

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



DESTINO DEL HONGO ENTOMOPATOGENO
Paecilomyces fumosoroseus (Wize & Brown)
(Deuteromycotina: Hyphomycetes) EN SUELOS
AGRICOLAS

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

POR:

Q.B.P. JOSEFINA CASTILLO REYNA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L., MEXICO
DICIEMBRE DE 2002

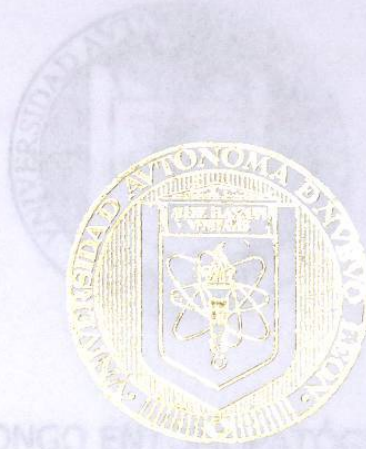
TM
SB975
.C3
2002
c.1

Q.B.P. JOSEFINA CASTILLO REYNA



1080124409

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



DESTINO DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *Paeclomyces fumosoroseus* (Wize & Brown) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) EN SUELOS AGRICOLAS

DESTINO DEL HONGO ENTOMOPATOGENO
Paeclomyces fumosoroseus (Wize & Brown)
(Deuteromycotina: Hyphomycetes) EN SUELOS
AGRICOLAS

COMISION DE TESIS
APROBADA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

DR. LUIS J. GALÁN WONG

FOR:

Q.B.P. JOSEFINA CASTILLO REYNA

DR. CARLOS E. HERNÁNDEZ LUNA
SECRETARIO

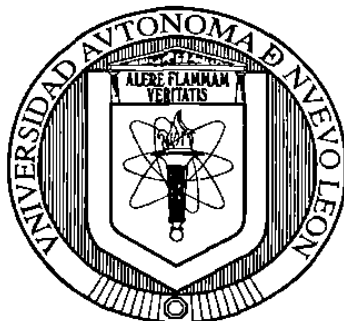
SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L., MEXICO
DICIEMBRE DE 2002



TM
S.B.P.S
. C 3
2002



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



DESTINO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize & Brown)(Deuteromycotina: Hyphomycetes)
EN SUELOS AGRÍCOLAS

POR:

JOSEFINA CASTILLO REYNA

COMISION DE TESIS
APROBADA

DR. HUGO A. LUNA OLVERA
DIRECTOR-PRESIDENTE

DR. LUIS J. GALÁN WONG
VOCAL I

DR. CARLOS E. HERNÁNDEZ LUNA
SECRETARIO

INDICE

Abreviaturas y símbolos	iii
Lista de tablas	v
Lista de figuras y apéndices	vi

CONTENIDO

*Resumen	1
*Introducción	2
*Objetivos	4
*Hipótesis	4
*Antecedentes	
Aspectos históricos del control biológico	5
Algunos estudios sobre fenómenos antagonistas	7
Los hongos como control biológico	9
Características de <i>Bemisia tabaci</i>	10
Morfología y ciclo de vida	10
Características de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	11
Mecanismo de infección	13
Control biológico de la mosquita blanca	13
Control biológico de otros insectos	15
Influencia de las condiciones ambientales sobre el crecimiento de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	18
*Material y Métodos	
Cepas	23
Suelos	23
Análisis físicos y químico de los suelos	23
Estandarización de inóculos conidiales	23
Enumeración de microorganismos antagonistas	23
Aislamiento de microorganismos antagonistas	24

Antagonismo microbiano en medio sólido	24
Componente responsable de la inhibición	25
Ensayo con cloranfenicol	25
Antagonismo en medio líquido	26
Antagonismo en suelo	26
*Resultados y Discusión	
Análisis físicos y químicos de los suelos	28
Criterios de selección de microorganismos antagonistas	28
Relación entre la densidad de población y concentración de antagonistas	28
Población de hongos antagonistas	33
Aislamiento de microorganismos antagonistas	34
Estandarización de la concentración de conidias de <i>P. fumosoroseus</i> .	36
Interacción en medio de cultivo	36
Interacción en suelo	39
*Perspectivas del presente estudio	42
*Conclusiones	43
*Literatura Citada	44
*Apéndices	55

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	29
Análisis físicos y químicos de los suelos	
Tabla 2	29
Análisis de micronutrientes en los suelos	
Tabla 3	31
Densidad de poblaciones microbianas en los diferentes tipos de suelos analizados	
Tabla 4	31
Cantidad de microorganismos antagonistas en los diferentes suelos analizados	
Tabla 5	33
Porcentaje de antagonistas en la población microbiana del suelo	
Tabla 6	35
Características coloniales y morfológicas del principal antagonista a <i>P. fumosoroseus</i>	
Tabla 7	36
Concentración de conidias de <i>P. fumosoroseus</i> y crecimiento micelial a diferentes tiempos de incubación	
Tabla 8	38
Efecto del precultivo antagonista y el tiempo de crecimiento de <i>P. fumosoroseus</i> previo a su interacción en cultivo líquido	
Tabla 9	40
Interacción de <i>P. fumosoroseus</i> y el antagonista en suelo estéril	

LISTA DE FIGURAS Y APENDICES

Figura 1	Pág.
Inhibición del crecimiento de <i>P. fumosoroseus</i> por la cepa antagonista en placa de agar Sabouraud.	34
Apéndice 1	55
Interacción de <i>P. fumosoroseus</i> con el antagonista en caldo Sabouraud. Experimento A.	
Apéndice 2	56
Interacción de <i>P. fumosoroseus</i> con el antagonista en caldo Sabouraud. Experimento B.	

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

<i>A. asychis</i>	<i>Aphelinus asychis</i>
ATP	Adenosin trifosfato
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>B. thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>B. argentifolii</i>	<i>Bemisia argentifolii</i>
<i>B. bassiana</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
<i>B. tabaci</i>	<i>Bemisia tabaci</i>
°C	Grados centígrados
C:N	Proporción carbono-nitrógeno
cel/ml	Células por mililitro
d	Días
Dr.	Doctor
Dra.	Doctora
<i>E. carotovora</i>	<i>Erwinia carotovora</i>
esp/ml	Esporas por mililitro
<i>et al.</i>	y colaboradores
<i>F. moniliforme</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>
f. sp.	Fitoespecie
g	Gramos
g/cc	Gramos por centímetro cúbico
g/l	Gramos por litro
h	Horas
log	Logarítmico

LD⁵⁰	Dosis letal media
LD⁹⁰	Dosis letal total
<i>M. anisopliae</i>	<i>Metharhizium anisopliae</i>
μg	Microgramos
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mm²	Milímetro cuadrado
(NH⁴)₂SO₄	Sulfato de amonio
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDA	Agar papa dextrosa
<i>P. farinosus</i>	<i>Paecilomyces farinosus</i>
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
<i>P. fr.</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
<i>P. cepacia</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>P. pelargonis-zonalis</i>	<i>Pseudomonas pelargonis-zonalis</i>
<i>P. xylostella</i>	<i>Plutella xylostella</i>
ppm	Partes por millón
%	Por ciento
pH	Potencial de hidrógeno
®	Marca registrada
RAPD	Amplificación al azar de DNA polimórfico
rpm	Revoluciones por minuto
<i>R. japonicum</i>	<i>Rhizobium japonicum</i>
sp.	Especie

spp.	Especies
UVB	Rayos B ultravioleta
UFC/g	Unidades formadoras de colonia por gramo
UFC/ml	Unidades formadoras de colonia por mililitro
v	Volumen
W	Watts

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo "Dr. Howard T. Dulmage" del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del **Dr. Hugo Alberto Luna Olvera.**

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Hugo Alberto Luna Olvera**: ¡Por tantas cosas! Por estar siempre a mi lado cuando más lo necesito y por apoyarme en los momentos más difíciles. Hay personas que hacen del mundo un lugar especial por sólo habitar en él, gracias por lograr eso en mi mundo.

Al **Dr. Luis J. Galán Wong**: por todo el apoyo recibido durante la elaboración de este trabajo de investigación, por la revisión del mismo, por sus consejos y por su especial interés en la conclusión de mi maestría.

Al **Dr. Carlos E. Hernández Luna**: por apoyarme con sus conocimientos, su tiempo y atención para el desarrollo de este trabajo y revisión del escrito.

Al **Dr. Carlos Fco. Sandoval Coronado**: por aclarar mis dudas con respecto a mi trabajo de investigación y revisar la metodología del mismo.

Al **Dr. Juan Llovera Lozano**: por guiarme en los días de desesperanza. Espero que tus palabras se cumplan un día, gracias por tu fe en mi.

A la **Dra. Myriam Elías Santos** y la **Dra. Isela Quintero Zapata**: por su amistad y por su apoyo para que yo pudiera seguir adelante.

Al **M.C. Juan M. Adame Rodríguez**: por sus consejos y su apoyo durante la primer fase de la investigación.

A todos los integrantes del laboratorio de Microbiología del Suelo: **Tomás, Hugo, Marisela, Alicia, Yazmin**, y en especial a **Laura** y a **Sussy Dimas** por prestar sus dos manos cuando más lo necesité.

A **Normita González Cantú** por su amistad y por la revisión de este escrito.

A la **LDG. Diana Alfaro Pérez** por su contribución, apoyo, por brindarme su casa durante la revisión de mi escrito y especialmente por su incondicional amistad.

DEDICATORIA

Con todo cariño para mi mamá, **Profra. Zora Velia Reyna de Castillo**

Por ser ella la mayor fuerza impulsora para concluir este proyecto, por prestar sus brazos incondicionalmente cuando he necesitado refugio y protección. Por ser tan paciente y respetar mi forma de vivir, por sus regaños, desvelos y lágrimas y principalmente por amarme y demostrármelo. Te quiero mamá, gracias por estar a mi lado en todo momento.

Con toda la admiración para mi maestro, **Dr. Hugo Alberto Luna Olivera**

Por guiarme, instruirme y corregirme en mis errores. Por seguir confiando en mí a pesar de que lo defraudé muchas veces, por su apoyo en lo que parecía la mayor tormenta de mi vida, por su preocupación por mí y por mi bienestar antes que cualquier otra cosa, por su sinceridad y su paciencia. Hay cosas que no pueden decirse con palabras pero que son escuchadas en el silencio.

A dos angelitos que creyeron en mí siempre:

Con toda mi fe por volverte a ver papá: **C.P. Carlos Manuel Castillo Flores**

Por llenar mi vida de tanta felicidad aún ahora que no estás, porque de alguna manera te haces presente, por cuidarme, por motivarme, por interceder con Dios, yo sé que observas lo que hago y que a pesar de todo, estás tan orgulloso de mí como antes, tú querías que estudiara mucho y ya ves, vamos por más! Te quiero mucho papá.

Con la esperanza de encontrarlo nuevamente: **Dr. Tadeusz Poprawski**

As you said, "life is not always easy and at times one can not control it. But I am sure that we will meet again sometime in the future". I enjoyed meeting with you, too. Thank you for trust in me and I promise never give up on research! Kindest regards.

Josefina Castillo Reyna

Abstract

The present work involved a study about the antagonistic potential of microorganisms native of soil against the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with the final concern of proving that these interactions are the main cause of the scarce incidence of *P. fumosoroseus* in agriculture soils. For that purpose, 7 different samples of agriculture soils were collected: corn, bean, sorghum, tomato, melon, cucumber and chili, and they were treated with a set of physics and chemicals analysis and then they were subject to dilutions to the triple layer agar technique in order to isolate antagonist microorganisms. With this technique we could isolate one antagonistic microorganism, which was coming from soils with crops of bean and corn belonging to the crop rotation system and was identified as actinomycete. We performed a simple extraction with the intention of isolating and identifying the spreading metabolite that cause the growth inhibition of *P. fumosoroseus* in Sabouraud agar. Unfortunately, the extraction technique used was not good enough to isolate the metabolite. A series of experiments in liquid and solid culture was carried out in order to verify the antagonistic effect of the isolated, in all the repetitions, living cells in active growth were necessary to reproduce the inhibition effect that was classified as powerful. Finally, the fungus was confronted with the antagonist isolate in essays carried out in experimental units that contained sterile soil. We determined that since the 24 h next to the inoculation of fungus and antagonist, there was a reduction of the initial concentration inoculated with 10^6 conidies/ml until total absence of growth. However, we could also see a great decrease in the fungus growth by its own in absence of the antagonistic isolate, for that reason, we concluded that there are other abiotic soil factors that also influence the fungus behavior.

