el segundo y de 4 a 6 para el tercero. La fase de pupa dura aproximadamente de 6 a 10 horas. Cuando la temperatura fluctúa entre los 20 y 28°C, la duración del estadio ninfal incluyendo a la pupa, es de 10 a 14 días (Figura 2) (Ortega, 1991).

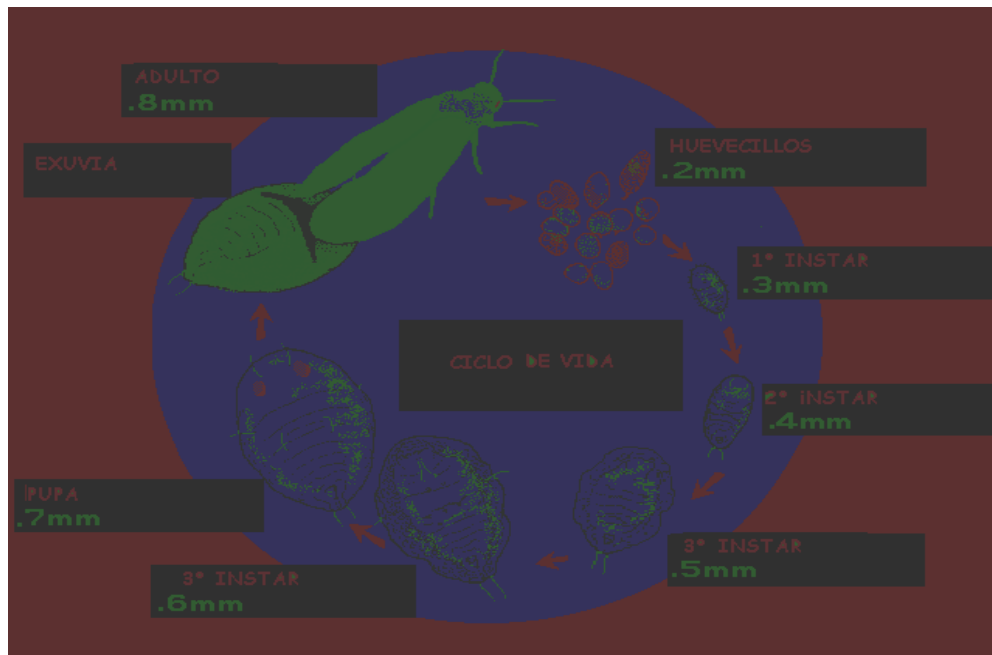


Figura 2. Ciclo de vida de mosca blanca (Ortega, 1991)

2.10 Pérdidas ocasionadas por *Bemisia tabaci*

En campo o invernadero, el ataque de mosca blanca a sus hospederos ocasiona pérdidas del 40 al 100% mediante su acción indirecta al transmitir más de 40 virus fitopatógenos en cultivos como el algodón, calabaza, berenjena, soya, pepino, tomate, lechuga, frijol, y flores de ornato como el crisantemo y la nochebuena (García *et al.*, 1999; Cano *et al.*, 2001; Gelman *et al.*, 2001; Nava *et al.*, 2001). Además, el insecto excreta una mielecilla sobre las hojas que favorece el desarrollo de una fungosis negra conocida como “fumagina” (Davidson *et al.*, 1994; Martín *et al.*, 2000; Gelman *et al.*, 2001; Nava *et al.*, 2001; Rivera *et al.*, 2002). En México, desde 1991, se ha presentado como un verdadero problema fitosanitario provocando pérdidas económicas estimadas en 100 millones de pesos; durante 1994 y 1996 ocasionó pérdidas en cultivos hortícolas del 40 al 100% y un incremento en al menos dos aplicaciones extras de insecticidas

(Cano *et al.*, 2001).

Entre las leguminosas afectadas por mosquita blanca está el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), que usualmente presenta altas infestaciones de esta plaga causando enfermedades virales como: el mosaico dorado del frijol, el enanismo moteado clorótico del frijol. Este es uno de los cultivos básicos más importantes debido a que muchas regiones del mundo dependen de este alimento como fuente de proteínas y carbohidratos (García *et al.*, 1999). A nivel nacional, este cultivo ocupa el 2° lugar en superficie sembrada con casi dos millones de hectáreas (SAGARPA, 2001).

2.11 Resistencia de *Bemisia tabaci* a insecticidas químicos

En México, para el combate de la mosquita blanca se utilizan principalmente insecticidas químicos, debido a que producen un efecto inmediato en poblaciones susceptibles y pueden poner rápidamente bajo control grandes poblaciones de insectos. El hecho de que los insecticidas químicos se empleen intensivamente y de manera indiscriminada, ha generado grandes desequilibrios en el agroecosistema, favorecido la aparición de poblaciones resistentes y la disminución de enemigos naturales (Cano *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2001; Gelman *et al.*, 2001). Es por ello, que los niveles de susceptibilidad o resistencia que han alcanzado las mosquitas blancas a los insecticidas, constituye una herramienta básica para la planeación y el manejo de los mismos, con el fin de evitar o retrasar la aparición de insectos resistentes (Ortega y Rodríguez 1995).

Se ha demostrado que las poblaciones de mosquita blanca han desarrollado resistencia a todos los grupos de insecticidas convencionales (Wardlow *et al.*, 1972; Wardlow, 1976, 1984, 1985; Elhag y Horn 1983, citados por Sanderson y Roush, 1992) y últimamente a grupos químicos con nuevos modos de acción, tales como los inhibidores de crecimiento (De Cock *et al.*, 1995).

III. OBJETIVOS e HIPÓTESIS

Los objetivos planteados en la presente investigación fueron:

Objetivo general

Caracterizar tres bioinsecticidas comerciales (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseous*) y evaluar su efecto bioinsecticida sobre mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el cultivo de frijol.

Objetivos particulares

1. Realizar la caracterización biológica de tres bioinsecticidas formulados con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseous*.
2. Evaluar la mortalidad causada por los bioinsecticidas sobre la densidad poblacional de *Bemisia tabaci* (Gennadius).
3. Determinar los niveles de infestación de mosquita blanca en diferentes estratos del dosel vegetal del frijol.
4. Determinar el daño ocasionado por mosquita blanca en el cultivo de frijol.

Hipótesis

Los bioinsecticidas formulados con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseous*, controlan a la mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en el cultivo de frijol.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Caracterización Biológica de bioinsecticidas

El trabajo de laboratorio se realizó en la planta piloto del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), Unidad Zacatenco del 25 de marzo al 26 de mayo de 2004.

Determinación de conidias g⁻¹ en bioinsecticidas

Se determinó la cantidad de conidias presentes en un 1g del producto. El conteo de las conidias se realizó en cámara de Neubauer utilizando un microscopio de contraste de fases marca Olympus CX31. Para realizar la determinación de conidias se preparó solución salina con Tween 80 al 0.05%, se agregó 1g de cada bioinsecticida para obtener diluciones en base 10, hasta obtener la dilución 10⁻¹⁰, la cual se utilizó para realizar el conteo de conidias. Se colocó el cubreobjetos de cuarzo sobre el hemocitómetro con un capilar, se transfirió el volumen suficiente a la cámara de Neubauer colocando la punta del capilar entre el cubreobjetos y la cámara. Se descargó por capilaridad hasta que se llenó con el volumen exacto, evitando dejar burbujas en su interior. Se dejó reposar después de la descarga durante 1 minuto y se contaron 25 cuadros de la cámara de Neubauer para determinar en número de conidias en 1g de los productos evaluados (García, 2003)

Viabilidad

Se preparó una solución salina con Tween 80 al 0.05%, se agregó 1g de cada bioinsecticida para obtener diluciones base 10 para sembrar en medio de cultivo las alícuotas de la solución con el hongo. La evaluación de la germinación de conidias se llevó a cabo a las 24, 48 y 72 horas después de la siembra de los hongos, utilizando para ello cajas Petri, incubándose a 26°C durante 72 horas. Se realizó un conteo de conidias germinadas y no germinadas (García, 2003).

Pureza

Se determinó la cantidad porcentual de microorganismos contaminantes presentes en

1g del producto analizado, empleando cajas de Petri con medio de cultivo para hongos y bacterias. Se prepararon diluciones en solución salina con Tween 80 al 0.05%, de los bioinsecticidas en base 10, para sembrarlas en los medios de cultivo sólido agar dextrosa sabouraud (SDA) y papa agar dextrosa (PDA), posteriormente las cajas se incubaron durante 5 días a temperaturas de 36°C. Al finalizar la incubación se tipificaron y contaron las colonias del hongo evaluando contaminaciones por levaduras y bacterias. La interpretación de los niveles de contaminación se presenta en el Cuadro 3 (García, 2003).

Cuadro 3. Nivel de contaminación

Número de colonias	Nivel de contaminación
1-5	contaminación baja
6-10	contaminación moderada
10-20	contaminación alta

Tipificación

Esta prueba cualitativa permitió establecer la presencia del hongo con base en estructuras morfológicas características. La presencia se determinó analizando sus estructuras (conidias, hifas y conidióforos) en un periodo de 3 a 7 días después de la siembra en el medio de cultivo agar dextrosa sabouraud (SDA) y papa agar dextrosa (PDA). Se preparó una solución salina con Tween 80 al 0.05%, se agregó 1g de cada bioinsecticida, se realizaron diluciones en base 10 para sembrar las cajas con medio sólido, adicionando 0.01 ml en cada una, para posteriormente incubarlas de 5 a 8 días a temperaturas de 24°C a 26 °C (Ortega y Rodríguez 1995). Para llevar a cabo la lectura de la muestra, se tomó del agar una alícuota de 0.01 ml en condiciones estériles para hacer un montaje en un portaobjetos, se adicionó lactofenol y se colocó sobre éste un cubreobjetos, en un microscopio de contraste de fases (García, 2003). Las estructuras típicas de los hongos analizados fueron comparadas con la descripción de Samson (1988) para hongos entomopatógenos.

