

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EFFECTOS DE MICOTOXICIDAD DE FUNGICIDAS SOBRE
FORMULADOS DE LOS ENTOMOPATOGENOS *Paecilomyces
fumosoroseus* Y *Beauveria bassiana* UTILIZADOS CONTRA LA
MOSQUITA BLANCA (*Bemisia argentifolii*).**

Por
M.C. NERLA ANGÉLICA SILVA URIBE

*Como requisito parcial para obtener el Grado de
Doctorado en Ciencias con Especialidad en Biotecnología*

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**EFFECTOS DE FUNGICIDAS SOBRE FORMULADOS DE LOS
ENTOMOPATOGENOS *Paecilomyces fumosoroseus* Y *Beauveria
bassiana* UTILIZADOS CONTRA LA MOSQUITA BLANCA
(*Bemisia argentifolii*).**

TESIS
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA
M.C. NERLA ANGELICA SILVA URIBE

APROBADA:
COMISIÓN DE TESIS

Dr. Luis J. Galán Wong
Presidente (Director)

Dra. Katiushka Arévalo Niño
Secretario

Dra. Lilia H. Morales Ramos
Vocal

Dra. Isela Quintero Zapata
Vocal

Dr. Hugo Luna Olvera
Vocal

† **Dr. Tadeus Propawsky**
Director Externo

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

**EFFECTOS DE FUNGICIDAS SOBRE FORMULADOS DE LOS
ENTOMOPATOGENOS *Paecilomyces fumosoroseus* Y *Beauveria
bassiana* UTILIZADOS CONTRA LA MOSQUITA BLANCA
(*Bemisia argentifolii*).**

TESIS
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA
M.C. NERLA ANGELICA SILVA URIBE

Dr. Luis J. Galán Wong
Director

Dra. Katiushka Arévalo Niño
Secretario

Dra. Lilia H. Morales Ramos
Vocal

Dr. Hugo Luna Olvera
Vocal

Dra. Isela Quintero Zapata
Vocal

† **Dr. Tadeusz Propawsky**
Director Externo

San Nicolás de los Garza, N.L.

Febrero 2010.

Este trabajo se realizó en el Instituto de Biotecnología del
Departamento de Microbiología e Inmunología de la
Facultad de Ciencias Biológicas de la
Universidad Autónoma de Nuevo León,
ubicado en San Nicolás de los Garza, N.L., México
bajo la dirección del **Dr. Luis J. Galán wong**
y en el Laboratorio de Entomología del
Departamento de Agricultura de los
Estados Unidos de Norteamérica, Texas,
A&M Agricultural Experiment Station and
USDA-ARS- Beneficial Insects Research Unit,
ubicado en Weslaco,
78596 TX, USA, (USDA-ARS),
bajo la dirección del **Dr. Tadeusz Propawsky**

DEDICATORIA

A Dios Nuestro Señor, por poner en mi camino a tanta gente maravillosa que ha hecho de mi vida extraordinaria.

A mi papá, que sin ti mi vida no sería la misma, te amo, te admiro, eres el mejor padre del mundo, gracias por estar siempre ahí cuando mas te he necesitado.

A mi mamá, la mujer más fuerte y extraordinaria que conozco, nos has enseñado que cuando quieres algo, tienes que luchar por ello, te amo, gracias a ti soy quien soy.

A ti, César, que me has enseñado que con perseverancia todo se puede. Gracias por compartir tu vida conmigo durante 12 años. Te amo.

A mis tres grandes tesoros, son mi inspiración y mi energía para salir adelante, Nerlita, Desi y Guillermo, los amo con toda mi alma.

A mi hermano, por mostrarme que puedes lograr todos tus sueños, te admiro pero sobre todo te amo. A ti Ale, que siempre has estado junto a él, gracias, y mis tres preciosos sobrinos, Aaron, Ian y Kiara.

Tía Rosalía, por su apoyo y sus consejos pero sobretodo por querer tanto a mis hijos, gracias.

A Claudia, por ser un vivo ejemplo de fortaleza y amor, te quiero cuñada.

Dr. Propawsky, Where ever you are, I accomplished what I promised. I will never forget what you taught me. Thank you.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luís Galán Wong, por su confianza y su gran apoyo siempre.

A la Dra. Katiushka Arévalo Niño por su gran apoyo en la culminación de este proyecto.

A la Dra. Lilia Hortencia Ramos Morales por su apoyo y consejos para la terminación de este proyecto.

Al Dr. Hugo Alberto Luna Olvera por sus consejos durante la realización y revisión de este proyecto.

A la Dra. Isela Quintero Zapata por su apoyo y consejos en la revisión de esta investigación.

A la Ing. Angélica María Palacios Rodríguez por su gran apoyo en la terminación de esta investigación.

Connie Veland, USDA, thank you for your support and time in doing this thesis, but above all this, thank you for your friendship.

Al personal del USDA, por su apoyo desinteresado en la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización del Doctorado, inscrito en el Padrón de Postgrados de Excelencia.

Al Instituto de Biotecnología, FCB, UANL, por su apoyo para la realización de esta tesis.

A todas mis amigas, pero en especial a Elizabeth Aleman, Ia Medellin, Elsa Omaña, Margarita Cantú, Adriana Carrillo, Lourdes Castillo, Berenice Jiménez, Selene de la Vega, Elida Rivas que me han apoyado, gracias por estar ahí siempre.

A mis compañeras, Maestra Lucia, Lupita, Tere, por compartir sus experiencias y conocimientos.

Indice General

INDICE	Página
Resumen	1
Abstract	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. HIPOTESIS	5
4. OBJETIVOS	5
5. ANTECEDENTES	6
5.1. Medio Ambiente	6
5.2. Estado Actual de la Biotecnología en México	7
5.3. Control Biológico	8
5.3.1. Bioinsecticida	9
5.3.2. Propiedades Generales de los Hongos	11
5.3.3. Los Entomopatógenos Fúngicos	12
5.3.3.1. <i>Beauveria bassiana</i>	13
5.3.3.2. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	14
5.3.4. Modo de Acción de los Hongos Entomopatógenos	16
5.3.4.1. Mecanismo de Acción de <i>Beauveria bassiana</i>	17
5.3.4.2. Acción de los Hongos Entomopatógenos sobre la plaga	17
5.3.4.3. Actividad Tóxica de Hongos Entomopatógenos	18
5.3.4.4. Uso de Microorganismos Entomopatógenos	19
5.3.4.5. Tipos de Entomopatógenos de Uso Comercial	20
5.3.4.6. Legislación	26
5.4. Mosquita Blanca	28
5.5. Relación Insecto-Patógeno	30
5.6. Fungicidas	32
5.6.1. Clasificación en Relación a su Modo de Acción	34

5.6.2. Clasificación por su composición	35
5.6.3. Industrias importantes en la Producción de Fungicidas	36
5.6.4. Bravo® (Chlorotheloniol)	37
5.6.5. Tilt® (Proficomazole)	38
5.6.6. Quadris® (Azoxystrobin)	38
5.6.7. Top Cop® con sulfuro, tribásico (Copper sulfate, tribasic)	39
5.6.8. Resistencia a los Fungicidas	40
5.7. Manejo Integrado de Plagas (MIP)	40
5.7.1. Componentes del Manejo Integral de Plagas	41
6. METODOLOGÍA	43
6.1. Obtención y Mantenimiento de Cepas	43
6.2. Determinación de Micotoxicidad con los Fungicidas Selectos	44
6.3. Preparación de las conidias o blastosporas para su conteo	45
6.4. Conteo de esporas en el contador electrónico	46
6.5. Conteo de esporas en el microscopio	46
6.6. Obtención del porcentaje de viabilidad de las conidias o Blastosporas	46
6.7. Bioensayo <i>in vitro</i> a nivel laboratorio	47
6.7.1. Estudio de Germinación	47
6.7.2. Estudio del Crecimiento Radial	47
6.7.3. Bioensayo de Mezcla en Tanque	48
6.8. Bioensayo <i>in vivo</i> a nivel laboratorio	50
6.8.1. Primer Grupo Dos Días Antes	50
6.8.2. Segundo Grupo Mismo Día	51
6.8.3. Tercer Grupo Dos Días Después	51
6.8.4. Grupo Control	51
6.9. Bioensayo en Campo	51
6.9.1. Cálculos para determinación de galones utilizados	53
7. RESULTADOS	55
7.1. Conteo de esporas en el contador electrónico	55
7.2. Conteo de esporas en el microscopio	55

7.3. Bioensayo <i>in vitro</i> a nivel laboratorio	55
7.3.1. Obtención del porcentaje de Germinación de las conidias o blastosporas	55
7.3.2. Estudio del Crecimiento Radial	58
7.3.3. Bioensayo de Mezcla en Tanque	64
7.3.3.1. Porcentaje de Germinación en Mezcla en Matraz	69
7.4. Bioensayo <i>in vivo</i> a nivel laboratorio	72
7.5. Bioensayo en campo	84
7.5.1. Cálculos obtenidos para galones utilizados	85
8. DISCUSIÓN	90
8.1. Porcentaje de Germinación de conidias y blastosporas	90
8.2. Crecimiento Radial	91
8.3. Mezcla en tanque	92
8.4. Bioensayo <i>in vivo</i>	95
8.5. Estudio en campo	97
9. CONCLUSIÓN	98
10. RECOMENDACIONES	100
11. BIBLIOGRAFÍA	101
Anexo 1	
Listado de Tablas	i
Anexo 2	
Publicación Internacional	ii

RESUMEN

Paecilomyces fumosoroseus y *Beauveria bassiana* son hoy en día dos entomopatógenos de importancia tanto comercial como de investigación para el control de plagas. Se evaluó la acción producida por los fungicidas comerciales Quadris^R Top Cop^R, Bravo^R, Tilt^R y la micotoxicidad o micoestasis sobre formulados de estos agentes entomopatógenos mediante bioensayos a nivel laboratorio y en campo.

A nivel laboratorio se mezcló cada uno de los fungicidas con agar Sabourad-Dextrosa-Levadura (SDL) y se probaron hacia los formulados de blastosporas y conidias de *P. fumosoroseus* y blastosporas *B. bassiana*. Se obtuvo una total inhibición del crecimiento micelial en Tilt^R, mientras en Quadris^R, Top Cop^R, y Bravo^R hubo crecimiento moderado con respecto al control. Asimismo, se roció 1 ml de cada formulado mezclado con cada uno de los fungicidas en placas de agar SDL. Tilt^R inhibió por completo el desarrollo de conidias y blastosporas de ambos entomopatógenos, Bravo^R produce una inhibición parcial de su desarrollo, y Quadris^R y Top Cop^R no afectan su desarrollo con respecto al control.