Resumen

El presente trabajo involucró un estudio sobre el potencial antagónico de microorganismos nativos del suelo contra el hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*, con el interés final de probar que estas interacciones son la principal causa de la baja incidencia de *P. fumosoroseus* en suelos agrícolas. Para tal propósito, fueron colectadas siete muestras de suelos de cultivos agrícolas diferentes: maíz, frijol, sorgo, tomate, melón, pepino, chile, y sometidas a una serie de análisis físicos y químicos para posteriormente ser sujetas mediante diluciones, a la técnica de la triple capa de agar para aislar microorganismos antagonistas. A partir de esta técnica se logró aislar una cepa antagonista, proveniente de suelos con cultivos de frijol y maíz, pertenecientes al sistema de rotación de cultivos, la cual fue posteriormente identificada como actinomiceto. Se realizó una extracción simple con la finalidad de aislar e identificar el metabolito difundible causante de la inhibición del crecimiento de *P. fumosoroseus* en placas de agar Sabouraud. Desafortunadamente, la técnica de extracción empleada no fue suficiente para aislar el metabolito. Una serie de experimentos en medio de cultivo líquido y sólido fue efectuada para verificar el efecto antagónico de la cepa aislada, en todos los ensayos las células activas del microorganismo antagonista fueron necesarias para reproducir el efecto de inhibición de crecimiento, el cual fue catalogado como potente. Finalmente, el hongo fue confrontado con la cepa antagonista por medio de ensayos efectuados en unidades experimentales con suelo estéril. Se determinó que desde las 24 horas siguientes a la inoculación del hongo y antagonista, hay una disminución de la concentración inoculada inicialmente que fue de 10^6 conidias/ml hasta encontrarse ausente en el sistema. Sin embargo, también se observó un notable descenso del hongo por sí solo en ausencia del antagonista, por lo que también se atribuye a otros factores abióticos del suelo como causantes de tal comportamiento.

INTRODUCCIÓN

El interés por los métodos de control biológico de insectos plaga, continúa incrementándose día a día debido al recurrente problema de resistencia a plaguicidas y los crecientes costos ambientales y económicos por el uso de insecticidas químicos. Los recientes avances en los métodos de producción masiva y formulación de hongos entomopatógenos, han captado la atención de las grandes compañías para el desarrollo de productos biotecnológicos a base de estos microorganismos. Sin embargo, muchos aspectos técnicos relacionados a su uso, aún resultan inciertos.

Las nuevas tecnologías aportadas por la industria privada han mejorado notablemente la eficiencia de productos formulados con diversos deuteromicetos, en particular *Beauveria* y *Metharizium* (Campbell *et al.*, 1983) pero tales avances han rendido poco éxito en la producción de formulados de *Paecilomyces fumosoroseus*, un agresivo patógeno natural de la mosquita blanca (*Bemisia* sp), cuya aparente inestabilidad ha sido parte de este problema. Incluso, algunas cepas de este hongo aisladas de *B. argentifolii* manifiestan una rápida pérdida de la capacidad esporulante cuando son mantenidas y manipuladas bajo manejos especiales, ya que los métodos tradicionales para producirlas, se tornan imprácticos conforme se incrementa la escala de producción. Las oportunidades de éxito con este hongo pudieran incrementarse favorablemente mediante la utilización de análisis de isoenzimas por técnicas de huella genómica (PCR, RAPD), durante la identificación de cepas más potentes o por establecimiento de controles de calidad durante su cultivo. No obstante, la principal área de interés industrial se concentra en el diseño de procesos de fermentación líquida de altos rendimientos para la producción masiva de blastoesporas con prolongadas vidas de anaquel.

La disponibilidad actual de formulados comerciales de alta calidad, generados a partir de los significantes avances en la producción y formulación de hongos, está propiciando rápidos progresos en otras dos áreas de la investigación extremadamente críticas, pero pobremente entendidas: las tecnologías de aplicación y las estrategias de control sobre mosquita blanca. De esta manera existe una clara oportunidad de enfocar la considerable experiencia presente en el desarrollo y la optimización de las estrategias de aplicación para uso de *P. fumosoroseus*.

Aunque se desconoce el destino que sigue este entomopatógeno una vez que ingresa a los ecosistemas agrícolas, cuando es aplicado en estrategias de control, su escasa presencia y alta inestabilidad en suelo nos conducen a la idea de que éste es afectado por interacciones con otros microorganismos que perjudican su crecimiento y reproducción en esos hábitats. El término "antagonista" engloba diversas interacciones como el amensalismo, parasitismo, predación o competencia, que resultan en la supresión de una entidad biológica determinada.

Indudablemente, que *P. fumosoroseus*, al igual que otros microorganismos del suelo, está sujeto a la acción antagonista de los miembros de la comunidad y es común observar que aún en suelos asperjados con formulados a base de este hongo, es casi imposible recuperarlo. Tal fenómeno se ha documentado en algunos trabajos sobre los efectos antagonistas de microorganismos de suelo contra bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Rhizobium spp.* y *Azospirillum spp.* (Chao y Alexander 1981, Trinick et al. 1983), otros estudios se han publicado sobre microorganismos bioinsecticidas como *Bacillus thuringiensis* (Casida 1988 y 1989, Espinoza-Meade 1990). Sin embargo, no hay información disponible que ilustre tal efecto en su sobrevivencia como una forma de dilucidar su baja estabilidad en el suelo, por lo cual resulta de gran interés diseñar trabajos que

proporcionen alguna explicación para entender las causas biológicas que limitan su potencial de acción en la naturaleza.

HIPÓTESIS

Suponemos que *P. fumosoroseus* es sujeto a fenómenos antagónicos que definen su baja incidencia en suelo.

OBJETIVOS

1. Aislar e identificar microorganismos antagonistas del suelo contra *P. fumosoroseus*.
2. Seleccionar los agentes microbianos de mayor potencial antagonista contra *P. fumosoroseus*.
3. Evaluar el grado de antagonismo en suelo estéril.

ANTECEDENTES

En los últimos 20 años han sido abundantes los trabajos encaminados a buscar enemigos naturales y métodos alternativos para el control de la mosquita blanca *Bemisia tabaci*, sobre todo para su aplicación en cultivos protegidos. Esto ha cobrado mayor importancia con la aparición y expansión de esta plaga, lo cual se traduce en pérdidas millonarias que ascienden a más de 500 millones de dólares anuales, solo en Estados Unidos. Aunado a esto, la serie de daños ocasionados por los insecticidas químicos, hacen del control biológico la más aceptable y efectiva forma de ataque contra esta plaga, por esta razón, cuando se habla de *P. fumosoroseus* no puede evitarse hablar también de *B. tabaci* y del control biológico que este hongo ejerce sobre ella.

Aspectos históricos del control biológico

El control biológico involucra el uso de parásitos, predadores o patógenos que atacan, dañan o matan a una plaga blanco, causan la disminución de un inóculo o la eliminación de una actividad causante de enfermedad por un patógeno. En una magnífica revisión de los aspectos históricos sobre el estudio de la patología de plantas, Ainsworth (1981) describe que el concepto "control biológico" fue usado inicialmente por C. F. Von Tubeuff en 1914, con una interpretación bastante amplia del control de un organismo por otro, excluyendo al hombre. También menciona que en 1874, D. Roberts acuñó la palabra "antagonismo" dentro de la microbiología, al demostrar la acción antagónica que sufría una bacteria al interaccionar con cepas de *Penicillium glaucum*. Asimismo, aclara que M. C. Potter en 1908, fue el primero en reportar la inhibición de patógenos de plantas por metabolitos de otros organismos: *Erwinia carotovora* creciendo en tejido de nabo o *Penicillium italicum* en cáscara de naranja, fueron suprimidos al interaccionar con extractos de medios líquidos donde su contraparte microbiana había crecido.

En una de las clásicas revisiones de antecedentes sobre el control biológico de patógenos, Baker (1980) relata que el descubrimiento de la penicilina por Fleming, así como su purificación y uso médico en 1939, estimularon notablemente los estudios sobre antagonismo de patógenos de plantas. De la misma forma, hace hincapié en que el primer intento de una aplicación directa ya había sido realizado por C. Hartley en 1921, quien inoculó suelos de vivero con 13 hongos antagonistas a *Phytium debaryanum*, en un intento por controlar el marchitamiento del cuello del tallo. El encontró que *Phytium* sp. inoculado en suelo no tratado, causó un 38 % de marchitamientos, mientras que en suelo esterilizado alcanzó el 100 %. Baker, también describe que en 1927, W. A. Millard y C. B. Taylor fueron más exitosos al controlar la roña común de la papa causada por *Streptomyces scabies*, al añadir *Streptomyces preacox* (un saprófito obligado) a un suelo estéril enriquecido con residuos de zacate. En este caso la población del patógeno decreció considerablemente, aún sin añadir el residuo orgánico; incluso, analiza como G. Sanford y W. C. Bradfoot demostraron en 1931, el efecto "supresor" de 6 hongos, 15 bacterias y un actinomiceto, sobre el patógeno *Gaeumanoyces graminis* var. *tritici*, en macetas con suelo estéril. Los cultivos filtrados de algunos de estos microorganismos también redujeron en parte la infección de plantas de varios cereales. En 1983, Cook y Baker documentan como A. W. Henry encontró en 1931, que *Fusarium graminearum* y *Helminthosporium sativum* causaban un porcentaje mucho mayor de pudrición en el pie del tallo de plantas de trigo, cuando se plantaban en suelos estériles en contraste con tratamientos incorporados a suelos sin esterilizar. Al añadir una pequeña cantidad de suelo no estéril al esterilizado, la infección entre las plantas decreció de 47.8 % a 7.8 %. Este experimento constituyó la primera transferencia de la microflora antagonista para producir un suelo supresivo. Los mismos autores señalan además que R. W. Weidling reportó por primera vez en 1931, el uso de un antagonista productor de antibióticos, y definió el concepto "mycoparasitismo" al emplearse en el control de enfermedades de plantas causadas por *Rhizoctonia* sp. Este patógeno fue inhibido cuando

Trichiderma sp. se introdujo en semillas de cítricos acidificadas a un pH de 4. Sin embargo, tal actividad no se manifestó en semillas sin acidificar, debido al deterioro del antibiótico gliotoxina a un pH de 6.

Algunos estudios sobre fenómenos antagonistas

Las *pseudomonas* fluorescentes se han implicado en el control de la pudrición blanda por *Phytophthora* en cultivos de soya (Ann, 1994), en la pudrición negra de la raíz del tabaco, en la pudrición de las semillas de papa por *E. carotovora*, en los diversos tipos de marchitamiento causados por *Fusarium* spp. y otras enfermedades fúngicas en raíces de naranja, limón y ornamentales (Sneh *et al.*, 1984). Asimismo, se ha publicado que varias especies de *Phytium* han disminuído su capacidad infectiva al interactuar con cepas de *pseudomonas* fluorescentes. Howell y Stipanovic (1980) aislaron una cepa antagonista a *Phytium ultimum*, un importante patógeno del algodón, que permitió incrementar la sobrevivencia de plántulas hasta en un 71% en suelos infestados con el hongo. *Phytium* también es un reconocido patógeno de trigo, uno de los principales cultivos en el mundo, y al menos 10 especies de este hongo pueden afectar sus embriones y destruir los pelillos radiculares. A este respecto, se han aislado diversas cepas de *Pseudomonas* con capacidad de suprimir las especies de *Phytium* y aumentar el rendimiento de este cultivo hasta en un 26 % (Loper, 1988).

Después de un extensivo trabajo y una serie de experimentos, Hebbar y colaboradores (1992c) obtuvieron cepas de *P. cepacia* antagonistas a *F. moniliforme*, las que inocularon como recubrimiento superficial a semillas de maíz (variedad GH 5006) para probar su habilidad de suprimir *in vitro* la enfermedad causada por este patógeno. Los resultados demostraron que la infección en plántulas se redujo entre el 23 al 80 %, en suelos infestados artificialmente con el hongo, a dosis de 10^4 UFC/g de suelo. En contraste, los tratamientos con cepas de *P. fluorescens* y *Bacillus* sp. aisladas previamente de raíces de maíz, fueron menos efectivos. Con excepción de la cepa

ATCC17616, todas las demás de referencia fueron incapaces de impedir el ataque de plántulas. Las cepas de *P. cepacia* inhibieron el crecimiento de diversos patógenos fúngicos de maíz, a saber, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, además de otros hongos del suelo como *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotium*. En una misma línea de investigación sobre el control biológico de este hongo, Rosales y Mew (1997), trabajando en Filipinas con cultivos de arroz, midieron el potencial antagonista de bacterias aisladas de agua, suelo rizosférico o plantas, con el objetivo de controlar la enfermedad denominada "bakana" causada también por *F. moniliforme* en arrozales. De las 441 cepas aisladas, 113 capaces de inhibir el crecimiento micelial del patógeno se agruparon en 3 categorías sobre la base de sus efectos en la germinación de semillas: i) aquellas que promovieron la germinación e incrementaron el vigor de las plántulas; ii) las que no tuvieron efectos en la germinación y iii) aquellas que fueron nocivas e inhibieron la germinación. La bacterización de semillas infectadas naturalmente, con las cepas aisladas permitió la reducción en la incidencia del bakana y el control de esta enfermedad, desde un 0.6 a 6.8 % y del 7.1 al 96.3 %, respectivamente.

Entre las especies de *Bacillus* también se han documentado exitosos ejemplos del control de patógenos de plantas. Rytter y colaboradores en 1987 lograron efectos prometedores en el control de la roya del geranio causada por *P. pelargonii-zonalis*. Ellos aislaron, a partir de hojas de geranio infectadas, tres cepas de *B. subtilis* que inhibieron la germinación de esporas y redujeron la incidencia de pústulas en plantas infectadas con la roya. En este caso, él o los factores inhibitorios de *Puccinia* sp estuvieron presentes en cultivos filtrados de las tres cepas de *Bacillus*. Uno de los sistemas más efectivos de control ha sido desarrollado desde 1990, cuando Handelsman y colaboradores aislaron una cepa de *B. cereus*, designada UW85; que redujo a 0 % la mortalidad en plántulas de alfalfa, causada originalmente por *Phytophthora megasperma* f.

sp. medicaginis, bajo condiciones de invernadero, e incrementó significativamente el porcentaje de germinación de semillas en el campo. También se ha mostrado que la severidad del marchitamiento causado por *Fusarium oxisporum* f. *sp. danthi* en plantas de clavel, se disminuye hasta en 66 % cuando la cepa de *B. subtilis* A13 y *Pseudomonas* sp. B10, aisladas de un suelo supresivo para la enfermedad, se mezclan y son agregadas a macetas con suelo infestado por el hongo patógeno.