4.2 Evaluación de campo-invernadero

Evaluación en campo

El trabajo se llevó a cabo en la zona de chinampas del Distrito Federal, México, bajo condiciones de invernadero en la Unidad para Agronegocios en Tecnologías Intensivas ubicada en Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X), durante el ciclo invierno-primavera 2004,

Debido a la posible existencia de un gradiente de iluminación y otro de movimiento de aire dentro del invernadero, se utilizó un arreglo experimental en cuadrado latino, en donde se evaluaron 4 tratamientos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseus* y un testigo –sin aplicación-) con 4 repeticiones. Cada unidad experimental incluyó 6 macetas de 7 pulgadas de diámetro sembradas con frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Flor de Mayo de crecimiento determinado. La siembra fue directa, colocándose seis semillas de frijol para finalmente dejar sólo cuatro plantas por maceta. El riego fue cada tercer día con 500 ml. de agua. La infestación se realizó cuando las plantas tenían dos folíolos, para lo cual se introdujeron las macetas en un área común cubierta con telas de organza de poro fino de 250 cm de largo por 70 cm. de ancho y 70 cm. de alto. En esta se colocaron hojas de frijol completas conteniendo principalmente pupas y adultos de *Bemisia tabaci* previamente identificadas (Ortega, 1995; Martín *et al.*, 2000), la cría de mosquita blanca fue proporcionada por el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Las hojas infestadas se colocaron en los cuatro puntos cardinales así como en el centro del área cubierta, realizándose una reinfestación 15 días después con el fin de asegurar la presencia de al menos 10 pupas del cuarto instar de mosquita blanca por planta. Una vez lograda esta población, se aislaron las seis macetas de cada unidad experimental mediante cajas de 70 x 70 x 70 cm. previamente construidas con estructura de PVC de ½ pulgada y cubiertas con tela de organza de poro fino, con la finalidad de evitar el paso de insectos entre unidades.

Para evitar la contaminación entre tratamientos, las cuatro aplicaciones de los micoinsecticidas fueron realizadas en el exterior del invernadero; la primera fue a los 38 días después de la siembra, en la etapa de emergencia del primer par de hojas; las tres siguientes fueron a intervalos de 15 días. Estas fueron dirigidas al envés del follaje, introduciendo la boquilla cónica dentro de la estructura cubierta con organza. La aplicación se realizó mediante una aspersora de mochila manual de 20 l a una presión de 75 a 90 libras por pulgada cuadrada. La concentración de ingrediente activo especificada en los tres productos comerciales fue de 5×10^9 conidias viables por gramo. Cuando fue necesario, se procedió a realizar un ajuste (García 2003) y con ello garantizar la concentración de conidias antes mencionada.

En la maceta central de cada unidad la densidad poblacional fue monitoreada 4 días después de cada aspersion. La planta central de la maceta monitoreada fue dividida en tres estratos (bajo de 1 a 6 folíolos, medio de 7 a 11 folíolos y alto más de 12 folíolos), en cada uno de los cuales se eligió al azar un folíolo, sobre el cual se marco, mediante un tubo de cobre de $\frac{1}{2}$ pulgada, un disco foliar de 1 cm^2 cercano a la nervadura central. Utilizando una lupa de relojero marca Jewel Magnifer de $\frac{5}{8}$ " de diámetro y aumentó 20x, fueron identificados y cuantificados los estadios huevo, ninfa 1, ninfa 2, ninfa 3, pupa y adulto micosados y no micosados en cada estrato (Nava, 1997; Byrne y Draeger, 1989; Ortega, 1992).

Con el fin de evaluar la inocuidad de los bioinsecticidas sobre el cultivo de frijol se tomaron al azar fragmentos de 1 cm^2 de hojas y tallos del cultivo. Los fragmentos se lavaron con solución salina y Tween 80 al 0.05% durante 60 minutos, se tomó un inóculo de 200 μl de dicha solución y se sembraron en placa de agar dextrosa sabouraud (SDA) y papa agar dextrosa (PDA), incubándose a 26° C durante 5 días y se revisaron diariamente para detectar el crecimiento de hongos fitopatógenos (García *et al.*, 1999).

Con base en el teorema del límite central, los datos obtenidos en cada muestreo se totalizaron mediante suma para cada uno de los tratamientos y para cada uno de los

estratos. Para corroborar la distribución normal de ellos, se aplicaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov; Cramer-von Mises y Anderson-Darling (Fowler *et al.*, 1997) Posteriormente, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y posterior comparación de medias mediante la prueba de Tukey. En caso de no comprobarse la distribución normal de los datos, se procedió a utilizar pruebas no paramétricas para interpretar los datos muestreados.

Durante el experimento se monitorearon cada minuto, mediante sensores conectados a una estación climatológica Hobo H21-001, las variables climáticas de temperatura máxima, mínima y promedio; de humedad máxima, mínima y promedio y los datos de radiación solar máxima, mínima y promedio. Estos datos fueron estudiados mediante análisis de regresión lineal, para lo cual se introdujeron en el eje de las Xs cada valor de una variable climática y en el eje de la Ys cada valor de los diferentes estadios, todo ello para cada monitoreo. Paralelamente, se determinaron los coeficientes de determinación con la finalidad de estudiar dichas variables climáticas y su asociación lineal con la sumatoria de los diferentes estadios micosados y no micosados (vivos) de mosquita blanca.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización biológica de bioinsecticidas

Las evaluaciones de los cuatro lotes de bioinsecticidas comerciales de hongos entomopatógenos se llevaron a cabo con diferentes lotes y fechas de formulación. Los resultados obtenidos sobre cuentas totales de conidias y cuentas viables en la caracterización biológica de los bioinsecticidas comerciales de *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* fueron menores a los reportados por el fabricante (Cuadro 4, 5 y 6).

Cuadro 4. Caracterización biológica de *Beauveria bassiana*.

Hongo	Lote	Fecha de producción	Fecha de caducidad	Fecha de evaluación	Cuenta formulador conidias g ⁻¹	Cuenta total conidias g ⁻¹	Cuenta viable conidias g ⁻¹	Apariencia
<i>Beauveria bassiana</i>	ND	22-03-2004	22-06-04	24-03-2004	5x10 ⁹	1.94x10 ¹⁰	1.40x10 ⁴	Polvo humectable color blanco cremoso
<i>Beauveria bassiana</i>	3984	05-03-2004	05-06-04	07-03-2004	5x10 ⁹	1.53x10 ¹⁰	9x10 ⁷	Polvo humectable color blanco cremoso
<i>Beauveria bassiana</i>	ND	03-05-2004	03-08-04	05-05-2004	5x10 ⁹	1.13x10 ¹¹	4.98x10 ¹⁰	Polvo humectable color blanco cremoso
<i>Beauveria bassiana</i>	ND	24-05-2004	24-08-04	26-05-2004	5x10 ⁹	1.03x10 ¹¹	3.2x10 ¹⁰	Polvo humectable color blanco cremoso

Información no disponible (ND)

La morfología colonial observada en el hongo *Beauveria bassiana* presentó conidias globosas o subglobosas en ocasiones ramificadas a una distancia corta debajo de cada una de varias conidias formadas apicalmente; la longitud de las conidias fue $\leq 3.5 \mu\text{m}$ aproximadamente; las colonias presentaron un color bronce gris (Figura 3), lo que coincide con la descripción reportada por Samson *et al.*, (1988)



Figura 3. Colonia de *Beauveria bassiana* en medio de cultivo agar papa dextrosa.

Cuadro 5. Caracterización biológica de *Metarhizium anisopliae*.

Hongo	Lote	Fecha de producción	Fecha de caducidad	Fecha de evaluación	Cuenta Formulador conidias g ⁻¹	Cuenta total conidias g ⁻¹	Cuenta viable conidias g ⁻¹	Apariencia
<i>Metarhizium anisopliae</i>	ND	22-03-2004	22-06-04	24-03-2004	5x10 ⁹	1X10 ¹⁰	6.26X10 ⁸	Polvo humectable color gris
<i>Metarhizium anisopliae</i>	3984	05-03-2004	05-06-04	07-03-2004	5x10 ⁹	6.25X10 ¹⁰	1.92X10 ⁸	Polvo humectable color gris
<i>Metarhizium anisopliae</i>	ND	03-05-2004	03-08-04	05-05-2004	5x10 ⁹	6.55X10 ¹⁰	2.65X10 ⁹	Polvo humectable color gris
<i>Metarhizium anisopliae</i>	ND	24-05-2004	24-08-04	26-05-2004	5x10 ⁹	3.95X10 ¹⁰	1.04X10 ¹⁰	Polvo humectable color gris

Información no disponible (ND)

En igual forma que lo reporta Samson *et al.*, (1988) el cultivo realizado a *Metarhizium anisopliae* presentó una morfología colonial de hifas lisas septadas, conidias predominantemente cilíndricas, en cadenas de sucesión basipétala, de un tamaño promedio de 5.2 mm de largo y de 2.6 mm de ancho; el crecimiento colonial del hongo se caracterizó por un desarrollo circular, con variados matices de verde (Figura 4 y 5).

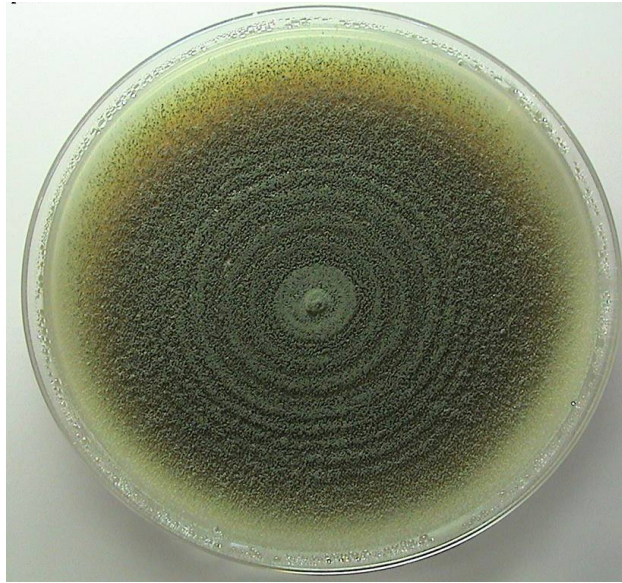


Figura 4. Colonia de *Metarhizium anisopliae* en medio de cultivo agar papa dextrosa.