Posteriormente se mezcló cada fungicida con 50 ml de cada formulado de cada entomopatógeno, tomando una muestra de 3ml durante 4h cada hora, se concentró y se sembró en cajas petri y cubreobjetos con agar SDL. 24h después se cuantificó el porcentaje de germinación y 7d después el crecimiento de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Tilt^R, y Top Cop^R inhibieron el crecimiento de blastosporas de *P. fumosoroseus*, más sin embargo hubo un crecimiento total de conidias de *B. bassiana* y de blastosporas producidas en Illinois de *P. fumosoroseus*, en Quadris^R hubo un crecimiento moderado de blastosporas de *P. fumosoroseus* y una inhibición total del crecimiento de conidias de *B. bassiana*. Bravo^R inhibió el crecimiento de blastosporas de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*, pero hubo un crecimiento moderado de blastosporas de *P. fumosoroseus*, con respecto al control.

Se realizó a nivel laboratorio un bioensayo *in vivo* donde se dividieron en 3 grupos plantas de melón infestadas con ninfas en segundo estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*), el primer grupo se dividió en 4 subgrupos rociándose cada uno con un fungicida diferente, dos días después se roció el segundo grupo dividido en otros 4 subgrupos con los fungicidas, asimismo los tres grupos principales fueron rociados con 2 ml de cada formulado de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Dos días después se roció el tercer grupo dividido en 4 subgrupos con los 4 fungicidas. No existió diferencia significativa de la micosis producida a la mosquita blanca (*B. argentifolii*) por *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* al aplicar dos días antes los fungicidas, el mismo día formulados y fungicidas y dos días después los fungicidas, sin embargo la micosis producida por los entomopatógenos disminuye al aplicar Bravo^R dos días antes del formulado. La micosis producida por las blastosporas de *P. fumosoroseus* de uno de los formulados fue muy baja en los controles. Después de tres aplicaciones, los fungicidas fueron generalmente más compatibles *in vivo* con *P. fumosoroseus* que con *B. bassiana*.

RESUMEN

Paecilomyces fumosoroseus y *Beauveria bassiana* son hoy en día dos entomopatógenos de importancia tanto comercial como de investigación para el control de plagas. Se evaluó la acción producida por los fungicidas comerciales Quadris^R Top Cop^R, Bravo^R, Tilt^R y la micotoxicidad o micoestasis sobre formulados de estos agentes entomopatógenos mediante bioensayos a nivel laboratorio y en campo.

A nivel laboratorio se mezcló cada uno de los fungicidas con agar Sabourad-Dextrosa-Levadura (SDL) y se probaron hacia los formulados de blastosporas y conidias de *P. fumosoroseus* y blastosporas *B. bassiana*. Se obtuvo una total inhibición del crecimiento micelial en Tilt^R, mientras en Quadris^R, Top Cop^R, y Bravo^R hubo crecimiento moderado con respecto al control. Asimismo, se roció 1 ml de cada formulado mezclado con cada uno de los fungicidas en placas de agar SDL. Tilt^R inhibió por completo el desarrollo de conidias y blastosporas de ambos entomopatógenos, Bravo^R produce una inhibición parcial de su desarrollo, y Quadris^R y Top Cop^R no afectan su desarrollo con respecto al control.

Posteriormente se mezcló cada fungicida con 50 ml de cada formulado de cada entomopatógeno, tomando una muestra de 3ml durante 4h cada hora, se concentró y se sembró en cajas petri y cubreobjetos con agar SDL. 24h después se cuantificó el porcentaje de germinación y 7d después el crecimiento de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Tilt^R, y Top Cop^R inhibieron el crecimiento de blastosporas de *P. fumosoroseus*, más sin embargo hubo un crecimiento total de conidias de *B. bassiana* y de blastosporas producidas en Illinois de *P. fumosoroseus*, en Quadris^R hubo un crecimiento moderado de blastosporas de *P. fumosoroseus* y una inhibición total del crecimiento de conidias de *B. bassiana*. Bravo^R inhibió el crecimiento de blastosporas de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*, pero hubo un crecimiento moderado de blastosporas de *P. fumosoroseus*, con respecto al control.

Se realizó a nivel laboratorio un bioensayo *in vivo* donde se dividieron en 3 grupos plantas de melón infestadas con ninfas en segundo estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*), el primer grupo se dividió en 4 subgrupos rociándose cada uno con un fungicida diferente, dos días después se roció el segundo grupo dividido en otros 4 subgrupos con los fungicidas, asimismo los tres grupos principales fueron rociados con 2 ml de cada formulado de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Dos días después se roció el tercer grupo dividido en 4 subgrupos con los 4 fungicidas. No existió diferencia significativa de la micosis producida a la mosquita blanca (*B. argentifolii*) por *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* al aplicar dos días antes los fungicidas, el mismo día formulados y fungicidas y dos días después los fungicidas, sin embargo la micosis producida por los entomopatógenos disminuye al aplicar Bravo^R dos días antes del formulado. La micosis producida por las blastosporas de *P. fumosoroseus* de uno de los formulados fue muy baja en los controles. Después de tres aplicaciones, los fungicidas fueron generalmente más compatibles *in vivo* con *P. fumosoroseus* que con *B. bassiana*.

ABSTRACT

Paecilomyces fumosoroseus and *Beauveria bassiana* are today two of the most important entomopathogens in the commercial and researching area to control pests. It was evaluated the action and mycotoxicity or mycostasis produced by the commercial fungicides Top Cop[®], Bravo[®], Tilt[®], y Quadris[®] in laboratory and field essays against formulates of these entomopathogens.

Fungicides were mixed in SDA-agar to equivalent field rates and tested against blastospores and conidias of *B. bassiana* and blastospores of *P. fumosoroseus*. There was a total inhibition of mycelial growth in Tilt[®], and there was a moderate growth in Quadris[®], Top Cop[®] and Bravo[®]. SDA-agar plates were sprayed with 1ml of each formulated of blastospores and conidias and fungicides mixed with each fungicide. Tilt[®] produced total inhibition against both entomopathogens, Bravo[®] produced a partial inhibition in their growth, meanwhile Quadris[®] and Top Cop[®] didn't affect the growth compared with no treated control.

Lately, the percentage of germination was quantified 24-h after sprayed on a cover slips with SDL-agar and the growth of each entomopathogen was determined 7-d after sprayed in SDL-agar plates with a concentrate of each fungicide mixed with 50 ml of each fungal formulated, taking a 3 ml-sample every hour for four hours. Tilt[®] and Top Cop[®] inhibited the growth of the blastospores of *P. fumosoroseus*, more nevertheless there was total growth in conidias of *B. bassiana* and blastospores produced in *P. fumosoroseus*. There was a moderate growth in blastospores of *P. fumosoroseus* and total growth inhibition in conidias of *B. bassiana* in Quadris[®]. The growth of blastospores of *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* was inhibited by Bravo[®], but there was a moderate growth in blastospores of *P. fumosoroseus*, respect to the control.

An *in vivo* bioassay with 3rd instar nymphs per leaf whitefly (*Bemisia argentifolii*), -infested melon leaves was divided into 3 plant-groups. The first group divided in 4 sub-groups spraying itself each one with a different fungicide, also the 3 main groups were sprayed with 2 ml of each formulated of *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Two days later the third group divided in 4 subgroups was sprayed with the fungicides. There was no significant mycosis against the whitefly produced by *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* when applying two days before, the same day and two days after the fungicides. The mycosis produced by one of the formulates of blastospores of *P. fumosoroseus* was very low in the controls. At all 3 times of application, the fungicides were generally more compatible *in vivo* with *P. fumosoroseus* than with *B. bassiana*.

A whitefly (*Bemisia argentifolii*) infested melon leaves crop field was divided into 3 groups. The first group divided in 4 sub-groups spraying itself each one with a different fungicide, also the 3 main groups were sprayed with each formulated of *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Two days later the third group divided in 4 subgroups was sprayed with the fungicides. The field data showed that conidias of *B. bassiana* and blastospores of *P. fumosuroseus* can be used in combination with the commercial fungicides Top Cop[®] and Quadris[®], however, it should be considered the instar of the whitefly (*Bemisia argentifolii*) to get more efectivity from the fungal strains and avoid that environmental conditions affect its mycotic capacity.

2. INTRODUCCIÓN

Las antiguas perspectivas en la producción agrícola pueden ser inadecuadas, ya que están ocurriendo profundas modificaciones, el papel del estado, la coyuntura internacional y el papel de los actores sociales. Innesariamente son cambios de grado, en realidad una transformación sustancial que afecta negativamente, en especial a los pequeños agricultores y campesinos, y en ocasiones a un país entero por la falta de recursos para generar alimento para su población. Esto ha dado por resultado el papel protagónico de las agroindustrias después de la liberación del mercado agrícola en casi todos los países y la aplicación de recursos privados en esta área. Por el momento se pretende producir cosechas de excelente calidad a un bajo costo, con un incremento de su resistencia a los insectos plaga que las puedan afectar y así disminuir el impacto ambiental.

Otro factor importante en la actualidad es la contaminación química de nuestro planeta. Esta se ha acrecentado de forma alarmante a tal grado que se han alterado los ciclos de vida de muchas especies incluido al hombre.

Debido a esta alteración de los ecosistemas es necesario buscar nuevas alternativas de control de plagas a bajo costo, alto rendimiento y biológicamente degradables que se combinen o sustituyan a las sustancias químicas nocivas a muchos ecosistemas utilizadas actualmente. Es aun necesario utilizar algunas sustancias químicas como fungicidas para reforzar la resistencia a hongos con una mejora en la capacidad productiva de la planta en la cosecha.

Por otra parte *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* son dos hongos entomopatógenos utilizados y estudiados como control biológico principalmente en contra de la mosquita blanca y de los cuales aún se desconoce el efecto que a nivel laboratorio y campo puedan presentar en presencia de fungicidas.

La mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) es una plaga que ha ocasionado grandes pérdidas en la agricultura y su erradicación ha sido difícil, por lo que se han desarrollado bioinsecticidas a partir de bacterias (*Bacillus thuringiensis*, entre otras) y a partir de hongos (*P. fumosoroseus* y *B. bassiana*) para erradicarla.

Actualmente se realizan diversas pruebas para la aplicación de bioinsecticidas en campo, así también para la aplicación en conjunto con químicos que permitan controlar diversos tipos de plagas y aumentar la producción agrícola.