Los hongos como control biológico

Los hongos continúan ofreciendo la única opción de control usada contra insectos succionadores de plantas. Aunque los hongos tienen gran potencial para el desarrollo como agentes microbianos de control, solo unos pocos han sido usados en una escala operacional. Algunos factores que podrían limitar el amplio rango de potencial entomopatógeno, incluyendo el desarrollo de resistencia, son discutidos. Debido a su selectividad y mínimo impacto ambiental, los agentes microbianos son un componente ideal en los programas de manejo integrado de plagas en este siglo. Sin embargo, si ellos son usados para reemplazar los pesticidas químicos, entonces eventualmente estos agentes enfrentarán al igual que con los químicos que reemplazan, problemas de resistencia (Lacey & Goettel, 1995).

Los patógenos fúngicos son importantes agentes de control biológico de muchos insectos y otros artrópodos, porque frecuentemente causan epizootias que reducen las poblaciones del huésped significativamente. Sin embargo, además de los factores ambientales que son críticos para el desarrollo de la epizootia, la habilidad del hongo para sobrevivir a las condiciones adversas o periodos de ausencia de hospederos, también influye en la frecuencia con la cual una epizootia ocurre (Carruthers & Soper, 1987).

Los mayores impedimentos para el uso de estos microorganismos incluyen métodos de producción de bajo costo, dificultad en la producción de

formulaciones para mantener su alta viabilidad, virulencia y su larga vida de anaquel. Los materiales usados en formulaciones deben proporcionar algunas protecciones contra altas temperaturas, baja humedad y luz ultravioleta, los cuales son los mayores obstáculos para el establecimiento del hongo después de su aplicación (Vega 2000). Se considera que el futuro comercial de los hongos como agente de control biológico es muy promisorio, ya que solo se conoce la actividad de muy pocas especies (Lorence 1996; Riba *et al.*, 1994).

Características de *Bemisia tabaci*

Con el nombre vulgar de “mosca blanca” se conoce a los insectos de la familia Aleyrodidae, cuyos adultos tienen el cuerpo recubierto de una fina capa de polvo blanco de aspecto harinoso, producido por unas glándulas ventrales (Greathead, 1986). *Bemisia tabaci*, conocida también como mosca del algodónero, tiene su origen en las regiones del centro del oriente asiático (Osborne & Gerling, 1992). Se trata de una especie polífaga que parasita más de 300 especies de plantas, (Bellows *et al.*, 1994) pertenecientes a más de 63 familias botánicas, incluyendo ornamentales, malas hierbas y cultivos hortícolas. Recientemente, un biotipo nuevo (Perring *et al.*, 1993), se ha extendido en corto plazo por diversas regiones europeas y americanas, originando grandes pérdidas en los cultivos afectados, se trata del biotipo B, que está asociado a más de 600 especies de plantas distintas (Becker *et al.*, 1992), extendiéndose por las regiones tropicales y subtropicales; así como en los invernaderos o cultivos protegidos de regiones templadas.

Morfología y ciclo de vida

Las especies de mosca blanca presentan cuatro estados diferenciados: huevo, larva, pupa y adulto. A su vez, el estado de larva tiene tres estadios (I, II y III). Los adultos, revestidos de una secreción cérea pulverulenta blanca, tienen los ojos de color rojo oscuro, con dos grupos de omatidias unidas en el centro por una ó dos de ellas (Landa *et al.*, 1994). Los huevos son elípticos, asimétricos. Las larvas son ovaladas, aplanadas, de color blanco amarillento y

translúcidas. La hembra deposita los huevos en el envés de las hojas, unidos a ellas mediante un pedicelio que es insertado en el tejido hospedante, aunque en algunos cultivos prefiere el haz (López-Avila, 1986). El estadio larvario dura aproximadamente un mes. Durante los tres primeros estadios, la larva se alimentará succionando jugo de la planta de tal forma que, en caso de que ésta se secase o muriera, ella también moriría (Cabello & Barranco, 1995). Transcurridas las cuatro semanas emergen los adultos de las pupas. En ocasiones, cuando la humedad relativa es elevada, algunas larvas son afectadas por hongos entomopatógenos. *Verticillium lecanii*, *P. farinosus*, *P. fumosoroseus* o *Aschersonia aleyridis* han sido aislados de momias de larvas de la mosca blanca.

El tiempo de desarrollo de esta especie de mosca blanca depende principalmente de la temperatura, de la planta huésped y de la humedad. El tiempo necesario para el desarrollo es menor según aumentan las temperaturas (Lestón, 1999). El desarrollo del insecto es óptimo a temperaturas altas (30–33°C). No solo es importante el tipo de planta huésped, sino también la calidad nutricional del cultivo. Situaciones de estrés tales como una baja intensidad luminosa, altas temperaturas y extrema humedad, pueden influir sobre el desarrollo directa o indirectamente (Cabello *et al.*, 1996).

Características de *Paecilomyces fumosoroseus*

P. fumosoroseus es descrito como un patógeno natural que está siendo investigado para el control biológico de 41 especies de plagas pertenecientes a 25 familias de insectos. Dentro de las más importantes aplicaciones que se le han dado es para el control de la mariposa del fruto del durazno (*Carposina sasakii* Matsumura), termitas, escarabajo colorado de la papa (*Leptinotarsa decemlineata* Say), mariposa gypsy (*Lymantria dispar* y *Galleria mellonella*) (Samson, 1974) mariposa del dorso de diamante (*Plutella*

xylostella), el áfido ruso del trigo (*Diuraphis noxia*) y por supuesto la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).

P. fumosoroseus, pertenece a la subdivisión deuteromicotina (hipomicetos), también conocidos como hongos imperfectos. Como todos los miembros de este grupo, carece de forma sexual. Se caracteriza por presentar hifas hialinas o amarillentas, septadas y de paredes suaves. Las estructuras conidiógenas son sinematosas o mononematosas, que consisten en conidióforos verticiliados o irregulares, presentan en cada una de las ramas acúmulos de células conidiógenas, las cuales pueden ser solitarias en las hifas fértiles. Las conidias se encuentran en cadenas basopetales divergentes o enredadas, son hialinas o ligeramente pigmentadas con paredes suaves o equinuladas de varias formas (Smith, 1993).

El género *Paecilomyces* contiene dos secciones: *Paecilomyces* e *Isarioidea*. *P. fumosoroseus* ha sido clasificado en esta última, la cual contiene especies brillantemente coloreadas: amarillo, blanco, verde pálido, rosa, rojo o morado. Las colonias de *P. fumosoroseus* al esporular son al principio blancas, pero cambian a tonalidades de rosa, y podrían llegar a teñirse de gris con la edad (Smith, 1993).

Al igual que *B. bassiana*, *P. fumosoroseus*, produce conidias en medios sólidos y blastoesporas en cultivo líquido. Las blastoesporas empiezan su germinación más rápido en la cutícula del insecto que las conidias, lo cual indica que el uso de blastoesporas para el desarrollo de formulaciones sería más ventajoso sobre el uso de las conidias (Vega, 2000).

Mecanismo de infección

P. fumosoroseus causa la mortalidad a todos los estadios de mosca blanca entre 24 y 48 h siguientes al contacto (Gerling, 1986, Mellin & Garza, 1994). Se ha demostrado mediante estudios de microscopía electrónica de

transmisión y de barrido, que una espora es depositada sobre la cutícula del insecto seguida por el desarrollo de un tubo germinal, y en algunos casos por una estructura llamada apresorio, la cual penetra el insecto y en 24 h las hifas se forman en el hemocele del insecto. Finalmente, el micelio emerge del cuerpo en 48 h y esporula a las 72 h (Osborne *et al.*, 1990). La mortalidad del insecto se atribuye a la destrucción de tejidos, la liberación de toxinas y las deficiencias nutricionales (Vega 200).

Control biológico de la mosquita blanca

Se examinó la infectividad de 30 aislados de *P. fumosoroseus* de varios insectos huésped como *B. tabaci* y *B. argentifolii* del sureste de Estados Unidos, Europa, Pakistán, Nepal e India, y otros, contra *B. argentifolii* bajo condiciones de laboratorio. Los bioensayos fueron conducidos en discos hechos de hojas de la planta ornamental de papa dulce que fueron infestados con ninfas del segundo estadio de *B. argentifolii*, y transferidas a placas que contenían medio estéril KNOP. Los insectos fueron tratados con 3.8×10^4 conidia/cm² de cada uno de los 30 aislados. En todos los bioensayos, después de 24 h a 100 % de humedad relativa y 24 °C, las cajas fueron ventiladas y mantenidas a 60 % de humedad relativa y 16:8 h (Luz: Oscuridad). Después de 10 días, la mortalidad y el estadio ninfal fueron revisados. De los 30 aislados, solo uno produjo una mortalidad total que no fue significativamente diferente de los controles. Los 29 aislados restantes, causaron alta mortalidad, y mortalidad total de 68 a 94 % con ninguna diferencia significativa entre los aislados. El aislado que produjo la más alta mortalidad fue una cepa aislada de *Mamestra brassicae* en Francia. La LD⁵⁰ de los aislados seleccionados varió de 619 a 1269 conidias/cm² sin una diferencia intraespecífica significativa. Las ninfas que fueron expuestas a las conidias en el segundo estadio, murieron principalmente durante el cuarto estadio. Los resultados confirmaron el alto potencial de *P. fumosoroseus* como un agente microbiano de control contra *B. argentifolii* (Vidal *et al.*, 1997b).

Se determinaron los efectos de la planta huésped sobre la susceptibilidad de la mosquita blanca, *B. argentifolii*, al hongo entomopatógeno *P. fumosoroseus*. Las mosquitas fueron colocadas en tres especies vegetales: pepino, calabacita y tomate, y en tres variedades del último: Heatwave, Better Boy y Rutgers. Larvas del segundo estadio fueron rociadas con 5×10^4 conidias/cm² de Pfr 97, una cepa de *P. fumosoroseus*. Varios experimentos fueron efectuados en un invernadero, donde la temperatura y la humedad relativa fueron ajustadas para favorecer la infección (22–33 °C y 68–100 % HR). La susceptibilidad de las larvas a una infección fúngica fue alta y no fue significativamente afectada por la planta huésped. La mortalidad fue mayor del 70 % una semana después del tratamiento y se incrementó durante la segunda semana. Los porcentajes de cadáveres con la subsecuente producción de conidias observadas en el invernadero no variaron significativamente con las diferentes especies vegetales ni con las diferentes variedades de tomate. Estos resultados confirman que *P. fumosoroseus* exhibe un alto potencial como agente de control contra *B. argentifolii* en cosechas de invernadero (Vidal *et al.* 1998).

La patogenicidad de tres especies de hongos entomopatógenicos contra *B. argentifolii* fue medida y comparada. Las ninfas del tercer estadio localizadas sobre hojas de *Hibiscus rosasinensis* fueron expuestas a aplicaciones de spray de 14 cepas de *B. bassiana*, 22 cepas de *P. fumosoroseus* y cinco cepas de *P. farinosus*. Las cepas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* aisladas de diversos orígenes, fueron altamente patógenas a las ninfas de la mosquita blanca; las dosis media letal de 14 de las 22 cepas de *P. fumosoroseus* y cuatro de las 13 cepas de *B. bassiana* estuvieron entre 50 y 150 conidias/mm². Cinco cepas de *P. farinosus* fueron también patógenas, sin embargo, las LC50 estuvieron relativamente altas, entre 350 y 4000 conidias/mm². Los resultados indicaron la alta virulencia de cepas de *P.*

fumosoroseus y *B. bassiana* para el control potencial de la mosquita blanca (Wraight *et al.*, 1998).

En otro estudio, se determinó la actividad ovicida y larvicida de conidias y blastoesporas de *P. fumosoroseus* contra *B. argentifolii*. Para lo cual, dosis discriminantes de conidias aéreas y blastoesporas de dos aislados de *P. fumosoroseus*, Pfr 97 y Pfr 42, fueron probadas contra huevos y ninfas de *B. argentifolii*. Baja, pero significativa mortalidad de huevos (10–20 %) fue observada 14 días después de la exposición de 3.8×10^4 blastoesporas/cm² sobre hojas de repollo infestadas anteriormente con *B. argentifolii*. Adicionalmente, las larvas que emergieron de los huevos tratados, murieron sobre la superficie de las hojas. La exposición de ninfas de *B. argentifolii* del segundo estadio temprano a dosis de 3.8×10^3 conidias o blastoesporas/cm² de Pfr 97 resultaron en mortalidades de 27 y 77 % respectivamente. Dosis idénticas de conidias o blastoesporas de Pfr 42, resultaron en mortalidades de 59 y 68 %, respectivamente (Lacey *et al.* 1999).