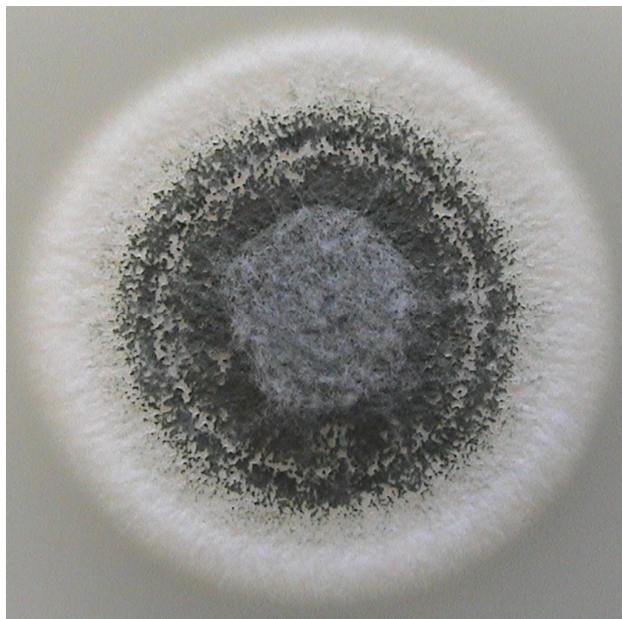


Figura 5. Colonia de *Metarhizium anisopliae* en medio de cultivo agar papa dextrosa

Cuadro 6. Caracterización biológica de *Paecilomyces fumosoroseous*.

Hongo	Lote	Fecha de producción	Fecha de caducidad	Fecha de evaluación	Cuenta Formulador conidias g ⁻¹	Cuenta total conidias g ⁻¹	Cuenta viable conidias g ⁻¹	Apariencia
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	ND	22-03-2004	22-06-04	24-03-2004	5x10 ⁹	8.02x10 ⁹	1.41x10 ⁹	Polvo humectable color blanco opaco
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	3984	05-03-2004	05-06-04	07-03-2004	5x10 ⁹	9.2x10 ¹⁰	6.82x10 ⁸	Polvo humectable color blanco opaco
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	ND	03-05-2004	03-08-04	05-05-2004	5x10 ⁹	3.3x10 ¹⁰	6.40x10 ¹⁰	Polvo humectable color blanco opaco
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	ND	24-05-2004	24-08-04	26-05-2004	5x10 ⁹	5.3x10 ¹⁰	4.7x10 ¹¹	Polvo humectable color blanco opaco

Información no disponible (ND)

La morfología de la colonia para la cepa de *Paecilomyces fumosoroseous* presentó conidias con una longitud $\leq 3.5 \mu\text{m}$ de forma ovoide, colonia de color rosado, cadenas de los conidióforos incoloras y hialinas (Figura 6, 7 y 8), lo que coincide con la descripción reportada por Samson *et al.*, (1988).



Figura 6. Colonia de *Paecilomyces fumosoroseous* en medio de cultivo agar papa dextrosa

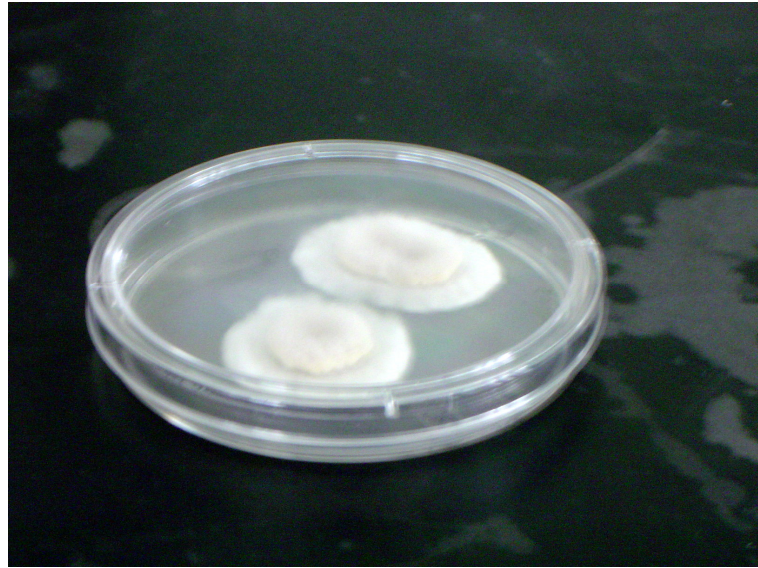


Figura 7. Colonia de *Paecilomyces fumosoroseus* en medio de cultivo agar papa dextrosa



Figura 8. Colonia de *Paecilomyces fumosoroseus* en medio de cultivo agar papa dextrosa

Con relación a la evaluación de pureza, se encontró un nivel bajo de contaminación por microorganismos presentes en los micoinsecticidas analizados; entre estos

contaminantes se observaron levaduras, bacterias *gram negativas* y los hongos *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma sp.* Estos contaminantes pudieron estar presentes en el ambiente o bien en los materiales empleados en el laboratorio durante el proceso de producción. Además, los contaminantes pueden comportarse como hiperparásitos, es decir alimentarse del hongo produciendo sustancias que inhiben el crecimiento y la formación de estructuras reproductivas. De acuerdo con Monzón (2001) los niveles bajos de contaminación, como el encontrado en esta evaluación, no afectan la calidad de los productos biológicos.

5.2 Evaluación de campo – invernadero

Estrato bajo del dosel vegetal de frijol

Las cuentas totales de los estadios huevo, ninfa1, ninfa 2, ninfa 3 y pupa mostraron una distribución normal. El estadio de adulto requirió ser transformado ($\text{Log } x+1$) para ser sometido a un análisis de varianza.

Para el estrato bajo (Cuadro 7) se observó que la densidad de población de los estadios micosados ninfa1, ninfa2, ninfa 3, pupa y adulto fue significativamente inferior en el testigo que en los tratamientos asperjados con cualquiera de los tres hongos evaluados. Sin embargo, en el estadio huevo, el tratamiento con *Metarhizium anisopliae* mostró un control significativamente superior con respecto al testigo. En este caso, los hongos *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseous* mostraron un control sin diferencias significativas con el testigo. *Metarhizium anisopliae* mostró un comportamiento superior a los demás tratamientos en el control de los estadios ninfa1, ninfa2 y pupa.

Cuadro 7. Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* en el estrato bajo de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.

TRATAMIENTO	Estadios inmaduros micosados de mosquita blanca (<i>B. tabaci</i>) cm ² . Estrato bajo del dosel vegetal de frijol					
	HUEVO	NINFA 1	NINFA 2	NINFA 3	PUPA	ADULTO*
Testigo	0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^b	0 ^c	0 ^c
<i>Beauveria bassiana</i>	52.00 ^{ab}	31.00 ^{ab}	31.25 ^b	30.50 ^a	36.50 ^b	1.49 ^a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	96.50 ^a	60.50 ^a	57.50 ^a	50.25 ^a	72.00 ^a	0.95 ^b
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	51.25 ^{ab}	32.25 ^{ab}	31.75 ^b	30.75 ^a	57.00 ^{ab}	0.74 ^b

*datos transformados LOG(x+1)

Medias con diferente letra dentro de cada columna presentan diferencias estadísticas (p < 0.05)

Beauveria bassiana fue el mejor micoinsecticida (Cuadro 7) para controlar estadios adultos de mosquita blanca en el estrato bajo del dosel vegetal de frijol, ocasionando una mortalidad del 56%, mientras que *Metarhizium anisopliae* fue el mejor micoinsecticida para controlar los estadios de ninfa 1, ninfa2 y pupa de mosquita blanca en el estrato bajo del dosel vegetal de frijol, ocasionando una mortalidad promedio de 50% (Cuadro 10).

Estrato medio del dosel vegetal de frijol

El análisis de los estadios ninfa 2 y adulto fue realizado mediante pruebas no paramétrica de Kruskal-Wallis (Fowler *et al.*, 1997) debido a que no mostraron una distribución normal con datos sin transformar y transformados. Las cuentas totales de los demás estadios mostraron una distribución normal.

En el estrato medio (Cuadro 8) se observó un comportamiento superior del efecto micoinsecticida de los tres hongos sobre todos los estadios huevo, ninfa 1, ninfa 3 y pupa, al ser comparados con el testigo. Para el estadio de huevos micosados, los tres hongos entomopatógenos se comportaron igual, ocasionando una infestación significativamente superior con respecto al testigo. *Metarhizium anisopliae* fue el mejor

micoinsecticida para controlar los estadios de ninfa 1 y pupa de mosquita blanca (mortalidad ocasionada del 55% y 44%, respectivamente) en el estrato medio del dosel vegetal de frijol. Con base en las pruebas de Kruskal-Wallis el tratamiento con *Metarhizium anisopliae* resultó superior en el estadio ninfa 2 que el testigo. Igualmente ocurrió con *Beauveria bassiana* para el estadio de adulto.

Cuadro 8. Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* en el estrato medio de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.

TRATAMIENTO	Estadios inmaduros micosados de mosquita blanca (<i>B. tabaci</i>) cm ⁻² . Estrato medio del dosel vegetal de frijol					
	HUEVO	NINFA 1	NINFA 2*	NINFA 3	PUPA	ADULTO*
Testigo	0 ^b	0 ^d	0	0 ^c	0 ^d	0
<i>Beauveria bassiana</i>	49.00 ^a	27.00 ^b	27.5	28.75 ^b	35.00 ^c	37.5
<i>Metarhizium anisopliae</i>	74.50 ^a	65.50 ^a	46.5	52.00 ^a	61.50 ^a	6.25
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	58.50 ^a	26.50 ^c	34.5	32.25 ^{ab}	44.25 ^b	2.25

*Datos sometidos a prueba de Kruskal-Wallis

Medias con diferente letra dentro de cada columna presentan diferencias estadísticas ($p < 0.05$)

Estrato alto del dosel vegetal de frijol

Las cuentas totales de los estadios huevo, ninfa1, ninfa 2, ninfa 3 y pupa mostraron una distribución normal. El estadio de adulto requirió ser transformado ($\log x+1$) para ser sometido a un análisis de varianza. La acción de los micoinsecticidas en el estrato alto (Cuadro 9) muestra que la densidad poblacional de los estadios micosados huevo, ninfa3 y pupa fue significativamente inferior en el testigo que en los tratamientos donde se aplicaron hongos. El efecto micoinsecticida de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* fue estadísticamente igual para casi todos los estadios excepto para el adulto. Al igual que en el estrato bajo, *Beauveria bassiana* fue el mejor micoinsecticida para controlar estadios adultos de mosquita blanca en el estrato alto del dosel vegetal de frijol, ocasionando una mortalidad del 50%. Los tratamientos con *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* no mostraron un control

significativamente diferente que el testigo.