3. HIPÓTESIS

“Efectos de micotoxicidad o micoestasis son producidos por algunos fungicidas en contra de los entomopatógenos fúngicos *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* los cuales son utilizados en contra de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).”

4. OBJETIVOS

- 1) Evaluar la acción de micotoxicidad y micoestasis de cuatro fungicidas Bravo[®], Top Cop[®], Tilt[®], y Quadris[®] sobre formulados de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* para su manejo conjunto en contra de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).
- 2) Comparar la mortalidad a nivel de laboratorio existente entre formulados de blastoesporas y conidias de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* en presencia de los fungicidas
- 3) Comparar la micotoxicidad o micoestasis existente entre cada uno de los fungicidas en contra formulados de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana*.
- 4) Determinar los tiempos de aplicación a nivel campo de formulados de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* y los fungicidas en cultivos como col de brucas y cebollas

5. ANTECEDENTES

5.1. Medio Ambiente

Como un conjunto de elementos abióticos (energía solar, suelo, agua y aire) y bióticos (organismos vivos) que integran la delgada capa de la tierra llamada biosfera, sustento y hogar de los seres vivos es el denominado medio ambiente (Salazar, 2007).

La creciente demanda de mas y mejores alimentos de alta calidad de salud de la sociedad humana, ocasionó un incremento en el uso de compuestos químicos para el control de insectos de importancia agrícola, forestal y salud pública. Se involucró el uso de microorganismos naturales o modificados genéticamente, genes o sus productos para reducir el efecto nocivo de los organismos plaga, término conocido como “control biológico” (Gabriel y Cook, 1990). Entre los organismos mas utilizados están bacterias, hongos y virus. El escoger un entomopatógeno depende de su ecología y blanco, accesibilidad del agente de control a la plaga, conocimiento básico del modo de acción y disponibilidad de tecnologías de producción, formulación y aplicación (Khachatirians, 1986, Samson *et al.*, 1988b, Lisansky, 1989).

El desarrollo sustentable emerge a nivel global con retos más acuciantes de finales de siglo veinte proponiéndose reconciliar el desarrollo y el crecimiento económico con la explotación sostenida y racional de los recursos naturales.

Dentro de este contexto, la biotecnología ambiental, se convierte en una herramienta preponderante que permite concretar los objetivos del desarrollo sustentable antes mencionados. Así, este campo interdisciplinario se proyecta y repercute en numerosos problemas de frontera:

- reciclaje de residuos orgánicos
- producción de energía a partir de fuentes renovables
- producción de bioinsecticidas

La biotecnología ambiental esta muy relacionada a campos de alta relevancia e impacto en varios sectores, tales como la promoción de tecnologías limpias.

Es importante seguir apoyando las áreas de investigación relacionadas con esta área, para poder desarrollar tecnologías productivas y amigables con el medio ambiente para seguir coexistiendo con los organismos vivientes del planeta.

5.2. Estado Actual de la Biotecnología Ambiental en México

La Biotecnología ha sido fuertemente impulsada en algunas instituciones de México en la última década, la mayoría de los recursos financieros y humanos se ha dirigido hacia la ingeniería genética y el cultivo de tejidos orientados a la biotecnología agrícola; la biotecnología ambiental apenas se encuentra en desarrollo o en etapa de consolidación en pocos grupos distribuidos a lo largo del territorio mexicano (Olguín, 1994).

En el país se trabaja sobre temas relacionados con la biotecnología. Mas de 300 investigadores se dedican de tiempo completo a estudiar diversos aspectos de la biotecnología y nuevos biotecnologos se preparan en varias instituciones que ofrecen postgrados de excelencia. Sin contar a los multiples empresas dedicadas a producir bebidas alcohólicas y derivados lácteos, en México existen mas de 70 empresas biotecnológicas que producen la mayor parte de los mas de 100 productos netamente biotecnológicos que se encuentran en el mercado. Tambien hay empresas con capacidad tecnológica importante que han puesto en el mercado medicinas biotecnológicas producidas enteramente por técnicos mexicanos de ingeniería genética. Un sector particularmente de empresas que usan técnicas biotecnológicas lo constituyen aquellas dedicadas al tratamiento de aguas y gases residuales y a la micro propagación de especies vegetales (Galindo, 2000).

Anualmente se registran grandes pérdidas económicas en el sector agrícola ocasionadas por insectos plaga. El uso de insecticidas químicos tuvo una amplia

distribución por muchos años debido a su efectividad inmediata y su bajo costo. Con el tiempo ha sido reducida su utilización debido al gran impacto en humanos, así como la flora y fauna macroscópica y microscópica, contaminación de depósitos de agua, sumado a la resistencia desarrollada por los insectos (Milner, 2000).

El futuro de la biotecnología ambiental en México, depende no sólo de factores científicos sino de una mezcla de factores políticos y socioeconómicos que deberán manejarse adecuadamente dentro de una planeación estratégica del mismo.

Actualmente a nivel mundial es importante incrementar e impulsar a la biotecnología para incrementar la calidad de los productos agrícolas sin afectar su desarrollo genético y sin daño a los ecosistemas que los rodean.

5.3. Control Biológico

Desde hace más de 1700 años el control biológico de insectos de importancia agrícola se realiza en el lejano oriente, mientras que en Europa y Estados Unidos de Norteamérica se practica desde 100 años atrás (Frost & Sullivan, 1990).

El control biológico es la manipulación intencional de las poblaciones de los enemigos naturales de los insectos plaga para limitar su población. A estos organismos se les llama agentes de control y entre ellos se encuentran insectos depredadores y parásitos, así como microorganismos patógenos de insectos. Las formulaciones comerciales de los microorganismos son conocidas como bioinsecticidas e incluyen a diferentes géneros y especies de bacterias, hongos, nematodos y virus. Estos microorganismos, denominados entomopatógenos son específicos: afectan solo a determinados grupos de insectos (hospederos) y son inofensivos para insectos benéficos, humanos y otros organismos superiores (López *et al.*, 2001).

El control biológico es una herramienta actual necesaria para disminuir el uso de controles químicos que tanto han afectado a los ecosistemas del planeta ocasionando grandes deterioros al mismo.

5.3.1 Bioinsecticidas

Los procedimientos actuales para erradicar insectos de interés agrícola se basan principalmente en el uso de productos químicos y biológicos. Los primeros ocasionan serios problemas al hombre y la necesidad de mayores dosis para eliminar las plagas blanco, esto propicia una progresiva contaminación de los ecosistemas, resistencia adquirida por los insectos, toxicidad selectiva y otras alteraciones ecológicas. Por lo anterior, es necesario utilizar métodos de control biológico para el control de plagas agrícolas, basados en el uso de productos cuyo ingrediente activo son microorganismos como depredadores, parasitoides, nemátodos, bacterias, virus, protozoarios y hongos entomopatógenos los cuales actualmente se encuentran comercialmente disponibles.

Como parte importante del control biológico, el control microbiano se define como el uso de microorganismos (o sus productos) para el control de insectos plaga. Falcón (1971) incluye el uso de microorganismos como agentes de control que suceden naturalmente, agentes introducidos y aplicación de microorganismos y/o sus productos como insecticidas microbianos.

En la naturaleza existe una regulación natural por parte de virus, bacterias, hongos, protozoarios, y sus productos microbianos, ya que infectan y causan epizootias en poblaciones naturales de insectos.

Más de 1,000 especies de microorganismos entomopatógenos han sido descritos con potencial en el control microbiano de poblaciones de insectos plaga: agrícolas, forestales, ornamentales y de salud (Ignoffo & Hink, 1971). La mayoría de sus especies son poco

conocidas. Estas especies se encuentran localizadas en diferentes tipos de microorganismos. Esta gama incluye alrededor de 750 especies de hongos, 70 virus, 300 de protozoarios, y casi 100 especies de bacterias aisladas de insectos.

Por otra parte, algunos pesticidas y otros organismos benéficos pueden ser muy efectivos en el laboratorio y fallar en alguna etapa en el campo, aun después del desarrollo de algún producto para su venta. Algunas causas comunes de esto pueden ser la poca estabilidad antes de su aplicación del producto durante su almacenamiento, muy poco material y rápida degradación del material activo. Debido a lo anterior la formulación juega un papel importante para resolver todos estos problemas y realizar un organismo efectivo en la práctica. Sin embargo, esto debe ser analizado de una manera costo-efectivo si se quiere que el producto sobreviva comercialmente (Burges D., 1998).

Los bioinsecticidas son insecticidas amigables con el medio ambiente usados para controlar plagas, estos contienen organismos como por ejemplo los hongos vivos los cuales se conoce, desde hace largo tiempo, que infectan y matan a insectos y termitas. Un ejemplo sería las infestaciones de *Cordyceps* spp. registradas en China en el siglo séptimo. Durante el siglo 19 en Italia, Agostino Bassi registró la infección de los gusanos de seda por el entomopatógeno *B. bassiana*. Elie Metchnikoff, médico y bacteriólogo ruso, ganó el premio Nobel en 1908, por su investigación en el desarrollo del agente de biocontrol, el hongo *Metarhizium anisopliae*, como un método de control para un cereal. Sin embargo, como se ha comprobado, el hongo puede ser usado para el control de insectos, otros hongos y maleza (Glare, 2004).

Los bioinsecticidas representan el mayor segmento de los biopesticidas y comprenden un grupo muy diversos de microbios y productos naturales. El potencial de Azadirachtin®, componente lactónico macrolítico principal activo del aceite de neem contra el insecto, ha traído un amplio espectro de actividad insecticida por lo que es un candidato importante para algunas cosechas (Fokkema, 1994).

Por lo anterior, la investigación sobre la utilización de enemigos naturales en plagas de afectación económica debe ser profundizada y analizada para una mayor eficacia de estas y evitar el deterioro de los ecosistemas manteniendo su equilibrio.

5.3.2. Propiedades generales de los Hongos

Tradicionalmente los hongos se ubican en el Reino de las plantas porque tienen paredes celulares, son usualmente inmóviles y generan esporas como medio de reproducción. Los hongos comprenden un grupo de organismos que incluye las levaduras utilizadas en la industria alimenticia y hongos filamentosos que producen metabolitos secundarios para uso farmacéutico. Desafortunadamente existen hongos que causan enfermedades devastadoras para plantas y animales (Baldauf & Palmer, 1993).

Por otra parte la utilización e infección de los entomopatógenos fúngicos puede ser benéficas dependiendo del tipo de hospedero infectado. Por ejemplo, las enfermedades fúngicas de plagas. Este tipo de microorganismos puede ser usado en programas de biocontrol.