Control biológico de otros insectos

En 1993, fueron efectuados algunos estudios para examinar la posibilidad de emplear hongos entomopatógenos para el control de la mariposa dorso de diamante *P. xylostella*, en plantas de col en Malasia. Para ello, tres aplicaciones de suspensiones de esporas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* fueron requeridas para causar una reducción significativa en la población larvaria de la mariposa. Cada aplicación contó con una dilución de 1×10^8 esporas/ml a razón de 3.75×10^{13} esporas/ha. Las plantas de col tratadas con ambos hongos, contribuyó significativamente a disminuir el número de mariposa. El número de larvas activas en los experimentos controles y con insecticidas como cipermetrina y fentoato fue mayor, indicando que ambas especies fueron efectivas en la supresión de la población de la mariposa en campo. Las plantas tratadas con *P. fumosoroseus* dieron consistentemente menores cuentas larvarias excepto para la primera aplicación. Los resultados

también revelaron que ambos hongos fueron efectivos contra el segundo estadio larvario de la mariposa, sin embargo, una mortalidad mayor y en un periodo de tiempo menor, fue observada para *P. fumosoroseus* cuando se comparó con *B. bassiana*. Casi una mortalidad total fue obtenida con ambos entomopatógenos para el quinto día posterior al tratamiento, indicando que la virulencia de estos hongos se mantuvo a lo largo de todo el ensayo. El bajo costo de producción de la suspensión de esporas y la durable efectividad de ambos contra las larvas de *P. xylostella*, podrían contribuir en un incremento en la proporción costo-beneficio (Ibrahim & Low, 1993).

En otro estudio, se comparó la infectividad de ocho cepas de *P. fumosoroseus* contra larvas de la mariposa de dorso de diamante, al mismo tiempo que se correlacionó con la longitud de la espora y la velocidad de germinación. Cuatro cepas aplicadas a la cutícula de la mariposa también fueron comparadas en el número de esporas que permanecían sobre la cutícula después de lavar y para el porcentaje de germinación, después de 36 h. La infección de larvas inoculadas con los diferentes aislados en una dosis promedio de 4000 conidias/cm² fluctuó de 2 al 47 %. La correlación de la infectividad con la longitud de la espora y la velocidad de germinación en caldo, fue altamente significativa. Después de 36 h sobre la cutícula, el porcentaje de esporas germinadas para los aislados 1576 y 3682 fue de tres y 95 %, respectivamente. Las esporas del aislado 1576 fueron más pequeñas, germinaron más lentamente y atacaron a la cutícula en un número menor que las esporas de los cepas más efectivas (Altre *et al.* 1998).

En uno de los primeros reportes del potencial del hongo *P. fumosoroseus*, para el control microbiano de áfidos, las LD⁵⁰ y LD⁹⁰ de una cepa de *P. fumosoroseus* aislada de *B. tabaci*, bioensayada contra el tercer estadio de *D. Noxia* fueron 1.78×10^3 conidias/cm² y 1.43×10^4 conidias/cm², respectivamente. Fuertes dosis de mortalidad y micosis fueron evidentes con proporciones más grandes de individuos que murieron dentro de los tres

primeros días posteriores al tratamiento a más altas dosis de conidias ($1.23-3.75 \times 10^4$ conidias/cm²) de las que fueron observadas para dosis iguales o menores que 3.75×10^3 conidias/cm². La LD⁵⁰ para *D. noxia* tratado con 3.75×10^4 conidias/cm² y 3.75×10^3 conidias/cm² fueron 2.06 y 7.50 días, respectivamente (Mesquita *et al.*, 1996).

Los hongos entomopatógenos y enemigos naturales de insectos tienen el potencial para complementar o interferir unos con otros, dependiendo de las condiciones ambientales. La avispa afelinida *Aphelinus asychis*, un parasitoide del áfido ruso del trigo, *D. noxia* y el hongo *P. fumosoroseus* fueron evaluados separadamente y en combinación contra poblaciones confinadas de este áfido, bajo condiciones de campo. Los insectos tratados con *P. fumosoroseus* y más tarde expuestos a *A. asychis* y aquellos expuestos solo a los parasitoides, respondieron con mayor mortalidad siete y 10 días posteriores al tratamiento que los controles o aquellos que recibieron solo el hongo. En la terminación de la prueba, 13 días después del tratamiento, la densidad de áfidos sobre las plantas tratadas con el hongo y la avispa, solo la avispa, el hongo con 24 h de incubación y el hongo sin incubar, fue de 38.2, 43.1, 70.5 y 91.9% de lo observado sobre las plantas controles, respectivamente. Estos estudios muestran un efecto aditivo de *P. fumosoroseus* y *A. asychis* para el control de áfidos y no hay efectos de disminución sobre el porcentaje de parasitismo ni emergencia de parasitoides cuando los dos agentes son usados conjuntamente (Mesquita *et al.*, 1997).

Los efectos agudos y subletales de *P. fumosoroseus* sobre una hembra adulto de *A. asychis*, fueron estudiados bajo condiciones de baja ($\approx 55\%$) y alta ($\geq 95\%$) humedad relativa a 24°C. Los parásitos expuestos a dosis de 3.75 a 3.75×10^3 conidias por cm² de *P. fumosoroseus* e incubados a 24°C en baja o alta humedad relativa respondieron con rangos de mortalidad de 20–33 % y de 33–88 %, respectivamente. No hubo diferencia significativa entre el control y las hembras tratadas con hongo que fueron incubadas a la más baja

humedad en términos de porcentaje de tiempo y velocidad de dispersión y distancia cubierta. En cuanto al promedio de la velocidad de dispersión y la distancia cubierta por tratamiento de los parasitoides incubados a baja humedad relativa en las 96 h siguientes al tratamiento fueron significativamente más grandes que los insectos tratados incubados a alta humedad relativa. El efecto limitado contrario de *P. fumosoroseus* sobre el adulto de *A. asychis* bajo condiciones de baja humedad, indican un buen potencial para su uso combinado para el control del áfido ruso del trigo (Lacey *et al.*, 1997).

Influencia de las condiciones ambientales sobre el crecimiento de *P. fumosoroseus*

Un requisito para el desempeño eficaz de *P. fumosoroseus* es la germinación normal y el crecimiento bajo las condiciones ambientales donde el hongo será empleado. En este estudio, se midieron los efectos de la temperatura en los rangos de crecimiento de 37 aislados de *P. fumosoroseus* originarios de varios insectos huésped del sur de Estados Unidos, Europa, Pakistán, Nepal e India. El hongo fue crecido en medio artificial a 11 diferentes rangos de temperatura de 8° a 40 °C. Los rangos óptimos de crecimiento fueron observados entre los 20 y los 30°C, alcanzando hasta 5.2 mm/día. Las altas temperaturas (30–40°C) fueron más limitantes que las bajas (8–11°C). Estos resultados mostraron una variabilidad intraespecífica parcialmente relacionada con los microclimas de los biotipos fúngicos. La mayoría de los aislados originarios de Europa (climas templados) exhibieron un rango de temperatura de 8 a 30°C con rangos óptimos de crecimiento de 20, 20–25 ó 25°C. El rango óptimo de temperatura para los aislados del sur de Estados Unidos (con climas húmedo y subtropical seco) y del este de Asia (clima tropical húmedo) fue de 8 a 35°C con un crecimiento óptimo a 25, 25–28 ó 28°C. Los aislados de India (con clima de monsoon) presentaron la mejor tolerancia a las altas temperaturas. Para un desempeño óptimo en el campo,

los requerimientos térmicos de los aislados deberían corresponder a los microhábitats de los insectos blanco (Vidal *et al.*, 1997a).

En un estudio posterior, la persistencia de las conidias de *P. fumosoroseus* expuestas a radiación solar y artificial, y con una temperatura constante, fue estudiada por medio del monitoreo de su capacidad para germinar y formar colonias. El efecto fótico de radiación en cada una de estas variables fue medida por un decremento en la irradiación de UVB. La capacidad de germinación fue representada por un función logística y la viabilidad (log UFC) por un función infinitamente disminuída. Los experimentos llevados a cabo bajo condiciones artificiales, a tres diferentes irradiaciones UVB (de 0.3 a 1.6 W) similares a las observadas en la naturaleza, confirmaron la adecuación de la variable predecible y de las funciones escogidas para describir estos datos. Los modelos propuestos parecen haber sido independientes de las irradiaciones. Bajo la radiación solar, los modelos fueron capaces de describir datos colectados en tres diferentes días de verano en Francia. Sin embargo, tomó una mayor cantidad de radiación UVB para producir el mismo efecto que los producidos en radiaciones interiores. Esto podría ser explicado por las diferencias en el espectro de radiación. Para cada modelo, un juego de parámetros fue suficiente para representar la serie de datos: esto constituye una validación inicial de los modelos propuestos (Smits *et al.* 1997)

Producción de *Paecilomyces fumosoroseus*

En un estudio posterior, *P. fumosoroseus* fue crecido en cultivo sumergido sobre un medio complejo. El crecimiento sobre el medio estuvo seguido por mediciones de peso seco, absorbancia y ATP, todos los métodos dieron rangos similares específicos de crecimiento. En cultivos limitados de carbono, el organismo produjo blastoesporas rápidamente durante la fase exponencial tardía y continuó formándolas durante la fase estacionaria. Algunas esporas formadas "de novo" germinaron durante el periodo de incubación (152 h). La

producción de blastoesporas (número de esporas/cm³ de cultivo) en cultivo batch no fue incrementada cuando la fuente de carbón en el medio fue modificada para cambiar el rango de crecimiento específico del organismo, o cuando la concentración de (NH₄)₂SO₄ en el medio varió, así que fue el primer nutriente que llegó a agotarse (medios limitados de nitrógeno). Sin embargo, hubo apreciables diferencias en los contenidos de nitrógeno y glicógeno de las blastoesporas producidas en cultivos limitados de nitrógeno y carbono (Inch *et al.*, 1986).

Posteriormente se trabajó con *P. farinosus* y *B. bassiana* en cultivos batch y feed batch limitados por glucosa y amonio, donde se observa que ambos hongos producen blastoesporas en la fase exponencial y una desaceleración del crecimiento en el cultivo batch, mientras que *B. bassiana* además formó esporas durante la fase estacionaria. Con respecto al cultivo feed batch, la concentración de blastoesporas para *P. farinosus* estuvo inversamente relacionada con la tasa de dilución (Humphrey *et al.*, 1990).

En un estudio con 38 formulaciones en su mayoría de consumo agrícola, tales como harina y fécula de maíz fueron mezcladas a diferentes concentraciones con medio líquido que contenía blastoesporas y fragmentos de hifas de *P. fumosoroseus*. Las formulaciones fueron secadas por congelación y la sobrevivencia de blastoesporas en el material secado fue comparada con las unidades formadoras de colonias de formulaciones secadas por pre-congelación. Algunos de los materiales probados resultaron en mayor recuperación de blastoesporas por tiempo, que las del control, el cual consistió de blastoesporas liofilizadas en medio gastado. 60 días posteriores al tratamiento de secado por congelación, la recuperación de blastoesporas en cinco formulaciones basadas en fécula, harina nixtamalizada, sacarosa y aceite de maíz fue superior al 65 % de la cantidad original. 150 días posteriores a la liofilización, la recuperación de blastoesporas en una de estas formulaciones fue mayor del 50 % de la cantidad original (Vega *et al.*, 1996)

En 1997, se trabajó con medios de cultivo con diferentes concentraciones de carbono y relaciones C:N, para producir blastoesporas de *P. fumosoroseus* tolerantes a la desecación. Mientras que todos los medios probados soportaron la esporulación en cultivos sumergidos, altas concentraciones (5.8×10^8 esporas por ml) fueron producidas en medios conteniendo 80 g de glucosa/l y 13.2 g de casaminoácidos/l (Medio MS) y un mayor porcentaje (79%) de estas blastoesporas sobrevivieron al secado por aire. Los medios que contenían concentraciones de glucosa mayores de 20 g/l y concentraciones de casaminoácidos entre 13.2 y 40 g/l soportaron la máxima producción de blastoesporas tolerantes a la desecación. Los 23 aislados de *P. fumosoroseus* crecidos en medio MS produjeron altas concentraciones de blastoesporas tolerantes a desecación. Cuando se almacenaron a 4°C, más del 60 % de blastoesporas liofilizadas producidas en el medio MS estuvieron todavía viables después de siete meses de almacenadas, mientras que menos del 25 % de las blastoesporas secadas por aire sobrevivieron después de 90 días de almacenadas. Las blastoesporas de *P. fumosoroseus* secadas por aire tienen una LD⁵⁰ de 60 y 113 blastoesporas/mm³ para *B. argentifolii* en dos bioensayos separados con relaciones (LD⁵⁰ *B. bassiana* y LD⁵⁰ *P. fumosoroseus*) de 3.9 y 3.8 respectivamente. Estos resultados han demostrado que altas concentraciones de blastoesporas de *P. fumosoroseus* pueden ser rápidamente producidas en cultivo líquido, permaneciendo viables después del secado e infectivas y matando a la mosquita blanca (Jackson *et al.*, 1997).

En 1998, Quintero Zapata utilizó una cepa de *P. fumosoroseus* para la producción de blastoesporas en diferentes medios de cultivo líquidos diseñados con dos fuentes de carbono: melaza y glucosa comercial, y dos fuentes de nitrógeno: harina de soya y solulys® en tres concentraciones (6 , 8 y 10 %). Con la glucosa comercial y solulys® al 10 %, se obtuvo una concentración de 1.85×10^9 esporas/ml. Para la viabilidad de las esporas

después del secado, el porcentaje de germinación fue de 85 % cuando los medios contenían glucosa comercial y harina de soya al 8 %.