Cuadro 9. Valores promedio de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* en el estrato alto de plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.

TRATAMIENTO	Estadios inmaduros micosados de mosquita blanca (<i>B. tabaci</i>) cm ⁻² . Estrato alto del dosel vegetal de frijol					
	HUEVO	NINFA 1	NINFA 2	NINFA 3	PUPA	ADULTO*
Testigo	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^b	0 ^c	0 ^b
<i>Beauveria bassiana</i>	74.25 ^{ab}	23.50 ^{bc}	22.75 ^{bc}	25.75 ^{ab}	29.00 ^b	1.5 ^a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	94.75 ^a	52.25 ^a	54.25 ^a	57.00 ^a	67.00 ^a	1.05 ^b
<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	39.75 ^{ab}	28.75 ^{ab}	37.75 ^{ab}	36.75 ^{ab}	43.00 ^{ab}	0.63 ^b

*datos transformados LOG(x+1)

Medias con diferente letra dentro de cada columna presentan diferencias estadísticas (p < 0.05)

Osborne *et al.*, (1990) reportan que todas las etapas de *Bemisia argentifolii* son altamente susceptibles a *P. fumosoroseous* con mortalidades mayores del 90% dentro de 72 horas y con aplicación de 10⁶ conidias mm⁻². En contraste con sus resultados, en el presente estudio *P. fumosoroseous* provocó una mortalidad promedio de 33% para todos los estratos y todos los estadios de *Bemisia tabaci* (Gennadius). Aunque Fargues y Rodríguez (1980) reportan a *P. fumosoroseous* como altamente virulento para el estadio huevo de *Mamestra brassicae* y *Spodoptera littoralis*, el mismo hongo no mostró una diferencia en su virulencia con respecto a los otros dos hongos evaluados; sin embargo, si tuvo un comportamiento superior con respecto al testigo. Vidal *et al.*, (1997) observaron que *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseous* son altamente patogénicos con rangos de mortalidad de 68 a 94% para los estadios de ninfa 2 y ninfa 3 de *Bemisia argentifolii*. Sin dejar de tener presente que se trata de otra especie de mosquita blanca, en el presente estudio resultó en un mejor control la utilización de *Metarhizium anisopliae* sobre el estadio de ninfa 2 en comparación con los hongos mencionados por ese autor. Aunque Garza y Arredondo (1993), reportaron diferencias estadísticas significativas de virulencia severa en aislados mexicanos de *B. bassiana* y *P. fumosoroseous*; en el presente experimento fue *Metarhizium anisopliae* el

tratamiento que mostró una superioridad bioinsecticida para los estadios ninfa1 y pupa del estrato medio; sin embargo, el porcentaje promedio de insectos micosados solo alcanzo un máximo de 48% (Cuadro 10).

Wraight *et al.*, (1999) reportan ninfas de *Bemisia argentifolii* con un control >90% atribuible a numerosos factores que incluyen: la capacidad de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseous* de infectar ninfas de mosca blanca bajo condiciones de humedad ambiental baja, las temperaturas prevalecientes durante el experimento y la alta cantidad de conidias al ser aplicadas directamente. Jaronski y Lord (1996) reportan múltiples aplicaciones semanales de *Beauveria bassiana* con rangos de 2.5×10^{13} conidias ha^{-1} obteniendo un control >70 en ninfas de *Bemisia argentifolii* en un cultivo de melón en el sureste de California con clima cálido-seco. En contraste con esos porcentajes de mortalidad, en el presente experimento la mortalidad promedio máxima para todos los estadios no sobrepasó el 50% (Cuadro10).

Cuadro 10. Valores porcentuales de diferentes estadios micosados de mosquita blanca por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* en los tres estratos estudiados de las plantas de frijol, durante el ciclo invierno-primavera 2004.

ESTRATO	TRATAMIENTO	% Mortalidad					
		Huevo	Ninfa 1	Ninfa 2	Ninfa 3	Pupa	Adulto
BAJO	Testigo	0	0	0	0	0	0
	<i>Beauveria bassiana</i>	33.9	31.8	37.8	39.2	32.6	55.8
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	44.9	54.8	50.9	39.7	43.8	31.0
	<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	31.4	33.6	41.5	34.9	42.5	16.3
MEDIO	Testigo	0	0	0	0	0	0
	<i>Beauveria bassiana</i>	35.5	31.0	29.64	35.4	32.2	46.8
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	37.3	48.5	50.9	48.8	46.6	25
	<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	35.4	32.12	35.3	37.6	38	9.4
ALTO	Testigo	0	0	0	0	0	0
	<i>Beauveria bassiana</i>	43.4	35.7	37.2	31.0	34.8	50.3
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	44	48.4	48.8	47.4	48.1	39.2
	<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>	31.8	30.9	49	37.2	33.8	26.3

La evaluación de inocuidad de los bioinsecticidas sobre el cultivo de frijol permitió identificar los microorganismos causantes de enfermedades fungosas en el dosel vegetal del cultivo de frijol. Estos contaminantes fueron aislados e identificados para descartar la posibilidad de que *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* fueran los causantes de las enfermedades fungosas. Se identificó *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. como hongos fitopatógenos según la descripción de Romero (1993).

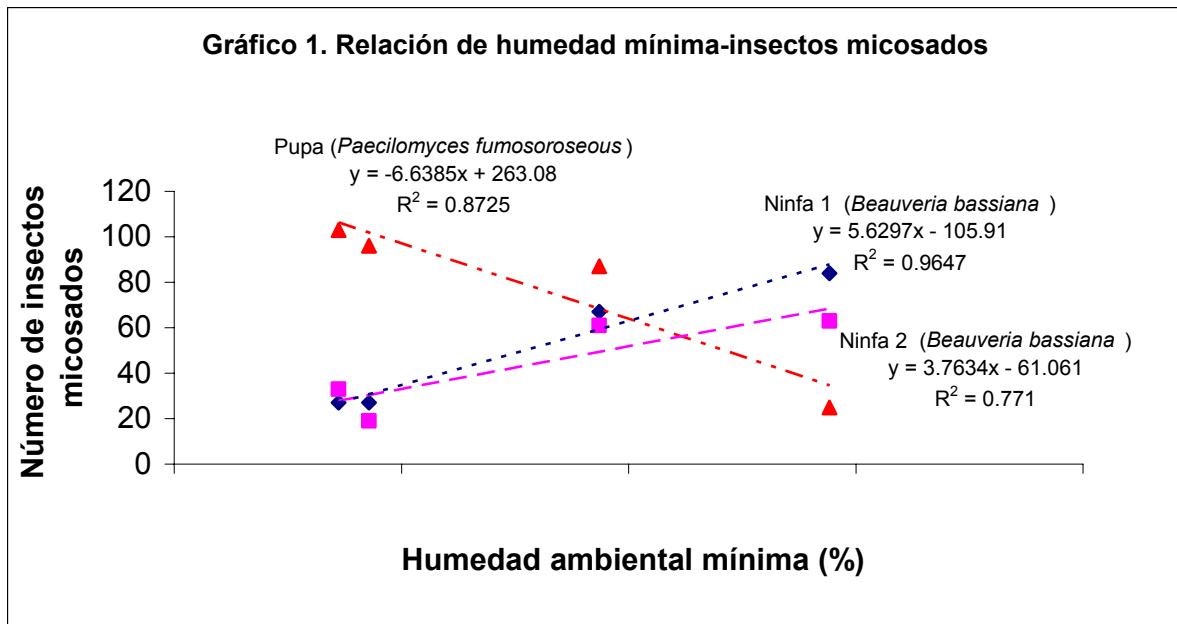
Análisis de regresión.

En este apartado sólo se presentan las ecuaciones de regresión de las variables climáticas y estadios micosados que mostraron valores de correlación altos y medianamente altos de acuerdo a la interpretación realizada por Fowler *et al.*, (1997). Las demás ecuaciones no son presentadas debido a que mostraron asociaciones lineales bajas o muy bajas.

HUMEDAD AMBIENTAL

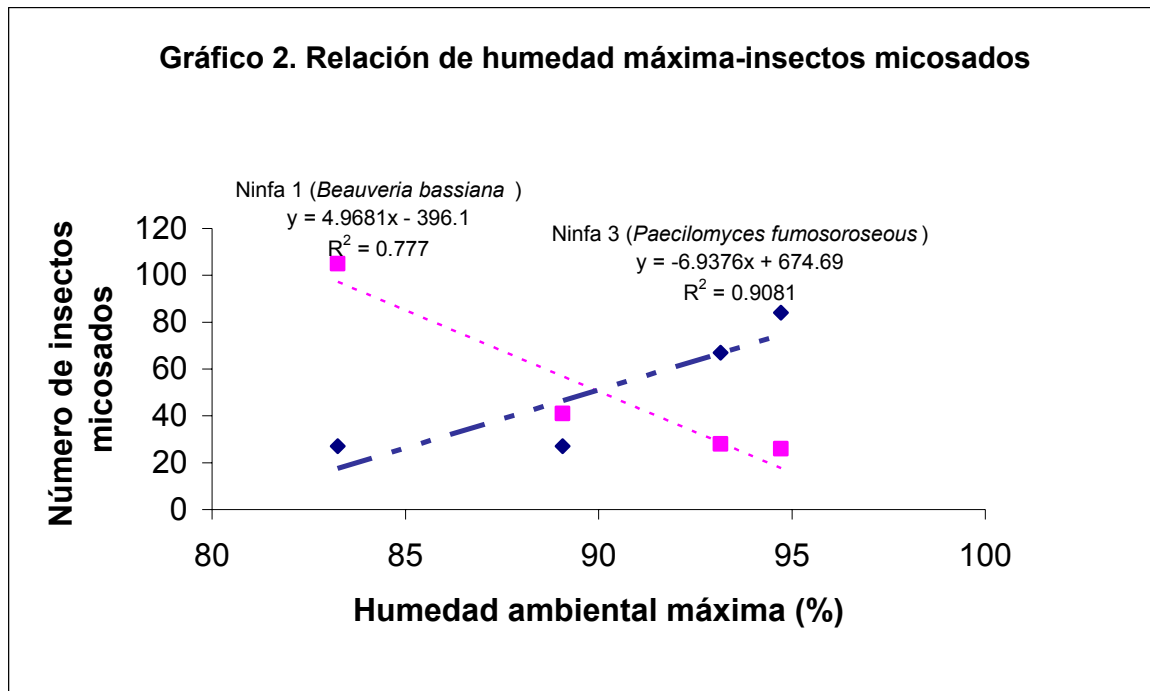
Promedio de humedad mínima-insectos micosados

Para esta variable climática se encontró un coeficiente de determinación muy alto ($R^2=0.96$), lo que indica que *Beauveria bassiana* en el estadio de ninfa 1 es fuertemente influenciada por las modificaciones de humedad mínima. Para el mismo hongo se observó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.71 para el estadio de ninfa 2. Los datos muestran que el incremento en el número de insectos micosados está fuertemente asociadas (96 y 71%, respectivamente) a las variaciones de humedad ambiental mínima. Sin embargo, la cantidad de pupas micosadas por *Paecilomyces fumosoroseous* mostró un coeficiente de regresión negativo con un alto coeficiente de determinación ($R^2=0.87$), lo que indica que a mayores valores de humedad ambiental mínima, el efecto de micosis es menor sobre ese estadio (Gráfico 1).