Los hongos son heterotróficos y obtienen sus nutrientes por medio de la absorción de materia orgánica muerta u organismos vivos. No son fotosintéticos. Sus células son eucarióticas. Durante su ciclo de vida la mayoría de los hongos tienen fases de reproducción sexual y asexual durante su ciclo de vida y pueden producir un número diferente de esporas. Las esporas aseguran la dispersión, sobrevivencia del hongo y sirven como propágulos infectivos, donde el hospedero puede estar indispuesto o las condiciones ambientales pueden ser adversas, es donde algunas esporas pueden resistir y más tarde iniciar su crecimiento (Boucias & Pendland, 1998).

5.3.3. Los Entomopatógenos Fúngicos

Existen hongos entomógenos que solo debilitan la cutícula del hospedero, otros penetran la cutícula, replicándose en el interior del hospedero lo que provoca una disminución de nutrientes y ocasiona la muerte del hospedero.

Los primeros conteos de entomopatógenos fúngicos se originaron hace más de 2000 años. *B. bassiana* (Deuteromycota) fue observada aproximadamente en el año 900 A.de C. en gusanos de seda en Japón y fue utilizada con usos medicinales como antiséptico (Boucias & Pendland, 1998).

Los hongos entomopatógenos han sido reconocidos con un fuerte potencial en el manejo de insectos plaga. Los mayores impedimentos comerciales para el uso de estos organismos incluyen mejores métodos de producción masiva a bajo costo, y dificultad en el desarrollo de formulaciones para mantener su alta viabilidad, virulencia y larga vida de anaquel. Idealmente, los materiales disponibles comercialmente utilizados en formulaciones deben estar y proporcionar protección en altas temperaturas, baja humedad y luz ultravioleta así como resistencia contra sustancias químicas, siendo estos los mayores obstáculos para el establecimiento del hongo después de su aplicación.

Últimamente los hongos han recibido mayor atención por parte de los investigadores y empresas dedicadas a la producción de bioinsecticidas. Aunque los hongos son más sensibles a las condiciones del medio como temperatura y humedad, tienden a trabajar más lentamente que las bacterias. Además, tienen la ventaja de infectar a los insectos por contacto, innecesariamente tienen que ser consumidos para ser efectivos, y por el tipo de reproducción presentan mayor estabilidad al reproducirse de una generación a otra.

5.3.3.1. *Beauveria bassiana*

Este incluye muchas especies entomopatógenas, donde la más notable es *B. bassiana*, es llamado hongo blanco muscardino, Agostino Bassi fue el primer científico en demostrar en el año 1835 que *B. bassiana* afectaba al “gusano de seda“ *Bombix mori*. A partir de ese momento se han descrito diversas especies de *Beauveria*, según sus características morfológicas y genéticas, como: *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. amorpha*, *B. vermiconia*, *B. velata*, *B. calendonica* (Glare & Lingwood, 1998). La importancia histórica fue el descubrimiento de una hormiga obrera trabajadora de 25 millones de años solidificada en ámbar la cual estaba cubierta por un hongo similar a los aislados de *Beauveria bassiana* (Poinar & Thomas, 1984). Las conidias son propágulos infectivos de *Beauveria* secos, hialinos (sin color) y de forma globosa a oval. Los conidióforos pueden ser simples o compuestos. Tienen una distribución mundial y un amplio rango de hospederos.

La clasificación taxonómica de *B. bassiana* según Barnett y Hunter (1998), es la siguiente:

Reino: -----FUNGI
División: -----AMASTIGOMYCOTA
Subdivisión: -----DEUTEROMYCOTA
Clase: -----DEUTEROMYCETES
Subclase: -----HYPHOMYCETES
Orden: -----MONOLIALES
Familia: -----MONOLIACEAE
Genero: ----- *Beauveria*
Especie: -----*bassiana*

Es uno de los patógenos mas importantes que afectan diversos insectos, ha sido recuperado de muchos insectos del orden Coleoptera, Lepidoptera y homoptera y probablemente ataca a todos los artropodos (Alcazar *et al.*, 2003).

Además de ser un entomopatógeno que se encuentra en el suelo, ciertas cepas de *B. bassiana* se han reportado como endofíticas ya que tienen la capacidad de colonizar el tejido de plantas (Bing & Lewis, 1992). Así mismo este hongo ha sido asociado con infecciones respiratorias fatales en algunos animales de sangre fría que incluye tortugas, cocodrilos y embriones de algunas especies de peces. Esto ha causado cierta consternación debido a que el uso a gran escala de conidias de *B. bassiana* podría ser dañino para los ecosistemas acuáticos (Middaugh & Genthner, 1994). El hongo crece a una temperatura de 37°C sin embargo se han reportado infecciones en pulmones y vías nasales de algunos mamíferos, también se reporta como agente causal de reacciones alérgicas en ciertas personas (Boucias & Penland, 1998).

Las conidias de *Beauveria* recolectadas de cadáveres de suelo pueden ser inoculadas en un medio micológico. Puede crecer en agar avena o agar dextrosa de papa (PDA) y almacenarse a -70°C por largos periodos de tiempo. Para aislar *Beauveria* del suelo se requiere utilizar un medio selectivo con antibióticos como tetraciclina, gentamicina y cicloheximida para eliminar el crecimiento bacteriano y acetato de N-dodecilguanidina (dodine) para inhibir el crecimiento de otros hongos de suelo (Boucias & Penland, 1998).

Debido a las características de *Beauveria* y a su fácil diferenciación en medios de cultivos sencillos, se le ha considerado como un potente agente de biocontrol.

En el año 2004 se reportó que *B. bassiana* es un patógeno que afecta larvas del tercer estadio de los coleópteros *Phyllophaga crinita* y *Anomala flavipennis*, por medio de impregnación de las conidias a una concentración de esporas de 1×10^9 mezcladas con tierra de diatomea. Este método es llamado "Prueba de desafío máximo". En sus resultados encontraron valores entre el 10 - 50% de mortalidad para *P. crinita*, mientras que para *A. flavipennis* fueron entre 45 - 90% de mortalidad (Rodríguez del Bosque *et al.*, 2005).

En la actualidad *B. bassiana* se encuentra en los mercados de algunos países europeos como Rusia, de forma comercial como Beauverin® o Boverin®. Existen muchos

ejemplos del empleo de este patógeno contra algunos insectos que causan daño a diversos cultivos. Han sido empleados para el control del barrenador del maíz como el *Ostrinia nubilalis*, contra el escarabajo de la papa del colorado *Leptinotarsa decemlineata* y para el control de algunas plagas forestales en China, para el control del gorgojo blanco en Rusia y el empleo de *B. brogniartii* para el control de la larva subterránea del escarabajo *Melolontha melolontha* en Francia (Quispe *et al.*, 2002).

5.3.3.2. *Paecilomyces fumosoroseus*

Son *Paecilomyces fumosoroseus* y *Paecilomyces lilacinus* hongos entomopatògenos fúngicos que han recibido gran atención por su alto potencial en el uso de programas de control biológico. *P. fumosoroseus* esta geográficamente distribuido alrededor del planeta, se encuentra colonizando diferentes ordenes de insectos en todos los estados de su ciclo y puede ser aislado de muestras de tierra suelo (Samson, 1974). Ha sido desarrollado para su uso comercial en contra de un alto rango de plagas de la agricultura, en donde se incluye la mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Osborne & Landa, 1992; Lacey *et al.*, 1993). *P. lilacinus* es aislada típicamente de suelo, particularmente de muestras extraídas de regiones templadas (Domsch & Gams, 1980).

El desarrollo de las especies análisis de *Paecilomyces* spp. como biopesticida requiere de un monitoreo ambiental apropiado y profundo de la dinámica poblacional en experimentos. Esto es requerido para cálculos eficaces y propósitos regulatorios. Como el monitoreo es complicado por la dificultad en la identificación de este hongo, se utilizan métodos convencionales como características morfológicas, pruebas de virulencia y características bioquímicas (Samson, 1970). Recientemente, se han aplicado marcadores moleculares a la taxonomía de *P. fumosoroseus* (Tigano-Milani *et al.*, 1995a) y *P. lilacinus* (Tigano-Milani *et al.*, 1995b). Dichos análisis demuestran la variabilidad genética entre estas cepas, y en el caso de *P. fumosoroseus*, para dividir la especie dentro de un número de grupo fenético. Sin embargo, estos métodos son poco sensibles para diferenciar especies muy parecidas genéticamente e imprácticos para un monitoreo rápido, grande o bajo

condiciones rutinarias. Una alternativa es aplicar transformaciones genéticas para introducir uno o más marcadores dentro de las cepas (Inglis *et al.*, 1999).

El grupo de *Paecilomyces* ataca a un gran número de plantas, nemátodos e insectos. De las quince especies patógenas *P. farinosus* y *P. fumosoroseus* son las especies más usadas en estudios de laboratorio y las mejor descritas (Boucias & Pendland, 1998).

P. fumosoroseus es conocido por tener un ciclo parasexual el cual lleva cabo una recombinación genética (Riba & Ravelojoana, 1984).

Una de las principales limitantes biotecnológicas para el uso masivo de *P. fumosoroseus* es la baja viabilidad de las cepas y esporas en el medio ambiente. Por tal motivo, la preocupación radica en encontrar sistemas de producción y aplicación más eficientes, que le permitan al hongo mantenerse por más tiempo en anaquel (Badii, *et al.*, 2000, Jackson *et al.*, 1997).

5.3.4. Modo de Acción de los Hongos Entomopatógenos

Para penetrar el integumento externo del hospedero la conidia debe adherirse a la superficie cuticular. La interacción entre la conidia y la cutícula depende de las sustancias mucilaginosas que rodean la conidia. Las enzimas, además de la formación morfológica del integumento, favorecen la germinación. Por lo que la conidia puede adherirse al azar de acuerdo a los pliegues intersegmentales o a la rugosidad de la superficie de la cutícula (Fargues, 1984).

La germinación ocurre dentro de un rango de 12 horas donde es necesario una humedad relativa alta (mayor de 80%). Fisiológicamente, la germinación de la conidia es el retorno de la actividad o metabolismo vegetativo. Morfológicamente la germinación es la emergencia de la célula vegetativa de una conidia, en forma de un tubo germinativo que

crece sobre la superficie del insecto formándose un apresorio sobre la cutícula (Bartnicki, 1994).

En cultivo sumergido a nivel de laboratorio muchos hongos que incluyen aislados de *P. fumosoroseus*, son reportados de producir altas concentraciones de blastoesporas (Lane *et al.* 1991, Kleespies & Zimmerman 1992, Vidal *et al.*, 1998).