Gómez Martínez en 1999, empleó dos medios de cultivo que contenían melaza y glucosa como fuente de carbono, mientras que contenían harina de soya, peptona y extracto de levadura como fuente de nitrógeno. Se encontró que la concentración de esporas/ml de *P. fumosoroseus* en ambos medios tuvo el mismo comportamiento, de igual manera que la sobrevivencia de las esporas a largo plazo, sugiriendo que los medios evaluados podrían ser una alternativa para el cultivo de blastoesporas de *P. fumosoroseus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cepas

La cepa de *Paecilomyces fumosoroseus* clave 612 fue proporcionada por el Dr. Mark Jackson de la colección de hongos entomopatógenos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Peoria, Illinois.

Suelos

Las muestras de suelo fueron colectadas de campos de cultivo de la Facultad de Agronomía, U.A.N.L. ubicada en Marín, N.L. De las parcelas seleccionadas, se obtuvieron muestras compuestas de la rizósfera de las plantas de siete diferentes cultivos: maíz, sorgo, frijol, chile, melón, pepino y tomate.

Análisis fisicoquímico de los suelos

Todos los suelos fueron colectados en bolsas de polietileno oscuras para posteriormente transportarlas al laboratorio, donde se secaron al aire y fueron tamizadas con un tamiz del número 20. Se realizaron determinaciones de pH, humedad, capacidad de retención, textura y conteo de microorganismos por cuenta viable en placa.

Estandarización de inóculos conidiales

A partir de cultivos de *P. fumosoroseus* de 10 días de crecimiento, las conidias fueron recuperadas al inundar la placa con 9 ml de agua destilada estéril y agitarla ligeramente de forma rotatoria. El número de estas células fue contado mediante el procedimiento estándar con la cámara de Newbawer y ajustado a la concentración deseada mediante la dilución adecuada.

Enumeración de microorganismos antagonistas

Para realizar los experimentos de antagonismo, se probaron cuatro concentraciones conidiales de *P. fumosoroseus*, 10^3 , 10^4 , 10^5 y 10^6 sobre placas con agar Sabouraud y se observó el crecimiento a las 24, 48 y 72 h.

Para la enumeración de microorganismos de suelo (rizosférico) antagonistas para *P. fumosoroseus* se empleó la técnica de la triple capa de agar, descrita por Panthier (Panthier *et al.*, 1979) con algunas modificaciones. Esta técnica en combinación con medios apropiados fue utilizada para la enumeración y aislamiento de actinomicetos, bacterias y hongos antagonistas.

Para procesar las muestras, 10 g de cada uno de los suelos fueron diluidos en solución salina estéril al 0.85 %. Las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} fueron sembradas por difusión en agar nutritivo e incubadas a 37 °C durante 24 h. Posteriormente se depositó una capa fina de agar-agar y se dejó solidificar. Finalmente se vació una tercer capa que consistió de agar Sabouraud en la cual se sembró *P. fumosoroseus* por extensión con varilla de vidrio, se incubó a 25 °C y se realizaron observaciones a las 24, 48 y 72 h. El diámetro de la zona de inhibición del crecimiento fue medido en mm y se consideró en la cuenta a aquellos microorganismos que mostraron un halo de inhibición entre 3 y 15 mm.

Aislamiento de microorganismos antagonistas

Las colonias que fueron capaces de inhibir el crecimiento de *P. fumosoroseus* se aislaron al eliminar parte de la capa superior y remover una porción de la colonia antagonista que se desarrolló en la capa inferior. Las colonias individuales fueron purificadas mediante resiembras continuas en medios de cultivo adecuados para su propagación. Se consideró en cada caso la morfología macroscópica de las colonias. Los frotis fueron teñidos con tinción de gram y posteriormente se determinaron las características microscópicas de los aislados.

Antagonismo microbiano en medio sólido

Una vez obtenida la colonia antagonista aislada y purificada, se procedió a verificar el grado de antagonismo de la siguiente manera. Inicialmente, se activó el crecimiento del antagonista mediante su inoculación en caldo

Sabouraud en el cual permaneció 24 h en agitación continua a 200 rpm. Separadamente, discos estériles de papel filtro fueron preparados y humedecidos con el antagonista presente en el caldo Sabouraud. Cuidadosamente fueron colocados en las placas que contenían a *P. fumosoroseus*. Como control se emplearon discos impregnados con agua destilada estéril. Las cajas fueron incubadas por 24, 48 y 72 h a 30°C. Los diámetros de inhibición fueron medidos y reportados después en mm.

Componente responsable de la inhibición

Para obtener el metabolito responsable de la inhibición, se hizo crecer al antagonista en caldo Sabouraud durante 24 h y en agitación continua a 200 rpm. En seguida, el caldo fue centrifugado a 3000 rpm durante 20 min. Posteriormente, se obtuvo el sobrenadante para ser filtrado en una membrana (filtro millipore de acetato de celulosa de 0.2 μ de diámetro e impregnarlo sobre discos estériles de papel filtro para colocarlos en placas (5 discos por placa) con agar Sabouraud en las que *P. fumosoroseus* había sido previamente sembrado. Discos de papel filtro impregnados con agua destilada estéril sirvieron como control en cada caso. Las placas se incubaron a 30 °C durante 24, 48 y 72 h. Los diámetros de inhibición de crecimiento fueron medidos y reportados en mm.

Ensayo con cloranfenicol

Se preparó un matraz con 200 ml de caldo Sabouraud inoculado con el microorganismo antagonista. Se colocó en agitación continua a 200 rpm durante 23 h, es decir, una hora antes de ser cosechado, en seguida se dividió el contenido del matraz en 2 partes iguales, los primeros 100 ml se vertieron en un matraz estéril y a los otros 100 ml se les adicionó 10 μ l de cloranfenicol estéril previamente preparado (a una concentración final de 170 μ g/ml en etanol). Ambos matraces fueron colocados nuevamente en agitación por una hora. Posteriormente se centrifugaron y filtraron de la forma antes mencionada. El sobrenadante proveniente del medio con antibiótico fue

empleado para impregnar discos estériles de papel filtro que fueron colocados en placas de agar Sabouraud recién sembradas con *P. fumosoroseus*. Al sobrenadante del medio sin antibiótico se le efectuó el mismo proceso, ya que fue empleado como control; las placas fueron incubadas a 30°C durante 24, 48 y 72 h.

Antagonismo en medio líquido

Para probar el grado de antagonismo en medio líquidos se efectuó de la siguiente manera: Se preparó una serie de seis matraces con 100 ml de caldo Sabouraud estéril, a cinco de los matraces se les adicionó un inóculo con una concentración de 1×10^6 conidias/ml de *P. fumosoroseus*. Posteriormente se agregó un inóculo del microorganismo antagonista a las 0, 24, 48 y 72 h posteriores a la inoculación de *P. fumosoroseus*. Uno de los matraces fue el control que contenía únicamente al microorganismo antagonista, y otro de los matraces contenía únicamente a *P. fumosoroseus*.

En la segunda parte de este experimento se procedió exactamente de la misma manera excepto porque aquí los inóculos del microorganismo antagonista se tomaron de placas en refrigeración.

Antagonismo en suelo

Frascos de vidrio transparentes tipo gerber de 80 ml de volumen se emplearon como sistemas experimentales, los cuales se prepararon mediante la adición de 10 g de suelo de frijol no estéril tamizado y seco. 16 sistemas estériles se obtuvieron al autoclavarlos por 30 minutos a 121 °C por tres días consecutivos, para asegurar así que los resultados fueran el efecto exclusivo de una interacción biológica entre *P. fumosoroseus* y el microorganismo antagonista introducido.

Cuatro de los frascos fueron inoculados con una suspensión de 2 ml de *P. fumosoroseus*, a otros cuatro se les aplicó 2 ml de una suspensión del

microorganismo antagonista, ambos a concentraciones conocidas de 1×10^6 UFC/ml. Los otros ocho frascos fueron inoculados simultáneamente con 1 ml de *P. fumosoroseus* y 1 ml del microorganismo antagonista, a igual concentración. Se dejaron en incubación a 30°C durante 0, 24, 48 y 72 h.

Con el propósito de observar si el crecimiento de *P. fumosoroseus* era afectado por el antagonista, se efectuaron diluciones de cada uno de los suelos y de cada dilución se sembró en placas con agar Sabouraud. Las observaciones del crecimiento de *P. fumosoroseus* se realizaron luego de 24, 48 y 72 h de incubación a 30°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis físicos y químicos de los suelos

En la tabla 1 se reportan los resultados de los análisis efectuados a las muestras de suelo. En general, fueron suelos neutros a débilmente alcalinos, tipo migajón, no salinos, pobres en nitrógeno y su contenido de materia orgánica varió de mediano a medianamente rico, los valores más elevados para este último parámetro, por lo general correspondieron a aquellos suelos provenientes de parcelas sujetas al sistema de rotación de cultivo, maíz y frijol. En la tabla 2 se muestran los análisis de micronutrientes para los diferentes suelos. Los niveles de fierro fluctuaron de 1.02 a 2.45 para los suelos estudiados. Su importancia radica en la notable influencia que ejerce sobre el metabolismo de bacterias y además en los cambios que induce su presencia en el antagonismo microbiano asociado con bacterias de importancia agronómica (Heming *et al.*, 1982).

Criterios de selección de microorganismos antagonistas

Es importante resaltar que para la selección de microorganismos antagonistas se consideraron únicamente aquellos capaces de producir halos de inhibición del crecimiento de *P. fumosoroseus*, ya que existen otras características que también pueden presentarse en fenómenos antagonistas como son las desviaciones en el crecimiento circular o deformación de la colonia, diferencia en el color, esporulación o morfología de la misma (Cole 1994), las cuales no fueron consideradas en este estudio.

Relación entre la densidad de población y concentración de antagonistas

Se puede apreciar que suelos obtenidos de parcelas de campo sujetas a diversos cultivos y prácticas culturales exhibieron niveles variables de densidad de población (Tabla 3) y de poblaciones antagonistas.

Tabla 1. Análisis físicos y químicos de los suelos

Parámetro	Tipo de Cultivo						
	Sorgo	Chile	Tomate	Pepino	Frijol	Melón	Maíz
Humedad (%)	12.9	16.3	17.43	18.35	16.4	19.0	14.7
Densidad aparente (g/cc)	1.3	1.3	1.57	1.31	1.32	1.28	1.4
pH	8.03	8.19	7.89	8.20	7.26	7.54	7.27
Textura del suelo:	Migajón Arcilloso	Migajón Arcilloso	Arena Migajón	Migajón	Migajón	Migajón Arcilloso	Migajón arenoso
Arena %	29.48	25.12	82.4	25.48	26.76	25.12	36.76
Limo %	34.00	40.72	6.36	31.96	42.00	35.64	42.92
Arcilla %	36.52	34.16	11.24	42.56	31.24	39.24	20.32
Materia orgánica (%)	2.28	2.55	0.83	2.69	2.89	2.76	3.38
Nitrógeno total (%)	0.162	0.173	0.126	0.14	0.147	0.126	0.154
Potasio (%)	1.0	1.0	1.5	1.3	1.4	1.0	1.0

Tabla 2. Análisis de micronutrientes en los suelos

Nutriente	Tipo de cultivo						
	Frijol	Maíz	Pepino	Tomate	Melón	Sorgo	Chile
% Fe	2.32	1.70	2.28	2.45	1.02	1.78	1.05
% Ca	5.20	6.90	4.80	4.22	0.45	0.50	0.63
% Mg	0.70	0.54	0.70	0.80	0.75	0.77	0.70
% Mn	0.028	0.016	0.034	0.04	0.05	0.04	0.04
ppm Zn	59	42	46	69	51	49	59
ppm Cu	15	11	12	21	19	17	5

Tabla 3. Densidad de poblaciones microbianas en los diferentes tipos de suelo analizados

Muestra de suelo	Densidad de poblaciones
Frijol	10^7
Pepino	10^6
Tomate	10^4
Maíz	10^6
Melón	10^5
Sorqo	10^5
Chile	10^5

Los suelos cultivados con frijol y maíz, hospedaron la mayor cantidad de actinomicetos antagonistas con 3×10^6 y 2×10^4 UFC/ml respectivamente, mientras que en cultivos de sorgo, tomate, chile, pepino y melón no se determinó ninguna colonia antagonista (Tabla 4).

Tabla 4. Cantidad de microorganismos antagonistas en los diferentes suelos analizados

Tipo de suelo	Concentración
Frijol	3×10^6
Maíz	2×10^4
Sorqo	-
Tomate	-
Chile	-
Pepino	-
Melón	-

- = no detectado

El cultivo sembrado en cada parcela, así como el sistema de manejo al que se somete, parecieron ser factores que influyen en la cantidad de actinomicetos y bacterias antagonistas a *P. fumosoroseus*. De los siete suelos analizados, aquellos obtenidos de parcelas cultivadas con sorgo, tomate, chile, pepino y melón, pertenecieron al sistema de cultivo continuo, mientras que los de maíz y frijol, al sistema de rotación de cultivos. Para la población de actinomicetos antagonistas, los valores más bajos correspondieron en general a aquellos suelos cultivados bajo el sistema continuo. Mientras que el suelo rizosférico de parcelas de campo, cultivadas con frijol bajo el sistema de rotación exhibió el mayor nivel de actinomicetos antagonistas, esto concuerda con los hallazgos reportados por Luna Olvera en 1998, en su investigación sobre supresión de *Fusarium moniliforme* por *B. thuringienses* en la cual reporta que los suelos cultivados con algodón y frijol hospedan la mayor cantidad de actinomicetos antagonistas para *B. thuringienses* por pertenecer al sistema de rotación en contraste con suelos de cultivo continuo, esto debido a que algunos factores del suelo tales como pH, composición química y características físicas del suelo varían continuamente con cada cultivo teniendo un profundo efecto sobre los hongos de suelo (Cook & Baker, 1983), y podrían también ser responsables para la variación en las poblaciones de bacterias antagonistas.