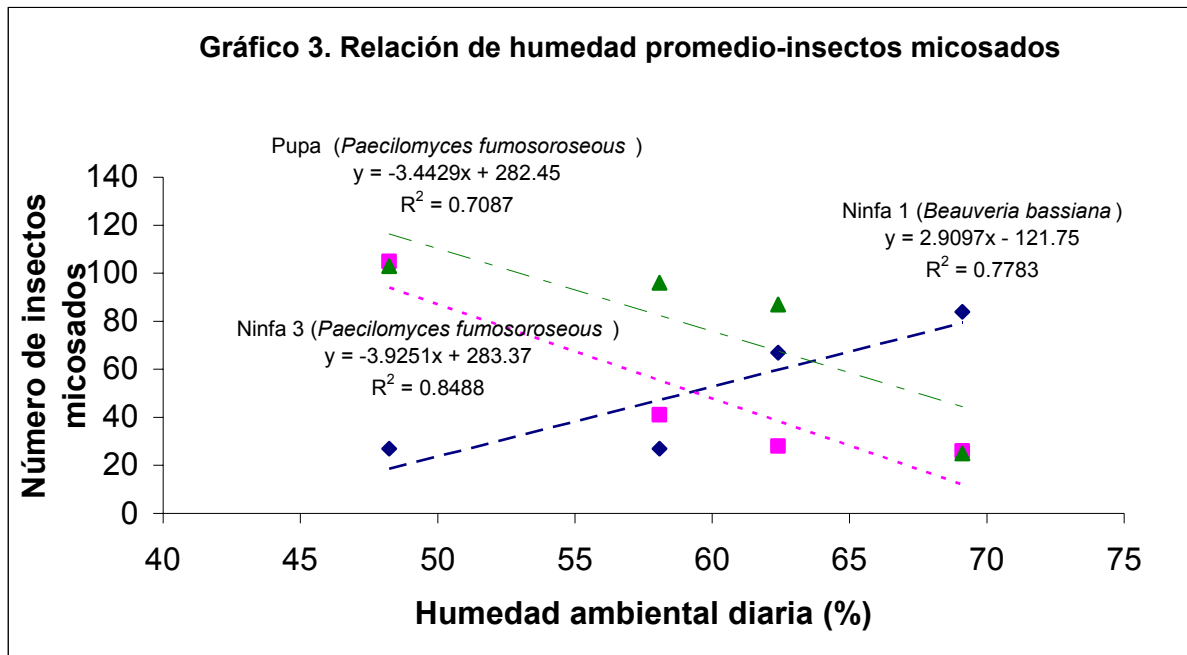
Humedad máxima-insectos micosados

El coeficiente de regresión negativo para las variables humedad máxima-insectos micosados presentó una fuerte correlación ($R^2=0.77$), que indica que *Beauveria bassiana* es sensible a esta variable climática, lo que se manifestó en un decremento de ninfas 1 micosadas a valores de humedad superiores a 84%. Sin embargo, el comportamiento del hongo *Paecilomyces fumosoroseous* mostró un coeficiente de regresión positivo con una muy alta correlación ($R^2=0.90$) sobre el estadio ninfa 3 micosada, lo que indica que a mayores valores de humedad máxima el efecto de micosis sobre mosquita blanca se modifica positivamente (Gráfico 2).



Humedad promedio-insectos micosados

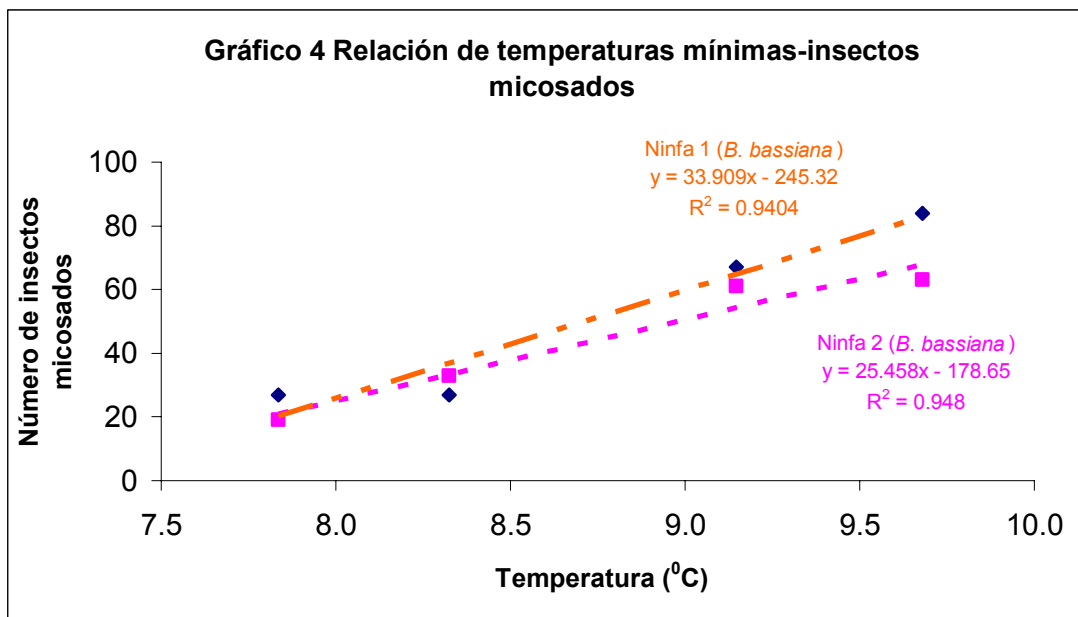
El coeficiente de determinación ($R^2 = 0.77$) muestra que las variaciones en el número de ninfas 1 micosadas por *Beauveria bassiana* estuvo determinada en un 77% por las modificaciones en la humedad promedio al incrementarse esta por arriba del 84%. Sin embargo, los coeficientes de regresión negativos de *Paecilomyces fumosoroseous* para ninfa 3 y pupa ($R^2 = 0.70$ y $R^2 = 0.84$ respectivamente) muestran que al incrementarse los valores de humedad promedio la cantidad de insectos micosados, de ambos estadios, disminuye (Gráfico 3).



TEMPERATURA

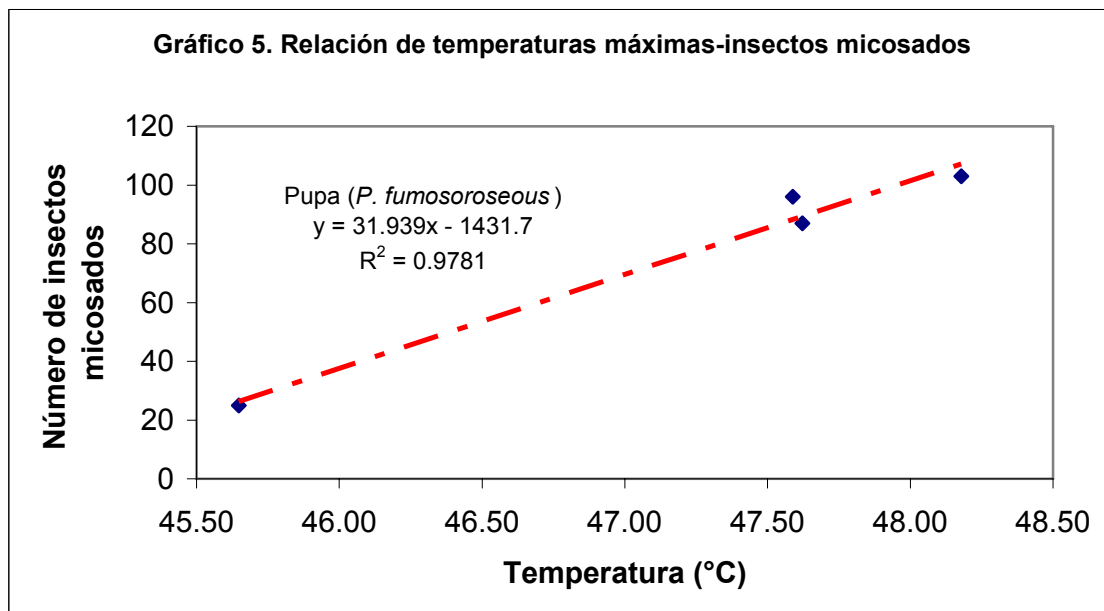
Promedio de temperatura mínima-insectos micosados

Para esta variable climática se encontró un coeficiente de determinación alto ($R^2=0.94$) para los estadios micosados de ninfa 1 y 2 por acción de *Beauveria bassiana*, lo que muestra que al menos en el rango de temperatura mínima promedio comprendido entre 8 y 10 °C los aumentos de esta variable están asociados en 94% a los incrementos en el número de esos dos estadios micosados (Gráfico 4).