5.3.4.1. Mecanismo de acción de *Beauveria bassiana*

Este patógeno se encuentra en la naturaleza siguiendo dos posibles ciclos de desarrollo, saprofiticos en desechos vegetativos y parasíticos en insectos. El crecimiento saprofitico da como resultado la producción de conidióforos, conidias y desarrollo micelial. Esta característica permite que el hongo pueda ser cultivado en el laboratorio utilizando técnicas de bajo costo para producción en masa. La infección parasítica de los insectos es causado por las esporas y la ruta mas común de penetración directa se realiza a través de la cutícula del insecto. Las conidias de *B. bassiana* ingresan a la cavidad del cuerpo del insecto donde se desarrollan produciendo micelios y blastoesporas.

Posteriormente éstos son transportados por la hemolinfa hacia todas las partes del cuerpo, y afecta todos los órganos principales para luego ocasionar la muerte del insecto (Quispe *et al.*, 2002).

5.3.4.2. Acción de los Hongos Entomopatógenos sobre la Plaga

Estos infectan su hospedero mediante la cutícula externa, este modo de infección es único y característico, ya que todos los microorganismos entomopatógenos incluyendo bacterias, virus y microsporidia, penetran su hospedero vía intestino medio. El proceso de micosis en un insecto consta de las siguientes etapas: 1) adherencia de la espora fúngica a

cutícula del insecto, 2) germinación y diferenciación de la espora, 3) penetración del integumento del insecto por medio del tubo germinativo y 4) desarrollo del hongo dentro del cuerpo del insecto, generalmente da por resultado la muerte del hospedero infectado (Samson, *et al.*, 1988).

5.3.4.3. Actividad Tóxica de Hongos Entomopatógenos

Maniana y Fargues en 1985 determinaron la susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* con 6 cepas de *Nomuraea rileyi* y 10 cepas de *P. fumosoroseus*. Las cepas de *P. fumosoroseus* presentaron un tiempo letal medio entre 2 a 3.7 días y un porcentaje de mortalidad mayor al 50% mientras que las cepas de *N. rileyi* presentaron un tiempo letal medio entre 5 y 10 días y un porcentaje de mortalidad menor del 25%. Concluyendo que el hongo *P. fumosoroseus* presenta un potencial para el control de este insecto (Maniana & Fargues, 1985).

Gindin en el 2000, evaluó la patogenicidad de 35 cepas de *Verticillium lechani* provenientes de diferentes hospederos y distintos orígenes geográficos sobre diferentes estados de crecimiento de *Bemisia argentifolii*. Varias cepas que presentaron alta patogenicidad hacia las larvas de este insecto fueron también evaluadas sobre huevos, pupas y adultos. En sus resultados encontraron que los huevos fueron inmunes a la infección, sin embargo la mortalidad de las larvas emergidas fue de 95% a 98%. La infección de las cepas en el estado de pupa varió entre el 59% (+/- 12.1) a 72.5%(+/- 13.1) y la mortalidad presente en los adultos fue entre 34.1% (+/- 5.1) y 52.6% (+/- 3.8). La susceptibilidad de los diferentes estados de desarrollo está influenciada por la habilidad del patógeno de iniciar la infección y su especificidad, se concluye que todos los estados de crecimiento a excepción del huevo fueron susceptibles a la infección (Gindin *et al.*,2000).

Ramos *et al.* (2000) evaluaron la susceptibilidad de huevos y larvas de primer estadio de *B. tabaci* con la cepa del hongo *B. bassiana* PL63, utilizaron una concentración

de 10^8 esp/ml asperjadas en hojas. Las aspersiones de las conidias sobre los huevos retardaron la eclosión sin impedirla. A diferencia de las larvas tratadas, se reportó una mortalidad del 78%. Finalmente larvas de *B. tabaci* presentan mas susceptibilidad a este hongo que los huevos (Ramos *et al.*, 2000).

El incremento de la masa-insecto dentro del invernadero o insectario comúnmente es transformado por ambos factores bióticos y abióticos (King & Leppla, 1984, Van Lenteren, 1991). Los insectos en un invernadero son comúnmente atacados por los hongos entomopatógenos debido la alta humedad, temperatura óptima y constante, y luz artificial lo que promueve el desarrollo de la enfermedad.

5.3.4.4. Uso de Microorganismos Entomopatógenos

El nicho (función bioecológica) de los patógenos se debe entender para poder manipular las epizootias positivamente. Las epizootias están caracterizadas por el cambio rápido en la prevalencia de las enfermedades que depende de la reproducción masiva de los insectos patógenos que interactúan con el hospedero y los factores ambientales.

Los microorganismos entomopatógenos han sido utilizados en el manejo integral de plagas en las siguientes formas:

- 1) Introducción y establecimiento permanente para formar un factor de mortalidad perpetua.
- 2) Aplicación periódica de entomopatógenos como insecticidas microbianos en forma inundativa o inoculativa para control temporal de insectos.
- 3) Manejo ambiental: Implica la incorporación de epizootias naturales en el manejo integral de insectos plaga, en el mejoramiento y el aumento de estas epizootias naturales vía otros métodos, aparte de la agregación directa de patógenos ya presentes naturalmente.

Los principales rasgos ecológicos de los entomopatógenos son los siguientes:

- 1) La actividad del microorganismo patógeno se divide en dos grupos, en base a la velocidad de acción: Patógenos de daño lento y de daño rápido.
- 2) La forma de transmisión y dispersión.
- 3) La densidad poblacional del patógeno.
- 4) Persistencia.
- 5) Rango de hospedero.
- 6) Virulencia.
- 7) Efectividad.
- 8) Modo de acción.

5.3.4.5 Tipos de Entomopatógenos de Uso Comercial

Se ha considerado que la computación ha impulsado el avance en tecnología y comunicaciones, asimismo, la biotecnología es la principal responsable del avance científico moderno. Con el avance de la biotecnología entramos a una nueva era de producción agrícola, con gran ayuda por parte de las nuevas técnicas desarrolladas en ingeniería, tanto genética como química e industrial. La biotecnología agrícola está enfocada a dar solución a problemas de baja producción y pérdidas económicas de cultivos, ocasionadas por factores bióticos y abióticos del campo, y se enfoca principalmente a lograr una agricultura estable (Tamez Guerra *et al.*, 2003).

El desarrollo comercial de biofungicidas ha recibido gran importancia en los últimos años. Por el progreso impresionante en el aislamiento y caracterización de nuevas cepas de microorganismos que puedan cumplir con la mayoría de las características de un biofungicida, principal supresora de los patógenos bajo condiciones de campo, y producción en masa en instalaciones de fermentación estándares (Chet, 1987, Papavizas, 1984).

El desarrollo comercial de nuevos biofungicidas se encuentra en tres categorías: patógenos de suelo, enfermedades foliares y afectación en el almacenaje después de la cosecha. Todos han sido ampliamente documentados durante la década pasada. (Cook, 1993). Sin embargo, solo algunos biofungicidas han sido promovidos exitosamente y solo unos cuantos han podido pasar la barrera entre la producción en laboratorio y el desarrollo comercial. Aquellos que han logrado afrontar todos los tropiezos y ardidés comerciales han incluido en su desarrollo desde su concepción en el laboratorio, un programa de desarrollo y análisis crítico de necesidad y mercado así como consideraciones comerciales como costos de consumo (Cook *et al.*, 1996).

Históricamente, el listado de bioinsecticidas comerciales incluyen casi exclusivamente a *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) basados primordialmente para el control de plagas de lepidópteros (Carlton. B.C. 1990). El listado de productos de *Bt* llegaron a ser muy impresionantes en años recientes, principalmente porque la tecnología recombinante del ADN y los productos que entraron al mercado comercial resultaron ser muy efectivos en contra de plagas económicamente activas (Bravo, 1997). Sin embargo, a diferencia de los productos de *Bt* que se basan en el cristal proteico inerte que contiene una toxina como ingrediente activo, la mayoría de los fungicidas requieren una célula viva intacta (Lumsden, R.D. & Walter, 1995). Los productos basados en *Bt* son relativamente inertes, pueden ser incorporados rápidamente en una formulación amigable con el usuario. Los fungicidas dependientes de la célula intacta requieren diseños sofisticados en la formulación comercial, una para asegurar la estabilidad del producto durante su almacenaje (por ejemplo, vida de anaquel), así como su eficacia durante su aplicación (Lewis, & Papavizas, 1987).

Como Baker en 1982 y 1983, Baker y Scher en 1987, discutieron, que es bien reconocido que una cantidad específica de control biológico ocurre en la naturaleza y esto incrementa o suprime la infección en la planta y esto puede suceder en algunas situaciones agrícolas. Sin embargo, esta situación bien documentada y potencialmente útil para el aislamiento de estos agentes biológicos resultaron sin el desarrollo de productos viables

comercialmente. El delicado equilibrio entre microflora saprofítica y parasítica en el filoplano ha sido discutida por Dubos en 1987, en referencia a la biocenosis (conjunto de animales, vegetales, y microorganismos que viven en una determinada área, y a las relaciones que se establecen entre ellos: dependencia, alimentación o desarrollo), como la columna en ese equilibrio. Otra vez, en base al balance natural entre antagonistas y pesticidas, la enfermedad puede ser suprimida. Sin embargo, para implementar estos factores en un control eficaz económicamente factible para el control de enfermedades foliares, se requiere un mejor entendimiento de la dinámica de las interacciones de antagonista-patógeno. El antagonista tiene que cumplir con ciertos criterios antes de ser considerado un candidato legítimo para la producción de un biofungicida comercial.

Debido a que los hongos entomopatógenos son organismos vivos, para lograr un mejor uso como agentes de control de plagas, es muy importante entender aspectos como: 1) los factores que propician el desarrollo de una epizootia para predecir y manejarla en función del manejo de las plagas, 2) la dinámica de la interacción de las plagas, los patógenos y el ambiente. También se debe conocer la patogenicidad de la cepa contra la plaga a controlar, así como la cantidad de esporas necesarias para provocar una epizootia en el campo después de la aplicación del hongo (Monzón, 2001).

El primer producto de origen biológico utilizado para el control de la cucaracha europea (*Blattella germanica*) se reportó en Estados Unidos por la compañía EcoScience © con el biopesticida Bio-Path®, también se comercializa en otros países como Japón donde se estima un mercado de 100 y 125 - 150 millones de dólares para el control de cucarachas. Así mismo en Estados Unidos, la misma compañía comercializa productos basados en *B. bassiana* para el control de la mosquita blanca (*B. tabaci*). Otros productos que compiten, son Naturalis-O® y Naturalis -L® ambos producidos por la compañía Troy BioScience®, y se usan para el control de insectos plaga de plantas ornamentales y arácnidos respectivamente (Lorence, 1996).