Dado que el porcentaje de antagonistas siempre está en función de la población total de organismos, en algunos casos se pudo observar que en suelos donde hubo una cantidad relativamente alta de antagonistas, pero a la vez una población total alta, el porcentaje así calculado decrece, debido al gran número de microorganismos que no fueron antagonistas a *P. fumosoroseus*, éste fue el caso de las muestras de suelo de maíz que a pesar de encontrarse en una concentración de 2×10^4 UFC/ml representó solo el

2% de la densidad total de los microorganismos. Caso contrario ocurrió con las muestras de suelo de frijol, en las cuales la alta concentración de antagonistas no disminuyó con respecto a la alta densidad de población total, sino que se mantuvo representando un 30 % de la densidad total (Tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de antagonistas en la población microbiana del suelo

Suelo	Densidad total	Densidad de antagonistas	Porcentaje
Frijol	1×10^7	3×10^6	30 %
Maíz	1×10^6	2×10^4	2 %

Para estimar microorganismos antagonistas fue necesario trabajar con una dilución de suelo que pudiera permitir el conteo de la población total, pero que a la vez facilitara contar el más pequeño número de colonias que fueran antagonistas. Los cálculos involucraron las dos cuentas separadas sobre la misma placa.

Población de hongos antagonistas

Se confirmó que la técnica de triple capa de agar no es factible de ser utilizada como medio para el conteo y aislamiento de hongos antagonistas contra *P. fumosoroseus*, lo cual ya había sido especificado por Espinoza-Meade en su investigación sobre antagonismo hacia *B. thuringiensis* en 1994. Una de las principales razones, es debido a la naturaleza extensiva de muchos hongos de suelo que, al colonizar rápidamente la placa invaden otras colonias bacterianas, con lo cual hacen muy difícil su aislamiento. Sin embargo, aún cuando no fue posible aislar hongos antagonistas, se observó que el suelo contiene varias especies de hongos antagonistas a *P. fumosoroseus*.

Aislamiento de microorganismos antagonistas

La técnica de la triple capa de agar permitió llevar a cabo el aislamiento de organismos que mostraron antagonismo a *P. fumosoroseus* y que fueron seleccionados en base a su predominancia en las muestras de suelo. Una cepa de actinomicetos fue aislada de suelos de maíz y frijol, al producir cuatro halos de inhibición cuyos diámetros fueron 10 a 15 mm. Estas colonias mostraban consistencia firme y permanecían fuertemente adheridas al agar, además de poseer el típico olor a tierra mojada. Al microscopio, aparentaban la formación de evidentes ramificaciones filamentosas (Tabla 6).

Por otra parte, una cepa bacteriana obtenida de un suelo cultivado con pepino fue capaz de producir halos de inhibición del crecimiento de *P. fumosoroseus* de entre 7 a 12 mm de diámetro. Las colonias de este organismo resultaron ser de planas, amorfas, color beige, cremosas y opacas.

Tabla 6. Características coloniales y morfológicas del



Figura 1. Inhibición del crecimiento de *Paecilomyces fumosoroseus* por la cepa antagonista en placa de agar Sabouraud.

Microscópicamente las células se observaban como bacilos septados, pero desafortunadamente su actividad fue inconsistente al no reproducir la inhibición de crecimiento en placas de agar Sabouraud sembradas con *P. fumosoroseus*, por lo cual fue descartada luego de varios intentos. La explicación probable para esto es que la actividad antagonista de algunas cepas depende del medio empleado. Esta colonia fue aislada de los experimentos iniciales en las cajas con la triple capa de agar, donde creció sobre agar nutritivo, para reproducir el efecto antagonista de inhibición se requería agar Sabouraud. Esto de acuerdo con una serie de experimentos realizados en 1992(a y b) por Hebbar *et al.*, en los cuales trabajó con rizobacterias de maíz y actinomicetos antagonistas a *F. moniliforme*, donde se encontró que en dos medios de cultivo diferentes, algunas cepas bacterianas y de actinomicetos fueron activas tanto en medio PDA como en medio B de King, mientras que otras sólo fueron activas en el segundo.

Tabla 6. Características coloniales y morfológicas del principal antagonista a *Paecilomyces fumosoroseus*

Morfología Macroscópica	
Diámetro	14 mm
Borde	Filamentoso
Elevación	Plana
Color	Beige opaca
Consistencia	Dura
Estructura interna	Granulosa
Superficie	Amorfa
Morfología Microscópica	
Forma	Bacilo septado
Tamaño	Largo
Gram	Positivo

Estandarización de la concentración de conidias de *P. fumosoroseus*

Aunque existen algunos antecedentes de antagonismo contra otros hongos, es importante mencionar que cada hongo presenta un tiempo específico de germinación de conidias dependiendo del medio de cultivo y de la concentración a la cual se encuentre sembrado. Para la realización de los experimentos de antagonismo contra *P. fumosoroseus*, se requería de una germinación de conidias abundante sobre placas de agar Sabouraud en un lapso de tiempo corto, por lo que se determinó que la concentración más adecuada fue de 10^6 conidias/ml (Tabla 7).

Tabla 7. Concentración de conidias de *P. fumosoroseus* y crecimiento miceliar a diferentes tiempos de incubación

Concentración (Conidias/ml)	Tiempo de incubación		
	24 h	48 h	72 h
10^3	-	-	+
10^4	-	+	+
10^5	-	+	++
10^6	+	++	+++

+ = crecimiento miceliar

Interacción en medio de cultivo

Los organismos antagonistas previamente seleccionados, fueron sometidos a estudios de interacción en medio de cultivo sólido y líquido, agar y caldo Sabouraud respectivamente, con el propósito de determinar su influencia sobre *P. fumosoroseus*. Así mismo, los ensayos en los cuales la inhibición de la germinación de esporas fue observada, se adaptaron para determinar si el efecto producido por el antagonista era de tipo fungicida o fungistático. Las conidias que no germinaron fueron removidas y resuspendidas en un medio

de crecimiento estéril, al germinar éstas se comprobó que el efecto producido por el antagonista sobre *P. fumosoroseus* es fungistático (Cole, 1994).

Sobre placas de agar Sabouraud, en ausencia de organismos antagonistas, *P. fumosoroseus* se multiplicó rápidamente y alcanzó su máximo crecimiento al tapizar toda la placa en 72 h posteriores a su inoculación. En contraste, cuando *P. fumosoroseus* fue incubado junto con el organismo antagonista, su crecimiento era fuertemente inhibido, observándose como grandes áreas sin crecimiento (Fig.1). En presencia del antagonista, la densidad de *P. fumosoroseus* exhibió una evidente disminución.

Un efecto amensalista se confirmó mediante la formación de halos de inhibición. Sin embargo, el sobrenadante filtrado de los cultivos de organismos antagonistas impregnado en discos de papel filtro no fue suficiente para producir efectos inhibitorios en el crecimiento de *P. fumosoroseus*, lo cual nos llevó a pensar que se requería de un íntimo contacto celular para que se efectuara algún grado de antagonismo, además de la producción y liberación de algún factor biológico activo de estos antagonistas al medio. Esta sospecha fue confirmada posteriormente. Debido a que el metabolito difundible no se logró aislar y con la finalidad de comprobar que la presencia de células del antagonista era necesaria para producir el efecto de inhibición del crecimiento, se realizó un ensayo con cloranfenicol. Este antibiótico fue elegido por presentar dos características importantes: detener la síntesis de proteínas de cualquier microorganismo sin afectar su presencia. Los resultados de este ensayo comprobaron que se requiere de un metabolismo activo, es decir síntesis de proteínas. Cuando este metabolismo no se presenta, no hay inhibición de *P. fumosoroseus*, aún cuando las células del antagonista se encuentren presentes. Este resultado concuerda con un experimento efectuado por Yuan & Crawford en 1995, con *Streptomyces* cepa WYEC108 antagonista sobre varios hongos. En este ensayo la inhibición del crecimiento fúngico presentada cinco días posteriores a la

inoculación de WYEC108, se debía a compuestos excretados que difundían en el medio. Siendo algunos hongos probados en este ensayo *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Phymatotrichum* spp. Sin embargo, en todos los casos, la presencia de células vivas y en metabolismo activo del antagonista fue requerida para la inhibición total.

En cuanto a la interacción de *P. fumosoroseus* con el microorganismo antagonista en matraces con caldo Sabouraud, los resultados se muestran en la tabla 8, así como en los Anexos 1 y 2. En la primer serie de experimentos (A) en los cuales el antagonista se encontraba en un crecimiento activo, se observó que en los matraces 1 y 2, correspondientes a 0 y 24 h de crecimiento del hongo respectivamente, la inhibición por parte del antagonista fue total. En el matraz 1 solo se observaron las células del antagonista y alguna conidia. En el matraz 2 el hongo tuvo oportunidad de producir mayor número de conidias, pero éstas fueron incapaces de germinar y producir micelio. En cuanto a los matraces 3 y 4, correspondientes a 48 y 72 h de crecimiento, se observó que no hubo inhibición, el hongo tuvo suficiente tiempo para poder producir su micelio y al ser inoculado el antagonista ya no tuvo oportunidad de crecer ni desarrollarse. En contraste, en la segunda serie de experimentos (B) en los cuales el antagonista se hallaba inactivo, se observó que no hubo inhibición en ninguno de los matraces, ni siquiera en el que fueron inoculados simultáneamente hongo y antagonista. El hongo tuvo la ventaja de estar en crecimiento activo y no permitió el crecimiento del antagonista. Con estas dos series de experimentos se demuestra nuevamente que para una inhibición total por parte del antagonista, se requiere de células en crecimiento y por lo tanto de un metabolismo activo.

Tabla 8.- Efecto del precultivo del antagonista y el tiempo de crecimiento de *P. fumosoroseus* previo a su interacción en cultivo líquido.

Tiempo (h)	Inhibición de crecimiento fúngico	
	Sin Precultivo	Con Precultivo
0	-	+
24	-	+
48	-	-
72	-	-

Interacción en suelo

Por medio de 16 unidades experimentales a base de suelo estéril de frijol, se determinó la interacción del antagonista con *P. fumosoroseus*. En la tabla 9 se observa en general que conforme avanzó el tiempo de incubación, la concentración del hongo decreció marcadamente hasta no encontrarse ninguna célula del hongo presente, en contraste con un aumento del antagonista. Se determinó que la concentración inicial del hongo sólo se conservó dentro de las 24 h siguientes a su inoculación y encontrándose éste microorganismo sólo sin interactuar con el antagonista, y posteriormente decreció. En cuanto a los sistemas de interacción de hongo-antagonista, la disminución se observó dentro de las 24 h siguientes a su inoculación. Se determinó que la disminución de la concentración inicial del hongo no sólo es originada debido al efecto inhibitorio del antagonista, sino que también decrece al no encontrar la humedad relativa adecuada en el suelo, como se observa en la columna H. En cuanto al antagonista, en todos los sistemas experimentales se observó un aumento en el número en comparación con la concentración inicial que era de 10^6 hasta una concentración mayor de 10^{10} . Con estos resultados se comprueba que además de ser fuertemente

antagonizado el hongo *P. fumosoroseus* por microorganismos del suelo, también es afectado por otros factores abióticos que se presentan en el suelo.

Tabla 9. Interacción de *P. fumosoroseus* y antagonista en suelo estéril.

Tiempo de crecimiento (h)	Concentración		
	H	A	H/A
0	10^6	10^6	$10^6/10^6$
24	10^6	10^8	$-/10^8$
48	10^2	10^8	$-/10^8$
72	-	10^{10}	$-/10^9$

H: hongo *P. fumosoroseus*

A: antagonista

HA: interacción hongo-antagonista.

La técnica de la triple capa de agar, utilizada para el aislamiento de actinomicetos de suelo antagonistas a patógenos fúngicos de plantas, ha sido empleada para hallar antagonistas de *Fusarium roseum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* y *Verticillium aboatrum* (Herr 1959). La actividad inhibitoria de actinomicetos y bacterias nativas de suelo contra cepas de *P. fumosoroseus* se midió al utilizar esta técnica. Los actinomicetos demostraron la mayor actividad antagonista. La disminución poblacional de *P. fumosoroseus* por microorganismos antagonistas nativos del suelo, inoculados en medio de cultivo, se atribuyó a la producción de un factor biológico activo que fue producido y liberado al medio, cuya naturaleza química se desconoce. Como este ensayo se efectuó en un medio de cultivo, existió un contacto íntimo entre los microorganismos, sin barreras físicas que pudieran intervenir en tal evento biológico. La presencia del antagonista empleado disminuyó drásticamente la población de *P. fumosoroseus* en un

periodo de 24 h, mientras que en ausencia del antagonista, *P. fumosoroseus* se desarrolló hasta alcanzar niveles máximos de 10^9 cel/ml de medio. Los resultados apoyan que este hongo es susceptible a la acción de otros microorganismos nativos del suelo. Esto posiblemente proporcione una causa biológica que limita el potencial de acción de esta bacteria en la naturaleza.