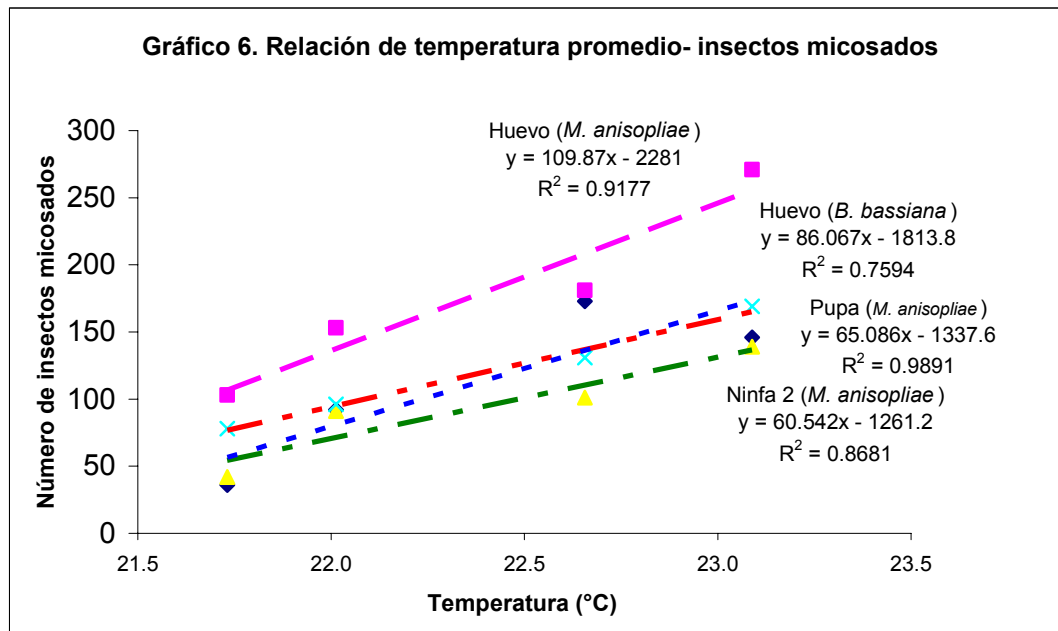
Temperatura máxima - insectos micosados.

Para esta variable climática el tratamiento con *Paecilomyces fumosoroseus* presentó una muy fuerte correlación ($R^2=0.97$) en el estadio pupa, lo que implica que la variación en el número de pupas micosadas estuvo asociada en un 97% a las variaciones de temperatura mínima promedio (Gráfico 5).



Temperatura promedio- insectos micosados.

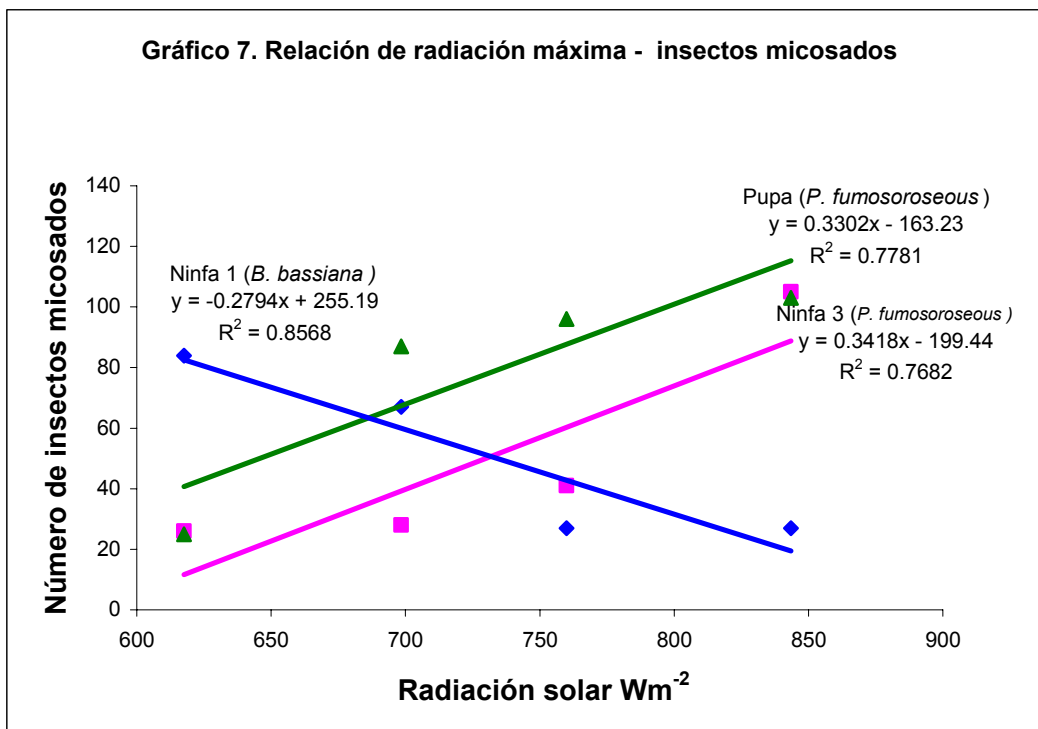
Para esta variable climática se encontraron fuertes correlaciones ($R^2=0.91$, $R^2=0.86$ y $R^2=0.98$) en los estadios huevo, ninfa 2, y pupa micosados por *Metarhizium anisopliae* lo que esta indica una asociación importante de los incrementos de temperatura promedio a la acción insecticida del hongo. Un comportamiento similar ($R^2=0.75$) fue observado con el hongo *Beauveria bassiana* en el estadio huevo (Gráfico 6).



RADIACIÓN SOLAR

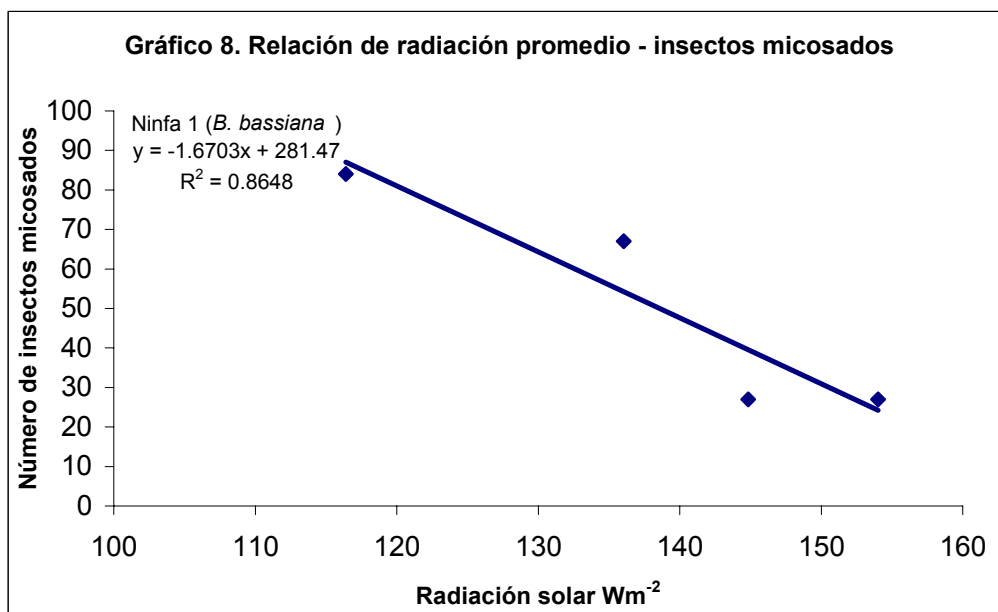
Promedio de radiación máxima insectos-micosados

Beauveria bassiana mostró un coeficiente de regresión negativo en el estadio ninfa 1 ($R^2=0.85$), lo que indica que el número de ninfas 1 micosadas por acción del hongo esta asociada inversamente a los incrementos de radiación máxima en el intervalo estudiado. Una respuesta inversa se encontró para los estadios de ninfa 3 ($R^2=0.76$) y pupa ($R^2=0.77$) micosados por acción de *Paecilomyces fumosoroseous* (Gráfico 7).



Promedio de radiación mínima-insectos micosados

El coeficiente de regresión negativo indica que el decremento en el número de ninfas 1 micosadas por *Beauveria bassiana* está determinado en un 86% por los incrementos en radiación solar en el intervalo de 115 a 150 Wm^{-2} (Gráfico 8).



Al analizar una matriz de doble entrada (Cuadro 10) en la que se muestran sobre las columnas los tratamientos y sobre las hileras las variables climáticas de las regresiones antes descritas, se llegó a las siguientes observaciones:

- El tratamiento con el hongo *Beauveria bassiana* fue el que mostró mayor número de asociaciones (coeficientes de regresión positivos) con altos coeficientes de determinación ($R^2 \geq 7$) entre las variables climáticas y los estadios micosados. De entre ellos, se observó un mayor porcentaje de asociaciones para el estadio de ninfa 1. El incremento en el número de ninfas 1 micosadas estuvo asociado al incremento de las variables climáticas humedad mínima, humedad promedio, temperatura mínima y temperatura promedio. Ello hace suponer que la acción entomopatógica del hongo sobre dichos estadios se ve fuertemente influenciada por las variables climáticas mencionadas; experimentos más precisos son requeridos para determinar si existe alguna interacción.
- También, el estadio de ninfa 1 micosada por *Beauveria bassiana* fue el que mostró el mayor porcentaje de asociaciones (coeficientes de regresión negativos) con altos coeficientes de determinación ($R^2 \geq 7$), en los que el incremento en las variables climáticas humedad máxima, radiación máxima y radiación promedio estuvieron asociado a un decremento en el número de ninfas 1 micosadas.
- En el tratamiento con el hongo *Metarhizium anisopliae* se observó que solo los incrementos en la variable temperatura promedio estuvieron asociados al incremento en el número de insectos micosados (huevo, ninfa 2 y pupa). El número de estos fue determinado en al menos un 70% por la variación positiva en la temperatura promedio. Para este tratamiento, no se presentó algún otro tipo de asociación entre los demás estadios micosados y otras variables climáticas. Al parecer, variaciones crecientes de temperatura en el intervalo de 22 a 23 °C están fuertemente asociadas a un mayor número de los estadios micosados antes mencionado. Otro tipo de investigación es necesaria para definir con mayor certeza si existe alguna interacción entre estas variables.