En México, la compañía Agro Biológicos del Noroeste, S.A. de C.V. (Agrobionsa, Culiacán, Sinaloa) esta comercializando tres productos cuyo ingrediente activo son hongos. Estos productos: Bea - Sin® con *B. bassiana* para el control del picudo del algodón (*Anthonomus grandis thurberae*), el picudo del chile y la mosca blanca, Metasin® formulado con *M. anisopliae* para el control de picudos de algodón y chile, la mosca pinta (*Aeneolamia postica*) y el barrenador de la caña (*Diatrea saccharalis*) y Pae - Sin® que contiene *P. fumosoroseus* para el control de huevecillos, ninfas, y adultos de la mosca blanca, al igual que *Aschersonia aleyrodinis* y *Verticillium lechanii* reportados para esta plaga bajo condiciones de invernadero (Landa *et al.*, 1994; Osborne & Landa, 1992; Smith, 1993).

Agrobionsa® es una empresa mexicana que ha desarrollado nuevos productos eficaces en regiones cálidas, basados en microorganismos nativos. Nació el 30 de agosto de 1994, como una microempresa familiar de base tecnológica vinculada al sector académico, lo que le permitió tener un componente fuerte en investigación y desarrollo.

Actualmente Agrobionsa® es una empresa líder, y en 1996 obtuvo una mención honorífica en el certamen del premio CIBA Geigi en innovación tecnológica. Agrobionsa® diseñó y mandó construir en México sus equipos. Una planta multipropósito y un proceso versátil que le permite cultivar distintos hongos, una gama de productos biológicos para que el agricultor controle plagas y enfermedades desde la raíz de la planta hasta el fruto; una colección de cepas autóctonas que ellos mismos aislan, el control de calidad del proceso y producto, sus programas de pruebas de campo y asesoría a los productores, la innovación constante y su vinculación al sector académico. La mayor problemática que la empresa enfrentó a que el mercado obligara a los productores agrícolas a disminuir el consumo de agroquímicos y a la obsolencia de las regulaciones existentes en cuanto al registro de bioinsecticidas formulados con hongos entomopatógenos (CIDI, 2007).

Existe algunas compañías en Mexico que comercializan productos biotecnológicos para el control de plagas (Tamez Guerra *et al.*, 2003).

Tabla A. Ejemplos de algunos entomopatógenos comercializados en Mexico.				
Agente de Biocontrol	Tipo	Nombre del producto	Sugerido para el control de:	Compañía productora
<i>B. thuringiensis aizawai</i>	B	Xen Tari	Palomilla dorso de diamante, gusano falso medidor, gusanos soldados, gusanos defoliadores	Abbott-Dupont
<i>B. thuringiensis israelensis</i>	B	Skeetal Vectobac	Dípteros	Abbott-Dupont
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	B	Bactospeine DF	Palomilla dorso de diamante, gusano falso medidor y mariposilla blanca.	Abbott – Dupont
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	B	Biobit HP	Gusano de la yema del tabaco, gusano falso medidor, gusanos soldados, gusanos defoliadores	Abbott Dupont
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	B	Dipel	Lepidopteros	Abbott-Dupont
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	B	Javelin Thuricide	Lepidópteros	Ecogen
<i>B.t. tenebrionis morrisoni</i>	B	Novodor	Coleópteros	Thermo Trilogy, Columbia MD
<i>B.t. tenebrionis</i>	B	Trident	Coleópteros	Ecogen
<i>B.t. thuringiensis</i>	B	Teknar	Dípteros	Ecogen
<i>B. bassiana</i>	H	Bea-Sin	Plaga de cultivos	Agrobionsa, Culiacan Sin.
<i>B. bassiana</i>	H	BotaniGard	Plagas de invernadero	Mycotech México, D.F.
<i>B. bassiana</i>	H	Mycotrol	Plagas de cultivos	Mycotech
<i>B. bassiana</i>	H	<i>B. bassiana</i>	Broca de café, mosquita blanca, chapulines, etc.	CNRCB2, Tecoman, Col.
<i>B. bassiana</i>	H	Bio-Fung	Chapulín en frijol y maíz	CESAVEG 3 Irapuato, Gto.
HzNPV	V	Gemstar	<i>Helicoverpa zea</i>	Thermo Trilogy
<i>Metarhizium anisopliae</i>	H	Bio-Blast	Termitas y cucarachas	Eco Science
<i>Metarhizium anisopliae</i>	H	Meta-Sin	Plagas caseras	Agrobionsa, Culiacan, Sin.

<i>Metarhizium anisopliae</i>	H	Fitosan-M	Gallina ciega, chapulines	CESAVEG
<i>Myrothecium verrucaria</i>	H	DiTera ES	Nemátodos de las cucurbitáceas	Abbott-Dupont 4
<i>P. fumosoroseus</i>	H	Pea-Sin	Plagas de invernadero	Agrobionsa
<i>P. fumosoroseus</i>	H	PFR-97	Plagas de invernadero	Thermo-Trilogy
<i>P. fumosoroseus</i>	H	<i>P. fumosoroseus</i>	Mosquita blanca, chicharritas	CESAVEG
<i>Sterinernema</i> sp. <i>Heterorhabditis</i> sp.	N	ACB5 Nemátodos	Plagas del suelo y barrenadores	AlternaAgro Texcoco, Mex.
SeNPV	V	Spodex	<i>Spodoptera exigua</i>	Thermo Trilogy
1 B= bacteria H= hongo V=virus N= Nemátodo 9-11 2 Centro Nacional de Referencia de Control Biológico 3 Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato 4 Producido por Abbott (Chicago, IL) y distribuido por Dupont (México, DF) 5 Agentes de Control Biológico – nemátodos				

(Rodríguez del Bosque, *et al.* 1999).

El monitoreo de resistencia es una forma de dar seguimiento a la respuesta de poblaciones de insectos sujetas a presión de selección por insecticidas. En el Valle del Yaqui, Sonora a partir de 1988 se estableció una estrategia tendiente a reducir la presión de selección por insecticidas piretroides en las poblaciones de plagas que atacan al algodón. La principal acción consiste en restringir el uso de insecticidas piretroides a una ventana de uso comprendida en la parte media del ciclo del algodón (Martínez, 1990).

Un proceso de cultivo sólido para la producción de *B. bassiana* ha sido desarrollado recientemente por Mycotech Corporation, USA (Bradley *et al.*, 1992).

El uso comercial de las blastosporas de *P. fumosoroseus* como un micoinsecticida depende del desarrollo del proceso de producción y de las altas concentraciones de esporas que sobrevivan al secado y permanezcan viables e infectivas después de su almacenamiento (Jackson *et al.*, 1997, Jackson, 1999). Largos períodos de almacenaje afectan a la sobrevivencia de los preparados en seco y producen variabilidad en los resultados. El soporte o la formulación en la cual los preparados de esporas de *P. fumosoroseus* son secados pueden afectar su sobrevivencia inicial (Cliquet & Jackson, 1997).

El uso comercial de los entomopatógenos como control biológico se ha incrementado en los últimos años debido al alto nivel de contaminación del medio ambiente, mas sin embargo es recomendable realizar investigaciones profundas a los ecosistemas para evitar afectar su balance ecológico.

5.3.4.6. Legislación

Existen tres organizaciones que establecen los requisitos, especificaciones y procedimientos, nacionales e internacionales, para la importación o distribución de organismos para el control biológico de plagas: la organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR), y la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) (Tamez, *et. al.*, 2003).

La FAO tiene una norma de referencia conocida como Código de Conducta para la Importación y Liberación de Agentes de Control Biológico (Anónimo, 1996, Publicación No. 3, Secretariat of the International Plant protection Convention, food and Agricultural Organization of the United Nations. Rome, Italy).

La NAPPO está constituida por los gobiernos de México, Estados Unidos y Canadá y está suscrita a la FAO. Dentro de sus principales objetivos está el desarrollo de procedimientos para la protección y cuarentena vegetal en America del Norte, vista como entidad geográfica. Algunos de los lineamientos generados incluyen a los organismos de control biológico, pruebas de especificidad e impacto ambiental. (Guidelines for the petition for Release of Nonnative Phytophagous Agents for the Biological Control of Weeds, 1999, The Secretariat of the North American Plant Protection Organization, 59 Camelot Dr., Nepean, Ontario, Canada K1A 0Y9) (Boyetchko, S.E. *et al.*, 1999).

La SAGAR-DGSV es la instancia que promueve y elabora las Normas Mexicanas de Sanidad Vegetal, incluyendo control biológico. La NOM-070-FITO-1995, establece los requisitos para la importación o movilización de agentes de control biológico de plagas y se aplica a entomófagos y entomopatógenos y la NOM-072-1995 se refiere y aplica al control de malezas. Actualmente se analiza una norma que regularice a plantas resistentes, organismos transgénicos, organismos útiles en el control autocida, feromonas, aleloquímicos, extractos de origen vegetal, reguladores de crecimiento, productos formulados o derivados tóxicos de microorganismos patógenos. Siempre se solicita información acerca del modo de acción, área de aplicación, insectos blanco, etc., según sea el caso y producto (Tamez, *et. al.*, 2003).

Un amplio de autoridades tienen competencia en el control de plaguicidas en México, desde las secretarías de Hacienda y Crédito Público, del Trabajo y Previsión Social, de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, (SAGAR) de Comercio y Fomento Industrial; de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP); de Salud (SSA), entre otras dependiendo de las fases del ciclo de vida de los plaguicidas, desde su importación y exportación, hasta su registro, proceso y uso, almacenamiento, transporte, comercialización, entre otros, en los ámbitos del ambiente laboral, la salud ocupacional, la salud ambiental y el saneamiento e impacto ambiental.

Algunas de las Secretarías mencionadas, se coordinan en la llamada CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del proceso y uso de Fertilizantes, Plaguicidas y Sustancias Tóxicas) que tiene como objetivo central realizar actividades coordinadas de regulación que lleven a una simplificación administrativa, es responsable de la elaboración de Normas Oficiales Mexicanas (NOM) y publica un Catálogo Oficial de Plaguicidas donde se especifican aquellos prohibidos, restringidos y permitidos en el país (CICLOPLAFEST, 1996).