Los resultados de los estudios antagonistas por miembros de la comunidad del suelo hacia *P. fumosoroseus*, sugieren que tal mecanismo ecológico se manifiesta en función de diversos factores, entre estos el tipo de cultivo al que es sometido el suelo. Una marcada tendencia antagónica fue exhibida para aquellos suelos tratados bajo el sistema de rotación y efectos contrarios para suelos cultivados con el sistema continuo. Explicaciones a este fenómeno son atribuidas a que tales prácticas pueden modificar niveles de nutrientes, sustratos orgánicos, pH, aireación, humedad y temperatura, que influyen el crecimiento de microorganismos (Martyniuk y Wagner, 1978).

Dentro de las comunidades microbianas estudiadas en el suelo, los actinomicetos han mostrado ser un grupo predominantemente antagonista no solo para *P. fumosoroseus*, sino en estudios enfocados sobre *R. japonicum* (Pugashetti *et al.*, 1982), donde se ha observado que en rizósfera de frijol los actinomicetos antagonistas incluyeron a más del 70 % de los actinomicetos totales, mientras que de bacterias consistieron en menos del 10 % del total, manteniéndose esta proporción constante en diferentes cultivos o prácticas de manejo de suelos. En el interés de un uso responsable de patógenos de artrópodos, y un control de plagas predecible, la habilidad de estos patógenos para establecerse como miembros activos del suelo en una comunidad microbiana, requiere ser estudiado.

La producción de sustancias antimicrobianas, las altas tasas de crecimiento, la capacidad para utilizar un amplio rango de fuentes de carbono exudados por las raíces y la producción de enzimas extracelulares, son características

que algunos microorganismos presentan para colonizar rápidamente, por ejemplo *Pseudomonas cepacia* (Hebbar *et al.*, 1992d). La carencia de estas habilidades podría ser alguna de las razones por las cuales *P. fumosoroseus* es incapaz de colonizar suelos y raíces de plantas, y de esta forma explicar en parte su marcada ausencia en estos ecosistemas. Otros factores importantes en la colonización del suelo son la disponibilidad de nutrientes y la presencia de microorganismos nativos (Jenkinson, 1981), así como la habilidad para germinar de cada microorganismo, pues algunos responden a diferentes inductores de germinación (West *et al.*, 1985). Por otro lado, la incapacidad para crecer bajo condiciones naturales del suelo, enfatiza que *P. fumosoroseus* no está adaptado para sobrevivir como un miembro activo de la comunidad microbiana del suelo.

PERSPECTIVAS DEL PRESENTE ESTUDIO

Con los resultados obtenidos se comprueba que el antagonismo por microorganismos nativos del suelo afecta fuertemente la estabilidad y persistencia de *Paecilomyces fumosoroseus*. Esto nos conduce a la idea de efectuar un mejoramiento de los formulados actuales por medio de la implementación de una estrategia biotecnológica que permita a *P. fumosoroseus* obtener ventaja contra el ataque de estos microorganismos, la cual podría ser un encapsulamiento del microorganismo en los formulados comerciales para aumentar su resistencia al ataque de estas especies. Por otro lado, la búsqueda de una metodología completa con la cual se garantice el aislamiento del metabolito causante de la inhibición del crecimiento con el propósito de conocer con exactitud su sitio y forma de ataque contra *P. fumosoroseus* para fortalecerlo por medio de tecnología de DNA recombinante, y asimismo, probar el potencial antagónico del metabolito contra otras especies de hongos que resultan patógenas a cultivos agrícolas para su posterior empleo como una alternativa de control contra estos microorganismos.

CONCLUSIONES

- 1) La técnica de la triple capa de agar resultó efectiva para aislar e identificar microorganismos antagonistas contra *P. fumosoroseus*
- 2) El microorganismo antagonista aislado fue identificado como actinomiceto, el cual se encontró únicamente en suelos sometidos al sistema de rotación de cultivos con pH cercano al neutro y alto contenido de materia orgánica.
- 3) El metabolito difundible causante de la inhibición del crecimiento de *P. fumosoroseus* no pudo ser aislado con la metodología empleada en este trabajo.
- 4) En todos los experimentos se requirió de la presencia de células del antagonista con metabolismo activo .
- 5) Existen factores abióticos como la humedad, que también afectan la estabilidad de *P. fumosoroseus* en el suelo.

LITERATURA CITADA

- Agudelo F. & L. Falcón. 1993. Mass production, infectivity and field application of the entomogeneous fungus *Paecilomyces farinosus*. J. Vertebr. Pathol. 42: 124–132.
- Ainsworth G.C. 1981. Introduction to the history of plant pathology. Cambridge Univ. Press. Cambridge. pp. 11–34.
- Altre J.A., J.D. Vandenberg & F. A. Cantone. 1998. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: Correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. J. Invertebr. Pathol. 73: 332–338.
- Ann P.J. 1994. Survey of soils suppressive to three species of *Phytophthora* in Taiwan. Soil Biol. Biochem. 26: 1239–1248.
- Baker K.F. 1980. Developments in plant pathology and mycology, 1930–1980. En "Perspectives in World Agriculture". Ed. Commonwealth Agriculture Bureau. England. pp. 207–236.
- Balows A., W.J. Hausler, K.L. Hermann, H.D. Isenberg & H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th Edition. American Society of Microbiology. pp. 1296.
- Becker H., J. Cortiss, J. De Quattro, M. Guerriets, D. Senft & M. Wood. 1992. Get the whitefly swatter fast. Agricul. Research 40: 4–13.
- Bellows T.S., T.M. Perring, R.J. Gill, & D. H. Headrick. 1994. Description of Species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). Annual Entomol. Soc. Am. 87: 195–206.
- Cabello T. & P. Barranco. 1995. Prácticas de Entomología Agrícola. Universidad de Almería. Almería. pp. 149.

- Cabello T., I. Carricondo, L. Justicia & J.E. Belda. 1996. Biología y control de las especies de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Gen.) y *Bemisia tabaci* (West)(Hom.;Aleyrodidae) en cultivos hortícolas en invernaderos. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla, España. pp. 96.
- Campbell R.K, G.L. Barnes, B.O. Cartwright & Eikenbary. 1983. Growth and Sporulation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in basal medium containing various carbohydrate sources. J. Inverteb. Pathol. 41: 117-121.
- Carruthers R.I. & R.S. Soper. 1987. Fungal diseases in epizootiology of insect diseases. J. R. Fuxa & Tanada eds. New York. pp. 336-72.
- Casida L.E., Jr. 1988. Response in soil of *Cupriavidus necator* and other cooper-resistant bacterial predators of bacteria to addition of water, soluble, nutrients, various bacterial species, or *Bacillus thuringiensis* spores and crystals. Appl. Environ. Microbiol. 54: 2161-2166
- Casida L.E., Jr. 1989. Protozoan response to the addition of bacterial predators and other bacteria in soil. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1857-1859.
- Chao W.L. & M. Alexander. 1981. Interaction between protozoa and *Rhizobium* in chemically amended soil. Soil Science. Soc. Am. J. 45: 48-50
- Cole M.D. 1994. Key Antifungal, antibacterial and anti-insect assays—a critical review. Biochemical Systematics and Ecology. Elsevier Science. 22: 837-856.
- Cook J.R. & K.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Am. Phytopathol. Soc. St. Paul. pp. 17-22.
- Deacon J.W. 1984. Aspect of Microbiology: microbial control of plant pests and diseases. Van Nossstrand Reinhold UKO Co. Ltd. 7: 31-42.
- De la Cruz A.R., A.R. Poplawsky & M.V. Wiese. 1992. Biological supression of potato ring rot by fluorescent *Pseudomonas*. Appl. Environ. Microbiol. 58: 1986-1991.

- Espinoza–Meade, E. 1990. Antagonismo microbiano contra *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Licenciatura de Químico Bacteriólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. México.
- Gerling D. 1986. Natural enemies of *Bemisia tabaci*, biological characteristics and potencial as biological control agents: a review. Agriculture, Ecol. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam.
- Gilbert G.S., J.L. Parke, M.K. Clayton, J. Handelsman. 1993. Effects of an introduced bacterium on bacterial communities on roots. Ecology. 74: 840–854.
- Gilbert G.S., J. Handelsman & J.L. Parke. 1990. Role of ammonia and calcium in lysis of zoospores of *Phytophthora cactorum* by *Bacillus cereus* strain UW85. Experimental Mycology. 14: 41–46.
- Gill R.J. 1990. The morphology of whiteflies. In whiteflies: their bionomics, pest status and management. (D. Gerling, Ed.). Athanaeum Press Newcastle upon Tyne. United Kingdom. pp. 13–46.
- Greathead A.H. 1986. *Bemisia tabaci*, host plants, in *Bemisia tabaci*, a literature survey. (M. J. W. Cock Ed). Chameleon Press Limited. London, England. pp. 17–26.
- Goettel M.S., T.J. Poprawski, J.D. Vandenberg, Z. Li & D.W. Roberts. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. Safety of microbial insecticides. In Laird, Lacey y Davidson editores. CRC. Florida. pp. 209–231.
- Gómez–Martínez, B. 1999. Producción de blastoesporas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en dos diferentes medios de cultivo líquido. Tesis de Licenciatura de Químico Bacteriólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. México.
- Halverson L.J., M.K. Clayton & J. Handelsman. 1993. Population biology of *Bacillus cereus* UW85 in the rhizosphere of field–grown soybeans. Soil Biol. Biochem. 23: 485–493.

- Halverson L.J. & J. Handelsman. 1991. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW85 in the field and in a growth chamber. *Appl. Environ. Microbiol.* 14: 2767–2770.
- Handelsman J., S. Raffel, E.H. Mester, L. Wunderlich & C.R. Grau. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seedlings with *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 713–718.
- Hebbar K.P., A.G. Davey & P.J. Dart. 1992a. Rhizobacteria of maize antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a soil-borne fungal pathogen: isolation and identification. *Soil Biol. Biochem.* 24: 979–987.
- Hebbar K.P., A.G. Davey, J. Merrin & P.J. Dart. 1992b. Rhizobacteria of maize antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a soil-borne fungal pathogen: colonization of rhizosphere and roots. *Soil Biol. Biochem.* 24: 989–997.
- Hebbar K.P., A.G. Davey, J. Merrin, T.J. Mc Loughlin & P. J. Dart. 1992c. *Pseudomonas cepacia*, a potential supressor of maize soil-borne diseases–seed inoculation and maize root colonization. *Soil Biol. Biochem.* 24: 999–1007.
- Hebbar K.P., D. Atkinson, W. Tucker & P.J. Dart. 1992d. Suppression of *Fusarium moniliforme* by maize root-associated *Pseudomonas cepacia*. *Soil. Biol. Biochem.* 24: 1009–1020.
- Hernández V.M. y E. Garza. 1994. Patogenicidad de *Paecilomyces fumosoroseus* a mosquita blanca *Bemisia tabaci*, (Genn) (Homopterra: Aleyrodidae), VII Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca, Oax. México.
- Herr L.J. 1959. A method of assaying soils for numbers of actinomycetes antagonistic to fungal pathogens. *Phytopathology. Becton, Dickson and Company.* 49: 270–273.

- Howell C.R. & R.D. Stipanovic. 1980. Suppression of *Phytophthora ultimum* - induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. *Phytopathology*. 70: 712-715.
- Humphrey A.M., P. Matewele, B. Cunliffe & P.J. Trinci. 1990. Comparison of sporulation of *Paecilomyces farinosus* and *Beauveria bassiana* in batch and feed-batch culture. *Mycological Research*. 94: 1046-1050.
- Ibrahim Y.B. & W. Low. 1993. Potential of mass production and field efficacy of isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against *Plutella xylostella*. *International J. Pest Management*. 39: 288-292.
- Inch J.M., A. Humphreys & P.J. Trinci. 1986. Growth and blastospore formation by *Paecilomyces fumosoroseus*, a pathogen of brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*) *Transactions of the British Mycol. Soc.* 87: 215-222.
- Jackson M.A., M.R. Mc. Guire, L.A. Lacey & S. P. Wraight. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycol.* 101: 35-41.
- Jenkinson D.S. 1981. The fate of plant and animal residues in soil. *Chemistry of Soil Processes*. Greenland-Hayes Eds. pp. 506-561.
- Lacey L.A. & M.S. Goettel. 1995. Current developments in microbial control of insects pests and prospects for the early 21st Century. *Entomophaga*. 40: 3-27.
- Lacey L.A., A.L.M. Mesquita, G. Mercadier, R. Debire, D.J. Kazmer & F. Leclant. 1997. Acute and sublethal activity of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on adult *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environ.Entomol.* 26: 1452-1460.
- Lacey L.A., A.A. Kirk, L. Millar, G. Mercadier, C. Vidal. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus*

- (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homóptera: Aleyrodidae). *Biocontrol Science and Technology*. 9: 234–238.
- Landa Z., L. Osborne, F. López & J. Eyal. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on Whiteflies. *Biol. Control*. 4: 341–350.
- Lestón A. 1999. Dinámica de la población de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) y estudio del parasitismo de *Eretmocerus mundus* Mercet en pimiento (*Capsicum annum* L.). Universidad de Almería. Almería, España.
- Loper J.E. 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Phytophthora ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology*. 78: 166–172.
- López-Avila A. 1986. Taxonomy and biology of *Bemisia tabaci*, in *Bemisia tabaci*, a literature survey. (M.J.W. Cock. Ed). Chameleon Press Limited. London, England. pp. 3–12.
- Lorence, Q.A. 1996. Los biopesticidas en el marco de la agricultura sustentable. *Cuadernos de vigilancia tecnológica, Cambiotec*. UNAM. México. pp. 39–43.
- Luna-Olvera, H.A. 1998. Supresión de *Fusarium moniliforme* por *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Doctorado en Ciencias con Esp. Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. México.
- Lynch, M., S.S. Raphael, D.L. Mellor & P.D. Spare. 1985. Métodos de Laboratorio. 2da. Edición. Editorial Interamericana. México, D. F.
- Martyniuk S. & G.H. Wagner. 1978. Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. *Soil Sci*. 125: 343–350.
- Mellin M.A. & E. Garza. 1994. Sensibilidad *in vitro* de estados ninfales de mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Homóptera:aleyrodidae) a 12 aislamientos de

Paecilomyces spp. XVII. Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca, Oax. México.