- El tratamiento con el hongo *Paecilomyces fumosoroseous* fue el único que mostró una fuerte correlación con la variable radiación máxima. Se observó que los incremento en radiación máxima determinaron al menos el 70% de la variación en el número de ninfas 3 y pupas micosadas. Estudios más precisos son necesarios para analizar una posible interacción entre la radiación solar y el efecto entomopatógeno de *Paecilomyces fumosoroseous* sobre dichos estadios.

Cuadro 11. Matriz de doble entrada en la que se muestran los tratamientos y las variables climáticas que mostraron altos coeficientes de determinación ($R^2 \geq 0.7$)

Variable climática	<i>Metarhizium anisopliae</i>					<i>Beauveria bassiana</i>						
	huevo	n1	n2	n3	pupa	adulto	huevo	n1	n2	n3	pupa	adulto
humedad mínima							++	++				
humedad máxima							---					
humedad promedio							++					
temperatura mínima							++	++				
temperatura máxima												
temperatura promedio		++		++		++		++				
radiación máxima												
radiación promedio												

Variable climática	<i>Paecilomyces fumosoroseous</i>						Testigo					
	huevo	n1	n2	n3	pupa	adulto	huevo	n1	n2	n3	pupa	adulto
humedad mínima												
humedad máxima				++								
humedad promedio				---	----							
temperatura mínima												
temperatura máxima						++						
temperatura promedio												
radiación máxima				++	++							
radiación promedio												

n1= ninfa 1; n2= ninfa 2; n3= ninfa 3

+ + Coeficiente de regresión positivo --- Coeficiente de regresión negativo

VI. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sobre cuentas totales de conidias y cuentas viables en la caracterización biológica de los bioinsecticidas comerciales de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* fueron menores a los reportados por el fabricante. Así mismo, se observó la presencia de microorganismos contaminantes en un porcentaje menor al 5%. No se encontraron antecedentes sobre la existencia de normas de calidad para la producción, manejo y conservación de bioinsecticidas a nivel nacional.

La acción de los micoinsecticidas sobre el control de mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), no mostró un patrón de comportamiento en cuanto a estratos y estadios micosados del insecto plaga.

En todos los estratos *Metarhizium anisopliae* mostró un comportamiento bioinsecticida superior entre tratamientos con respecto al testigo para los estadios huevo, ninfa 1, ninfa 2, ninfa 3 y pupa.

Los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, y *Paecilomyces fumosoroseous*, mostraron ser importantes agentes de control biológico para *B. tabaci* ya que redujeron significativamente la población del insecto, mostrando su actividad al lograrse la colonización del hongo sobre los diferentes estadios de *B. tabaci*.

Las variables climáticas estudiadas no mostraron un patrón de comportamiento en cuanto al efecto micoinsecticida de las tres especies de hongos evaluadas y su acción sobre los diferentes estadios de *B. tabaci*.

VII. LITERATURA CITADA

- Amiri, B., L. Ibrahim, T.M. Butt. 1999. Antifeedant properties of destruxins and their potential use with the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for improved control of crucifer pest. *Biocontrol Science and Technology* 9:487-498.
- Asaff, TA., V.Y. Reyes, L.E. López, M.M. De la Torre. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. En *Avance y Perspectiva* 21:291-295. (CINVESTAV, IPN).
- Assaf, T.A., C.G.C. Cerda, M. de la Torre. 2005. Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Appl. Microbiol Biotechnol* 68: 542-547.
- Barnes, S.E. y D. Moore. 1997. The effect of fatty, organic or phenolic acids on the germination of conidia of *Metarhizium flavoviride*. *Mycological Research*, 101, (6):662-666.
- Barranco, F.E., R.R. Alatorre, R.M. Gutiérrez, G.G. Viniestra, C.G. Saucedo. 2002. Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation. En: *Enzyme and Microbial Technology* 30:910-915.
- Baum, J.A., T.B. Johnson. y C.C. Bruce. 1999 *Bacillus thuringiensis*: Natural and recombinant bioinsecticide products. En *Biopesticides: Use and Delivery*. Franklin R. Hall and Julius J. Menn (Editors). Humana Press, Totowa, New Jersey. *Methods in Biotechnology* 5:189-210.
- Bidochka, M. y G. Khachatourians. 1991. The implication of metabolic acids produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 58: 106-117.

- Billich, A. y R. Zocher. 1988. Constitutive expression of enniatin synthetase during fermentative grown of *Fusarium scirpi*. Appl. *Environment Microbiology*. 54 (10): 2504-2510.
- Borror, D.J., C.A. Triplehorn, N.F. Johnson. 1989. *An introduction to the study of insects*. Ohio State University, OH, USA. No. Ed. 6- 875.
- Boyetchko, S., E. Pendersen, Z. Punja, M. Reddy. 1998. Formulations of Biopesticides. Hall F.R. & Barry J.W. Editor's. En: *Methods in Biotechnology*, Vol 5:487-508. Humana Press, Totowa, N.J.
- Brown, J.K., D.R. Frohlich, y C.R. Rosell. 1995. The sweetpotato/silverleaf whiteflies: biotipes of *Bemisia tabaci* Genn. Or a species complex? *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.
- Butt, TM., J.G. Harris, y K.A. Powel. 1999. Microbial biopesticides: En *Biopesticides: Use and Delivery*. Franklin R. Hall and Julius J. Menn (Editors). Humana Press, Totowa, New Jersey. *Methods in Biotechnology* 5: 23-44.
- Byrn, D.N. y A.E. Draeger. 1989. Effect of plant maturity on oviposition and nymphal mortality of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environ. Entomology* 18: 429-432.
- Cano, R.P., G.M.R. Ávila, C.U. Nava, G.H. Sánchez, C.E. Blanco, D.F. Jiménez. 2001. Plantas hospedantes de la "Mosquita Blanca", *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) (Homoptera: Aleyrodidae) en la Comarca Lagunera, México. En: *Folia Entomológica Mexicana* 40(1):53-65.
- Carruthers, I.R. y K. Hural. 1990. Fungi as natural occurring entomopathogens. *New Directions in Biological Control: Alternatives for Supressing Agricultural Pest and Diseases*. 115-138pp.

- Castrillo, L.A., M.H. Griggs, y J.D. Vandenberg. 2004. Vegetative compatibility group in indigenous and mass- released strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: likelihood of recombination in the field. *Journal of Invertebrate Pathology* 86: 26-37.
- Chang, C.C., J.T. Henneberry, T.E. Natwick, D. Ritter, L.S. Birdsall. 2001. Efficacy of CC traps seasonal activity of adult *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in Imperial and Palo Verde Valleys, California. *Journal of Economic Entomology* 94 (1): 47-54.
- Charnley, A.K. 1997. Entopathogenic fungi and their role in pest control. *The Mycota IV. Enviromental and Microbial Relations ships* 185-201.
- CIAD (2003) Memorias del curso: Control de calidad de productos con microorganismos vivos para el control de plagas, de fitopatógenos y de pudrición de frutas. Cd. Cuauhtémoc, Chih. México. 24 – 27 de Junio. 16-58.
- Clarkson, J., S. Screen, A. Bailey, B. Cobb, K. Charnley. 1998. Fungal pathogenesis in insects. Molecular variability of fungal pathogens. Ed. Department of Biology and Biochemistry, University of Bath, Bath BA2 7AY, UK., 83-94.
- Claydon, N. y J. Grove. 1982. Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous *Verticillium lecanii*. *Journal of invertebrate Pathology* 40:413-418.
- Crafts, B.S.J. 2001. Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and excretion in *Bemisia tabaci*. *Journal Insect Physiology* 48: 33-41.
- Davidson, E. W., B. J. Segura, T., Steele y D. L. Hendrix. 1994. Microorganisms influence the composition of honeydew produced by the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal Insect Physiology* 40: 1069-1076.

- De cock, A, I. Ishaaya, M. Van de Veire and D. Degheele. 1995. Response of buprofezin susceptible and resistant strains of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* (West.) to pyriproxyfen and diafenthiuron. En: *Journal Econ. Entomo* 88: 763-767.
- De Liñan, C. 2001. Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales. *Ediciones Agrotécnicas* S. L. Madrid. 670 pp.
- Deshpande, M.V. 1999. Mycopesticide production by fermentation: potential and challenges. *Crit Rev Microbiology* 25 (3): 229-43.
- Eyal, J. M.D.A. Mabud, K.L. Fischbein, J.F. Walter, L.S. Osborne, y Z. Landa. 1994. Assessment of *Beauveria bassiana* NOV.EO.1 strain, wich produces a red pigment for microbial control. *Appl. Biochem. Biotechnology* 44, 65-80.
- Fargues, J. y D. Rodríguez-Rueda. 1980. Sensibilite des larves de *Spodoptera littoralis* (Lep. Noctuidae) aux hyphomycetes entomopathogenes *Nomuraearileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus*. *Entomophaga* 25:43-54.
- Fowler, J., L. Cohen, P. Havis. 1997. Practical statistics for field biology. Jhon wiley & Sons Ltd. England.
- García, E.R.L. 2003. Memorias del curso: Control de calidad de productos con microorganismos vivos para el control de plagas, de fitopatógenos y de pudrición de frutas. Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo, A. C. Cd. Cuauhtemoc, Chih. México. 1-23.
- García, J.M., C. Ramírez, F. Rivera, T. Mier, 1999. Evaluación en campo de *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viégras para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (West) (Homoptera: Aleyrodidae) en un cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

Revista Mexicana de Micología 15: 1-9.

- Garza, E., y H.C. Arredondo. 1993. Sensibilidad *in vitro* de adultos de mosquita blanca de las hortalizas *Bemisia tabaci* (Genn) (Homoptera-Aleyrodidae) a diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* (Blas), *Paecilomyces fumosoroseus* y *Verticillium lecanii* (Vuill). Memorias del XVI Congreso Nacional de Control Biológico 31-32. Monterrey. N. L. México. Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Gelman, D.B., M.B. Blackburn, y J.S. Hu. 2001. Timing and ecdysteroid regulation of the molt in last instar greenhouse whiteflies (*Trialeurodes vaporariorum*). *Journal Insect Physiology* 48:63-73.
- Gillespie, A.T. y N. Claydon. 1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pestic. Sci.* 27:203-215.
- Glick, B. y J. Pasternak. 1998. Microbial insecticides. En: *Molecular biotechnology*. American Society for Microbiology Editors. Washington DC. USA 377-378.
- Grove, J.F. y M. Pople. 1980. The insecticidal activity of beauvericin and the enniatin complex. *Mycopathologia* 70 (2): 103-105.
- Hajek, A.E. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. *Adv. Microbial Ecology* 15, 193-249.
- Harold, F.M. 1999. In pursuit of the whole hypha. En: *Fungal Genetics and Biology* 27(2-3): 128-133.
- Hegedus, D. y G. Khachatourians. 1995. The impact of biotechnology on hyphomycetous fungal insect biocontrol agents. *Biotechnology Advances* 13 (3):455-490.