La actuación de la CICOPLAFEST si bien ha servido para agilizar los permisos de registro, importación y exportación de plaguicidas, poco o nada ha significado en la

prevención del daño ambiental y a la salud que pueden tener el uso de estos agrotóxicos. El panorama del impacto ambiental y de salud pública creado por el uso intensivo de plaguicidas químicos en México es crítico ya que tienen efectos en la salud y en el ambiente.

5.4. Mosquita Blanca (*Bemisia argentifolii*)

Una plaga de mayor distribución mundial es la mosca blanca (*Bemisia argentifolii*), ataca a más de 500 especies de plantas cultivadas, su alta tasa reproductora y su marcado desarrollo de resistencia a los insecticidas comúnmente usados. Los agentes más importantes en contraste de la mosquita blanca son los parasitoides y hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*.

Durante los últimos años se ha investigado a fondo la producción a nivel industrial de formulados a partir de *P. fumosoroseus*. Debido a lo anterior, es necesario conocer las limitaciones que este hongo tiene frente a los fungicidas utilizados normalmente como insecticidas.

En varios estados de los Estados Unidos y México existen varias especies de mosquita blanca que atacan cultivos y jardines a través de

Lo que hace a este insecto un gran problema, es el amplio rango de hospederos lo cual llega a ser hasta 500 especies de plantas además de su tendencia a desarrollar grandes poblaciones y algunas enfermedades virales.

La mosquita blanca se alimenta mediante la succión de nutrientes de la planta y excreta un exudado llamado “Honeydew” o miel. Cuando las poblaciones son altas, la cantidad de miel producida puede causar el crecimiento de moho el cual oscurece las hojas o la superficie de los frutos. Al succionar los nutrientes, la mosquita blanca remueve nutrientes de la planta provocando su debilitamiento, bajo crecimiento, defoliación, bajas cosechas y en ocasiones la muerte de las plantas. En algunas plantas la mosquita causa

síntomas específicos como 1) succión de la saliva, lo que reduce el vigor de la planta y su producción, 2) excreción de mielecilla, 3) transmisión de enfermedades virales, e 4) inyección de toxinas las cuales inducen desórdenes fisiológicos en las plantas (Butler *et al.*, 1986; Byrne *et al.*, 1990, Torres-Pacheco *et al.*, 1996).

Además durante el invierno permanece en plantas ornamentales y maleza, y emmigra a las cosechas y jardines durante la primavera y el verano. Cuando las temperaturas se elevan en el verano, la población puede crecer rápidamente, y al final se tienen las poblaciones más altas.

La mosquita blanca deja sus huevecillos a los lados de las hojas. El primer estadio tiene piernas y antena, y se pierden después de la primer muda, después la larva que presenta una forma oval aplanada se fija a un extremo de la hoja alimentándose de esta. El cuarto estadio inmaduro del ciclo es la pupa y carece de alimentación. La pupa presenta inexistencia de filamentos encerados alrededor de sus bordes y rara vez produce cera en las colonias, como existe en algunas otras especies. Los adultos emergen de la pupa a través de una abertura en forma de T y pronto copulan y se reproducen. Existen muchas generaciones al año.

El tamaño de los adultos es de aproximadamente 0.8 mm., los cuales se dispersan en forma de nubes cuando se disturban. Tienen alas blancas y cuerpo amarillo, son ligeramente enceradas y sin bandas o marcas (USDA, 2000).

Debido a lo anterior es importante manejar un control biológico en contra de esta plaga devastadora para las cosechas.

5.5. Relación Insecto- Patógeno

Los insectos, el grupo animal más abundante y diverso sobre la tierra está asociado con un tremendo número de microorganismos. Como en otros sistemas eucarióticos, las

relaciones simbióticas a través de diferentes insectos y microorganismos deberán clasificarse como mutualistas, comensalistas, saprofíticos o parásitos. De hecho, algunos de los modelos animal-microorganismo mejor estudiados envuelven a los insectos (Schwemmler & Gassner, 1989).

Es importante mencionar que factores del microorganismo y el hospedero directamente influyen en la susceptibilidad. La virulencia y patogenicidad de un agente virulento son determinadas por su genoma microbial. La genética del hospedero también juega un rol principal para la determinación de la susceptibilidad. En la naturaleza, un agente infeccioso es capaz de infectar solo a aquellos individuos que poseen el criterio de ser susceptibles. El grupo de animales hospederos que soportan la replicación y reproducción de patógenos en particular es considerado el rango del hospedero. Algunas cepas del micopatógeno *B. bassiana* puede infectar insectos de diferentes órdenes. El rango del hospedero es una importante propiedad de los agentes infecciosos y pueden jugar un rol decisivo en la habilidad de llegar a establecerse en una región específica. La especificidad del patógeno juega un rol crucial en el control de la enfermedad y en las estrategias de la inducción de la enfermedad.

Es necesario enfatizar que las poblaciones de los insectos son heterogéneas y poseen varios niveles de resistencia a la enfermedad. Raramente se tienen aplicaciones en campo de cepas de virus, hongos, protozoarios y bacterias altamente dañinas, lo que resulta en una reducción masiva de la población o de un rociado inducido. Además de la genética, otros factores como la edad, el sexo y el estado fisiológico del hospedero dictan la susceptibilidad de este. Por ejemplo, un patógeno puede ser altamente infeccioso a una etapa de vida específica del insecto e inocuo a otra (Boucias & Pendland, 1998). Por lo que en esta investigación se escogió el segundo y el tercer estadio larvario de *Bemisia argentifolii* donde se ha demostrado a nivel laboratorio existe mayor infección de los entomopatógenos fúngicos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* (Wraight, *et al*, 1998).

Para establecer la susceptibilidad de un agente infeccioso sobre su hospedero es importante conocer la ruta de transmisión de este, por ejemplo los patógenos fúngicos normalmente penetran a través de la cutícula del hospedero (Boucias & Pendland, 1998).

Un pequeño número de microorganismos asociados con los insectos son agentes causales de enfermedades (Steinhaus, 1947; Beckage *et al.*, 1993). Sin embargo, la diversidad y abundancia del orden Insecta es de (10^6 - 10^7 especies) y la similitud de que cada especie posee un complejo de enfermedades sugiere que el número total de patógenos de insectos es enorme. Recientemente, la mayoría de los patógenos de insectos que han sido caracterizados se han asociado con un selecto grupo de insectos domésticos y plagas (Tanada & Kaya, 1993).

La patología de los insectos se ha enfocado en aquellos microorganismos que causen una directa y letal infección en plagas. Una manipulación potencial de estos patógenos como agentes microbianos de control ha proveído el ímpetu de esta investigación (Burges, 1981, Fuxa & Tanada, 1989).

Los patógenos de insectos que causan una enfermedad específica y crónica deben ser capaces de persistir en el ambiente, multiplicarse en el hospedero y desparramarse en otros hospederos susceptibles. En muchos aspectos, los patógenos de insectos poseen las características de otros patógenos eucarióticos (Mims, 1995). Los entomopatógenos fúngicos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* poseen estas tres características, como se ha comprobado en diversas investigaciones científicas.

Los patógenos de insectos penetran a través de la cutícula y la membrana peritrófica, invaden los tejidos epiteliales internos y establecen una infección **localizada** o se dirigen a tejidos secundarios causando una infección **sistémica**. Sin embargo, poco se conoce sobre la dispersión de la mayoría de los patógenos de insectos dentro del hospedero (Mireles, 2006). En general, los patógenos que causan infección localizada causan enfermedades crónicas en el insecto. Ciertos patógenos como los entomopatógenos fúngicos sobrepasan

completamente los tejidos epiteliales y penetran directamente sobre la cutícula del hospedero y la capa interna de la epidermis (Boucias & Pendland,1998).

Wraight *et al.*, (1998) midieron y compararon la patogenicidad de tres entomopatógenos fúngicos contra de *B. argentifolii* teniendo como resultado que *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* tuvieron una alto grado de infectividad, mientras que *P. farinosus* fué menor. Del mismo el crecimiento y esporulación *postmortem* de *B. bassiana* en la ninfa del insecto fue lento, localizado y dejando una pigmentación roja, en cambio la pigmentación de la ninfa del insecto por parte de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* fue ligeramente amarilla o naranja y su infección se extendió rápidamente hasta la orilla de la hoja. Lo anterior confirma la alta patogenicidad por parte de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*.

5.6 Fungicidas

Son químicos compuestos usados para prevenir la dispersión de los hongos o de las plantas en jardines y cosechas, y pueden causar serios daños resultado de la perdida del campo y por consecuencia las ganancias (Latijnhouwers *et al.* 2000) .

Son usados extensamente en la industria, la agricultura, en el hogar y el jardín para un número de propositos que incluyen: protección de las semillas de granos durante su almacenamiento, protección de cultivos maduros, asi como de las fresas, los semilleros, las flores y hierbas silvestres, durante su almacenamiento y transportación, eliminación de mohos que atacan las superficies pintadas, para el control de limo en la pasta de papel, (de empapelar) y la protección de alfombras y telas en el hogar.

El potencial que tienen los fungicidas para causar efectos adversos en los humanos varía enormemente. Históricamente, algunas de las epidemias más trágicas de envenenamiento por fungicidas ha ocurrido mediante el consumo de semillas de granos que fueron tratadas con mercurio orgánico o hexaclorobenceno. Sin embargo, es improbable que la mayoría de los fungicidas que se utilizan en la actualidad causen severos

envenenamientos frecuentes o sistémicos debido a que tienen una toxicidad inherente baja para los mamíferos y son absorbidos ineficazmente además se formulan en una suspensión de polvos y gránulos adsorbentes en agua, por lo cual una absorción rápida y eficiente es improbable y los métodos de aplicación son tales que relativamente son pocos los individuos que están altamente expuestos. Aparte de los envenenamientos sistémicos, los fungicidas, en su clase, son responsables probablemente de un número desproporcional de daños irritantes a la piel, las membranas mucosas y sensibilización cutánea (Fungicidas, 2008. <http://eea.uprm.>).

Los fungicidas pueden ser de contacto o sistémicos. Los de contacto matan al hongo cuando son rociados en su superficie y los sistemáticos tienen que ser absorbidos por la planta.

Se aplican mediante rociado, pulverizado, por revestimiento en semillas o por fumigación de los locales como invernaderos y almacenes. En tratamientos de otros materiales como madera, papel y cuero se aplican mediante impregnación o tinción. Otra forma de administrarse, es como medicamentos (ingeridos o aplicados) en tratamiento de enfermedades humanas o animales.