Mesquita A.L.M., L.A. Lacey, G. Mercadier & F. Leclant. 1996. Entomopathogenic activity of a whitefly derived isolate of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) with the description of an effective bioassay method. *Europ. J. Entomol.* 93: 69-75.

Mesquita A.L.M., L.A. Lacey & F. Leclant. 1997. The individual and combined effects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and the parasitoid, *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) on confined populations of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) under field conditions. *J. Appl. Entomol.* In press.

Osborne L.S. 1990. Biological control of whiteflies and other pest with fungal pathogen. United States Patent. 4: 942-1030.

Osborne L.S. , G.K. Storey., C.W. McCoy and J.F. Walter. 1990. Potential for controlling the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, with the fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Proceedings of the 5 International Colloquium on the Invertebrate Pathology an the Microbial Control.* Adelaide Australia. 20-24 August, 1990. pp. 386

Osborne L.S. & D. Gerling. 1992. *Bemisia*. Newsletter. 5. University of Florida and Tel Aviv University.

Osborne L.S. & Z. Landa. 1992. Biological control of whiteflies with entomogenous fungi. *Florida Entomol.* 75: 456-471.

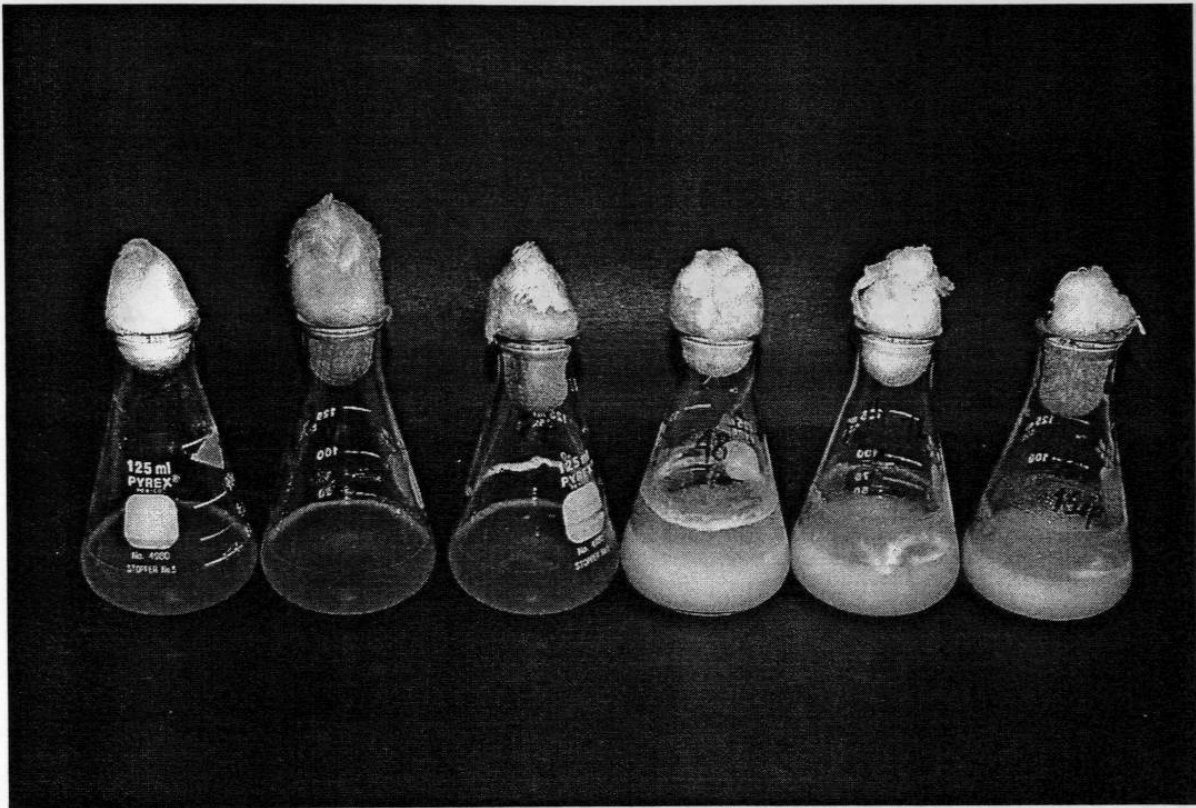
Panthier J.J., H.G. Diem & Y. Dommergues. 1979. Rapid method to enumerate and isolate soil actinomycetes antagonistic toward rhizobia. *Soil Biol. Biochem.* 11: 443-445.

- Patel J.J. 1974. Antagonism of actinomycetes against rhizobia. *Plant soil*. 41: 395–402.
- Perring T.M., A.D. Cooper., R.J. Rodríguez, C.A. Farrar, & T.S. Bellows. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259: 74–77.
- Pugashetti B.K., J.S. Angle & G.H. Wagner. 1982. Soil microorganisms antagonistic toward *Rhizobium japonicum*. *Soil. Biol. Biochem.* 14: 45–49.
- Quintero–Zapata I. 1998. Producción de esporas de *Paecilomyces fumosoroseus* en diferentes medios de cultivo líquido. Tesis de Maestría con Especialidad en Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. México.
- Riba, G., Y. Couteaudier, P. Maurer & C. Neuvéglise. 1994. Molecular methods offer a new challenge for fungal bioinsecticides. VI International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Montpellier, France. pp. 375–379.
- Rosales A.M. & T.W. Mew. 1997. Suppression of *Fusarium moniliforme* in rice by rice associated antagonistic bacteria. *Plant Dis.* 81: 49–52.
- Rosenzweig W.D. & G. Stotzky. 1979. Influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: clay minerals and pH. *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 1120–1126.
- Rosenzweig W.D. & G. Stotzky. 1980. influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: nutrient levels. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 354–360.
- Rytter J.J., F.L. Lukezic, R. Craig & G.W. Moorman. 1989. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology.* 79: 367–370.
- Samson R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. In “Studies in Mycology”. Vol. 6. Baarn. The Neetherlands.

- Shimizu S. & K. Aizawa. 1992. Antigenic structures of blastospores of three entomopathogenic *Paecilomyces* species and *Nomuraea rileyi*, J. Inverteb. Pathol. 59: 106–108.
- Silo–Suh L.A., B.J. Lethbridge, S.J. Raffel., H. He, J. Clardy & J. Handelsman. 1994. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2023–2030.
- Smith P. 1993. Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. Biocontrol News and Information. 14: 71–78.
- Smits N., J. Fargues & M. Rougier. 1997. Modelling the persistence of quiescent conidia of the entomopathogenic hyphomycete *Paecilomyces fumosoroseus* exposed to solar radiation. Biocontrol Science and Technology. 7: 234
- Sneh B., M. Dupler, Y. Elad & R. Baker. 1984. Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium*–suppressive soil. Phitopathology. 74: 1115–1124.
- Trinick M.J., C.A. Parker y M.J. Palmer, 1983. Interactions of the microflora from nodulation problem and non–problem soils toward *Rhizobium sp* on agar culture. Soil Biol. Biochem. 15: 295–301.
- Valenzuela L.E. 1987. Microorganismos entomopatógenos: su aprovechamiento en el control de insectos plaga. 1ª edición. Ed. Silva Castillejo. México. pp. 15–26.
- Vega F.E. 2000. USDA–ARS.[http:// www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf403.html](http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf403.html)
- Vega F.E., M.R. McGuire, B.S. Shasha & M. A. Jackson. 1996. Lyophilized formulations of *P. fumosoroseus*. J. Inverteb. Pathol. 67: 110–115.
- Vidal C., J. Fargues & L.A. Lacey. 1997a. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of temperature on vegetative growth. J. Inverteb. Pathol. 70: 18–26.

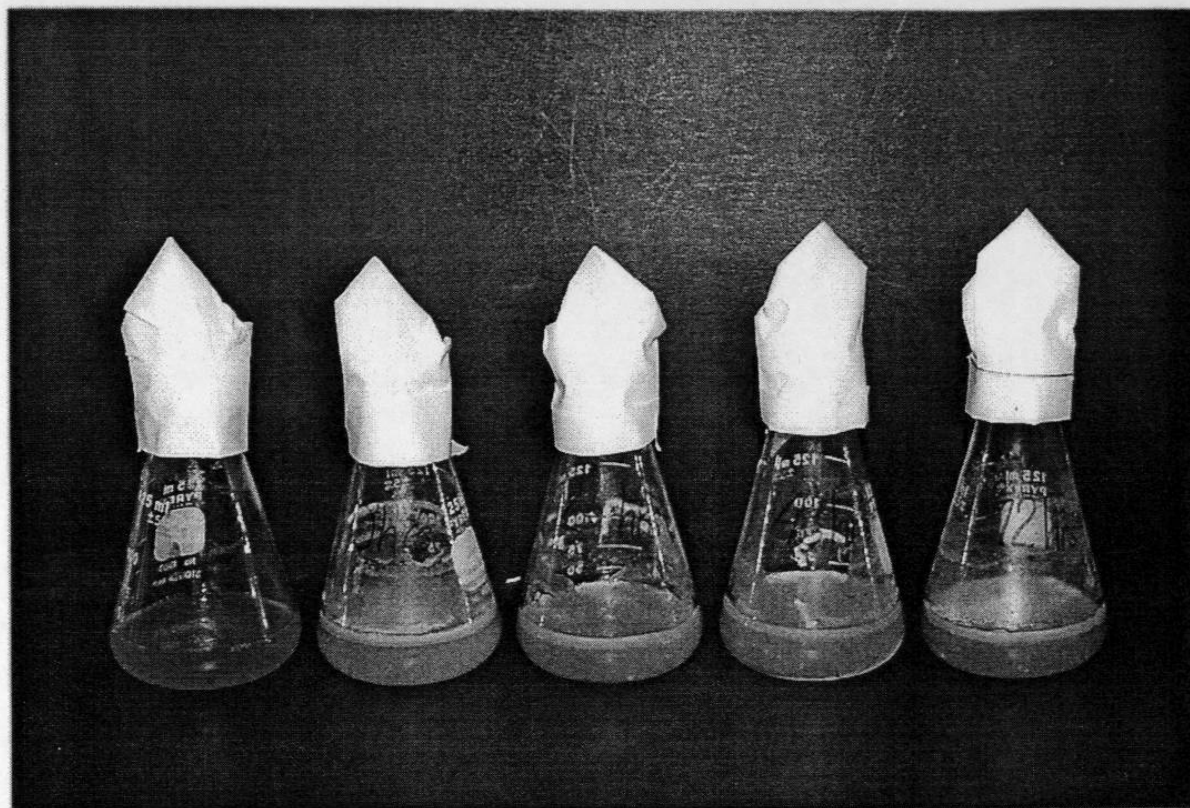
- Vidal C., J. Fargues & L.A. Lacey. 1997b. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. J. Econ. Entomol. 90: 765–772.
- Vidal C., L.S. Osborne, L.A. Lacey & J. Fargues. 1998. Effect of host plant on the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the Silverleaf Whitefly *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. Biol. Control. 12: 191–199.
- West A.W., H.D. Burges, T.J. Dixon & C.H. Wyborn. 1985. Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: Effects of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms. Soil Biol. Biochem. 17: 657–665.
- Wraight S.P., R.I. Carruthers, C.A. Bradley, S.T. Jaronski, L.A. Lacey, P. Wood, & S. Galaini-Wraight. 1998. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. J. Inverteb. Pathol. 71: 217–226.
- Yuan W.M. & D.L. Crawford. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3119–3128.

Apéndices



APÉNDICE 1. Interacción de *P. fumosoroseus* con el antagonista en caldo Sabouraud. Experimento A. El antagonista en crecimiento activo. En los matraces 1 y 2, correspondientes a 0 y 24 h de crecimiento del hongo respectivamente, la inhibición por parte del antagonista fue total. En cuanto a los matraces 3 y 4, correspondientes a 48 y 72 h de crecimiento del hongo, se observó que no hubo inhibición.

Apéndices



APENDICE 2. Interacción de *P. fumosoroseus* con el antagonista en caldo Sabouraud. Experimento B. El antagonista se hallaba inactivo. No se presentó inhibición en ninguno de los matracas. El hongo tuvo la ventaja de estar en crecimiento activo y no permitió el crecimiento del antagonista.