- Herrera, E.A. y C. Carsolio. 1998. Medio ambiente, control biológico y hongos parásitos. En: *Avance y Perspectiva* 17:195-204. (CINVESTAV, IPN).
- Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. *Revista Manejo Integrado de Plagas* CATIE 60.
- Hunter, D.H., R.J. Milner, J.C. Scalan, P.A. Sprin. 1999. Aerial treatment of the migratory locust *Locusta migratoria* L. (Orthoptera:Acrididae) with *Metarhizium anisopliae* (Deuleromycotina:Hyphomycetes) in Australia *Crop Protection* 18, 699-704.
- James, P., M. Kershaw, S. Reynolds, A. Charnley. 1993. Inhibition of desert locust (*Schistocerca gregaria*) malpighian tubule fluid secretion by destruxinas, cyclic peptide toxins from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal Insect Physiology* 39(9):797-804.
- James, R.R., J.S. Buckner, T.P. Freeman. 2003. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Journal of Invertebrate Pathology* Vol. 84 (2):67-74.
- Jaronski, S.T. y J.C. Lord. 1996. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Mycontrol WP) for control of whitefly in sprin cantaloupes 1995. *Arthropod Manage Test* 21:103.
- Jeffs, L.B, I.J. Xavier, R.E. Matai, G.G. Khachatourians. 1997. Relationships between fungal spore morphologies and surface properties for entomopathogenic members of the genera *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium*, and *Verticillium*. *Canadian Journal of Microbiology* Vol. 45(11):936-948.
- Jegorov, A., P. Sedmera, V. Matha, P. Simek, H. Zahradnickova, Z. Landa, J. Eyal. 1994. Beauverolides L and La from *Beauveria tenella* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry* 37 (5): 1301-1303.

- Jenkins, N.E., G. Eviefo, J. Langewald, J.A. Cherry, J.C. Lomer. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News and Info* 19:21N-31N.
- Jones, R.L. 1994. Role of field studies in assessing environmental behaviour of herbicides. Brighton crop protection conference, weeds. *Proceedings of an international conference, Brighton, UK 22-25 Vol. 3*, 1275-1282.
- Kanaoka, M., S. Isogai, M. Murakoshi, M. Ichinoe, A. Suzuki, S. Tamura, 1978. Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. *Agricultur Biology Chemistry* 42:629-635.
- Kershaw, M.J. y N.J. Talbot. 1998. Hydrophobins and repellents: proteins with fundamental roles in fungal morphogenesis. *Fungal Genetics and Biology* Vol.23, (1):18-33, 83.
- Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Baterman, S.E. Reynolds, A.K. Charnley. 1999. The role of dextruins in the patogenicity of *Metarhizium anisopliae* for 3 species of insect. *Journal of Invertebrate Pathology* 74:213-223.
- Khachatourians, G. 1991. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En: *Handbook of applied mycology Vol. 2, Humans, animals and insect* 613-661.
- Khachatourians, G.G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En: *The Mycota VI. Human and animal relationship*. Editors Howard and Miller. Springer, Berlin 331-364.
- Logrieco, A., A. Moretti, G. Castella, M. KostECKi. P. Golinsky, A. Ritieni, J. Chelhowski. 1998. Beauvericin production by *Fusarium Species*. *Applicated Enviroment Mocrobiology* 64(8):3084-3088.

- Martín, J.H., D. Mifsud, y C. Rapisarda. 2000. The whiteflies (Homóptera:Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. *Bulletin Entomological Research* 90, 407-448.
- Maurer, P., Y. Couteaudier, P.A. Girard, P.D. Bridge, G. Riba. 1997. Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. *Mycological Research* Vol. 101, (2):159-164.
- Menn, J.J. y R. Hall. 1999. Biopesticides: present status and future prospects. En Biopesticides: Use and Delivery. Franklin R. Hall and Julius J. Menn (Editors). Humana Press, Totowa, New Jersey. *Methods in Biotechnology* 5:301-320.
- Milner, J.R. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol News and Information* 20(2):47N-50N.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. En: *Manejo Integrado de Plagas* 63:95-103. Costa Rica
- Nava, C.U. 1997. Manejo integrado de la mosquita blanca de la hoja plateada, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring en la Comarca Lagunera. En Taller de Manejo de la Mosquita Blanca en Morelos. INIFAP, Campo Experimental Zacatepec, Mor. México. 32-43.
- Nava, C.U., C.J.J. Pacheco, M.K.F. Byerly. 1998. Manejo integrado de mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. En: Memoria de la 4a Asamblea Anual del Consejo Nacional de Control Fitosanitario, Dirección General de Sanidad Vegetal., Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, México 216-253.
- Nava, C.U., R.D. Riley, K.M. Harris. 2001. Density-Yield relationship and economic

- injury levels for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in Cantaloupe in Texas: En. *Journal of Economic Entomology* 94 (1): 180-189.
- Núñez, M.A. 2000. Manual de técnicas agroecológicas. En: Serie Manuales de educación y capacitación ambiental. Ed. FAO. México 70-80.
- Ortega, A.D.L. 1991. Mosquitas blancas (Homoptera:Aleyrodidae) vectores de virus en hortalizas. Plagas de hortalizas y su manejo en México. (Eds) Anay, S y Bautista, N. Centro de Entomología y acarología, C.P. y Sociedad Mexicana de Entomología 20-40.
- Ortega, A.D.L. 1992. Mosquitas blancas (Homoptera:Aleyrodidae) vectores de virus de hortalizas. En: *Manejo Fitosanitario de las Hortalizas en México*. (Eds). R. Anaya, N. Socorro, M. Y. Bautista y B. Colegio de Postgraduados Chapingo, México 20-40.
- Ortega, A.D.L. 1995. Colecta, montaje y determinación de Aleyrodidae. En: *Desafíos Fitosanitarios: Mosquita blanca*. SAGAR. México No. 88. 53-70.
- Ortega, A.D.L. y M.C. Rodríguez. 1995. Detección y manejo de la resistencia a insecticidas: una estrategia para el control de la mosquita blanca en hortalizas. En: *Desafíos Fitosanitarios: Mosquita blanca*. SAGAR México, No. 88. 113-125.
- Ortega, A.D.L. 2002. Moscas blancas en ornamentales. En: *Manejo Fitosanitario de Ornamentales*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 41-53.
- Osborne, L.S., K. Hoelmer, D. Gerling. 1990. Prospects for biological control of *Bemisia tabaci*. International organization for Biological Control/West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS) Bulletin 13: 153-160.
- Quiot, J., A. Vey, C. Vago, 1985. Effects of mycotoxins on invertebrate cells *in vitro*. En:

Advances in Cell Culture Vol. 4, 199-211. Academic Press, Inc., London

- Riquelme, M., P.C.G. Reynaga, G. Gires, G.S. Bartnicki. 1998. What Determines Growth Direction in Fungal Hyphae? En: *Fungal Genetics and Biology* 24 (1/2): 101-109.
- Rivera, B.F., T. Mier, D.A. Camacho, M. Valdez. 2002. Manejo de la mosquita blanca en invernadero con *Verticillium lecanii* en plantas de frijol micorrizadas con *Glomus intraradices*. *Terra* 20: 147-152.
- Roberts, D.W. y A.E. Hajek. 1992. Entomopathogenic fungi as bioinsecticides. *Frontiers in Industrial Mycology* 144-159.
- Romero C.S. 1993. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México 320-321.
- Ruiz, H.J. 1991. Biosynthesis of beta-glucans in fungi. *Antonie Van Leeuwenhoek* 60(2): 72-81.
- SAGARPA. (2001) Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Por cultivo. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera 340-355.
- Sanderson, J. y T. Roush. 1992. Monitoring insecticides in greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* (West.)) with yellow sticky cards. En: *Journal Econ. Entomol* 85: 634-641.
- Samson, A.R., C.H. Evans y P.Y. Latge. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer Verlag. New York - Berlin 187.
- St. Leger, R.J. y D.W. Roberts. 1997. Engineering improved mycoinsecticides. *Trends*

Biotechnology 15:83-87.

- Strongman, D., G. Strunz, P. Giguere, C.M. Yu, L. Calhoun. 1987. Enniatins from *Fusarium avenaceum* isolated from balsam fir foliage and their toxicity to spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana*. *Clem. J. Chem. Ecol* 14:753-764.
- Tamez, G.P., W.L.J. Galán, R.H. Medrano, G.C. García, P.C. Rodríguez, F.R.A. Gómez, G.R. Tamez. 2001. *Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México*. Ciencia UANL Vol, 2:143-152.
- Tengerdy, P.R. y G. Szakács. 1998. Perspectives in agrobiotechnology. *Rev. Biotechnology* 66: 91-99.
- Tulloch, M. 1976. The genus *Metarhizium*. *Transactions of the British Mycological Society* 66:407-411.
- Vidal, C., L. Lacey, y J. Fargues. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina:Hyphomicetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera:Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. *Journal Econ. Entomology* 90 (3):765-772.
- Wessels, J.G.H. 1999. Fungi in their own right. *Fungal Genetics and Biology* Vol. 27, No. 2/3, 134-145.
- Wraight, S., R. Carruthers, C. Bradley, S. Jaronsky, L. Lacey, P. Wood, W.S. Galaini. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control*. 17:203-217.
- Wraight, P.S. y I. Raymond. 1999. Carruthers Production, delivery and use of mycoinsecticides for control of insect pests on fiel crops. In *Biopesticides: Use*

and Delivery. Franklin R. Hall and Julius J. Menn (Editors). Humana Press, Totowa, New Jersey. *Methods in Biotechnology* 271-299.

Wraight, S.P., R.I. Carruthers, S.T. Jaronsk, C.A. Bradley, C.J. Garza, S. Galaini-Wraight. 1999. Evaluation of the Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* *Biological Control* 17, 203-217.