Como una alternativa a los insecticidas químicos, el Instituto del Grano Pequeño del Consejo de Investigación Agrícola de Sudáfrica desarrolla un programa de control integrado utilizando cultivos resistentes en combinación con parasitoides, depredadores, y hongos entomopatógenos en contra del áfido de la avena, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae). Las cepas del hongo entomopatógeno *Conidiobolus thromboides* Dreschsler, 1953 (Zygomycetes:Entomophthorales) se han estudiado ampliamente para el control de este áfido (Humber *et al.* 1977, Latgé & Papierok 1988).

En México, el mercado de plaguicidas abarca por lo menos 278 plaguicidas autorizados (en 1996), que se formulan de diversos modos y se ofrecen en cientos de marcas comerciales; y la industria nacional calcula un volumen de unas 50,000 toneladas

anuales, en 1988 (Cedillo *et al.*, 1996). Es un mercado dominado por grandes empresas transnacionales de la Industria Química, de origen europeo (Bayer, Zeneca, Agrevo, Novartis) y estadounidense (Dupont, Monsanto) principalmente, aunque con la globalización de la economía mexicana, también se encuentra la presencia de corporaciones japonesas e israelitas. Las empresas que dominan el mercado mundial de plaguicidas se han consolidado al comprar empresas productoras de semillas, y en los últimos años, laboratorios de Ingeniería genética, en una estrategia que busca tener mayor influencia en la oferta del sistema alimentario mundial. Según las últimas estimaciones 10 empresas transnacionales controlan el 88% de las ventas a nivel global, estimadas en 31 mil millones de dólares (Dinham, 1999).

Los fungicidas tienen un mercado global comercial bastante amplio ya que el agricultor desea obtener una cosecha redituable a bajo costo, a veces sin importar el impacto ecológico al ecosistema. Por eso la importancia de seguir investigando el uso en conjunto de fungicidas con entomopatógenos para obtener una cosecha libre de plagas y sin dañar a los ecosistemas.

5.6.1 Clasificación en Relación a su Modo de Acción.

Fungicidas protectores se aplican antes de que lleguen las esporas de los hongos. (por ejemplo: los compuestos de azufre y cobre).

Fungicidas erradicadores se aplican para el tratamiento de la planta ya enferma por hongos. (por ejemplo: compuestos de mercurio, derivados nitrogenados de fenoles,...).

5.6.2. Clasificación por su Composición.

Compuestos de cobre. Cloruro de cobre, oxiclорuro de cobre, óxido cúprico, “caldo bordoles” (sulfato de cobre e hidróxido cálcico), quinolinato de cobre, carbonato de cobre básico, naftenato de cobre, cromato de cobre y oleato de cobre.

Compuestos de mercurio: Colomel (cloruro mercurioso), óxido mercúrico, lactato de mercurio, mercuram (acetato metoxietilmercúrico), MEMC, PMA.

Compuestos de estaño: acetato de sentina (acetato de estaño trifenilo), cloruro de sentina (cloruro de estaño trifenilo) óxido de estaño butilo, Plictran (óxido de estaño triclorohexilo).

Compuestos de zinc: cloruro, cromato, naftenato y oleato de zinc.

Otros compuestos como azufre, compuestos organofosforados, ditiocarbamatos, hidrocarburos halogenados, nitrocompuestos aromáticos, quininas, anilidas, compuestos de guanidina, entre otros (www.Jmcprl.net/GLOSARIO/FUNGICIDAS.htm).

La mayoría de los fungicidas que se encuentran en el mercado se venden en estado líquido. El ingrediente activo común es el sulfuro, a una concentración mínima de 0.08% y concentraciones máximas de 0.5% para los fungicidas mas potentes. En forma de polvo, la concentración normalmente es de 90% muy tóxica.

Otros ingredientes activos encontrados en otras marcas diferentes incluyen aceite neem, aceite de jojoba, aceite de rosamaria y la bacteria *Bacillus subtilis*.

Residuos de fungicidas se han encontrado en alimentos para consumo humano, por tratamientos despues de la cosecha (Brooks & Roberts, 1999).

Los fungicidas son extensamente utilizados en la industria, para diferentes propósitos, asi como la protección del grano, durante su almacenaje, embarque y germinación. La protección de frutas y vegetales maduros, flores, pastos en el campo, y almacenaje ademas del embarque. En el hogar y en el jardín la supresión de hongo que ataca a las superficies pintadas y pulpas de papel, protección de alfombras y telas en casa.

5.6. 3. Industrias Importantes en la Producción de Fungicidas.

A nivel mundial, Syngenta© nace como la compañía líder en el mercado agrícola, enfocada a la protección de cultivos y semillas. Con sede en la ciudad de Basilea, Suiza. Syngenta© está presente en más de 90 países alrededor del mundo. Como una empresa totalmente dedicada a los agronegocios, entendemos mejor que ninguna otra las necesidades de los agricultores.

Enfocan sus recursos y esfuerzos al desarrollo de soluciones integrales para los cultivos y la producción mundial de alimentos, donde existen productos reconocidos por su calidad, y por nuevas tecnologías y semillas, con un calificado soporte técnico dedicado a incrementar las ganancias del agricultor. El portafolio de sus productos cuenta con herbicidas líderes, insecticidas novedosos, fungicidas reconocidos y semillas de alto valor.

En México se cuenta con un equipo de trabajo presente en todo el territorio nacional, ofreciendo asesoría, apoyo y solución a las necesidades de nuestros clientes para contribuir a la obtención de cultivos de calidad de manera sustentable (www.Syngenta.com).

Monsanto© fue fundada en St. Louis, Missouri, Estados Unidos en 1901. Su fundador, John Francis Queeny, un químico autodidacta y operario veterano de la industria farmacéutica, fundó la compañía con capital propio. Dio a la compañía el nombre de soltera de su esposa.

En sus primeros años, la Monsanto© inventó el edulcorante artificial sacarina. También proveyó de cafeína a la Coca-Cola©, siendo uno de sus principales proveedores. En la década de 1920, Monsanto© expandió sus negocios para la química industrial, como por ejemplo ácido sulfúrico. En la década de 1940, ya era líder en la fabricación de plásticos, incluyendo poliestireno y fibras sintéticas. En 1947, un carguero francés que

transportaba fertilizantes de nitrato amónico explotó en un muelle apenas a 80 metros de la fábrica de plásticos de Monsanto© en Galveston, Texas. Murieron más de 500 personas en lo que se consideró uno de los primeros grandes desastres de la industria química. Desde entonces, se consolidó cómo una de las 10 mayores compañías químicas norteamericanas. Otros productos fabricados por ella incluyen el agente naranja 2,4,5 T, aspartame (NutraSweet®) y la somatotropina (hormona de crecimiento vacuno), entre otros.

También creó la hormona transgénica BST (hormona somatotropina bovina), cuyo uso está prohibido en la Unión Europea, Canadá, Australia y Nueva Zelanda por los efectos dañinos en la salud animal y las consecuencias en los consumidores de esta leche, a cáncer. Basado en este informe claramente parcial, la BST se usa también en algunas de las principales cuencas lecheras de México ([www. Monsanto.com](http://www.Monsanto.com)).

Basf© es una compañía internacional de origen Alemán, la cual produce polímeros y sustancias químicas para diferentes aéreas. Tiene ventas de cerca de 58 millones de euros en el 2007. Su estrategia mundial es incrementar sus productos y ventas ([www. Corporate.bask.com/en/ueberuns/?id=f5hwXD2PZbcp21V](http://www.Corporate.bask.com/en/ueberuns/?id=f5hwXD2PZbcp21V)).

5.6.4. Bravo® (Chlorothalonil)

Este fungicida controla ciertas enfermedades en cosechas de zanahorias, col, cebolla, y papa provee salud y vigor a la planta. Según su etiqueta como un aspersion foliar por irrigación, aire o tierra, el fungicida se mueve a través de la planta para proteger la superficie foliar, por lo tanto previene la infección antes de que empiece. Es un fungicida líquido que también se encuentra en una presentación de combinación para el control de enfermedades foliales en papas (Syngentacrop, Suiza).

Chlorotalonil esta disponible como un polvo, en gránulos dispersibles y polvos de corriente. Cloratalonil puede causar irritación en la piel y membranas mucosas del ojo y el tracto respiratorio por contacto. Se han reportado casos de dermatitis alérgica por contacto.

Aparentemente sin absorción en piel y el sistema gastrointestinal. Ausencia de casos de envenenamiento sistemático en humanos (Dannaker *et al.*, 1993).

5.6.5. Tilt® (Proficomazole)

Es un fungicida que provee un máximo control de las enfermedades fúngicas, mientras que ayuda a las cosechas a maximizar y mejorar la calidad de la cosecha. Tilt® provee un alto rendimiento de la inversión y está etiquetado para uso en trigo, maíz, avena, cacahuate, arroz, apio, entre otros.

Es recomendable una aplicación preventiva por la dispersión rápida de la enfermedad y a menudo difícil de detectar.

Las ventajas de este fungicida son que es económico, de secado rápido, sistémico, y provee un máximo control de las enfermedades fúngicas (Syngentacorp., Suiza).

5.6.6. Quadris® (Azoxystrobin)

Es un fungicida de bajo riesgo, con acción moderada de amplio espectro para el control de la enfermedad además de mejorar la calidad de la cosecha en un amplio rango como la papa, el algodón, y vegetales de hoja verde, frijol y trigo. Este fungicida provee lo último en calidad y beneficios en el campo a ambos agricultores y procesadores de alimentos.

Este fungicida se ha registrado y usado exitosamente para el control de enfermedades del follaje. Es activo en contra de la esporulación, crecimiento micelial y germinación. Tiene acción moderada y es altamente activo en bajos rangos de aplicación. Es preventivo, curativo y erradica la actividad del hongo. Tiene una actividad sistémica en el xilema de acuerdo al ingrediente activo azoxystrobin, el cual permite moverse dentro de la planta mediante el flujo del agua. Esto da a Quadris® la habilidad de moverse desde el

punto de aplicación hasta la hoja o planta para una transformación consistente. El fungicida además tiene un factor X el cual promueve una distribución homogénea del producto, incluido partes que sin ser rociadas por el producto y aquellos tejidos viejos o nuevos quedan completamente protegidos contra la enfermedad (Sygentacropprotection).

5.6.7. Top Cop® con sulfuro (Copper sulfate, Tribasic)

Este fungicida es utilizado para evitar la infección de hongos en almendras, cítricos, café, uvas, cacahuates, chiles, pistáchio, papa, azúcar, tomate, y nuez.

Es un fungicida que se encuentra dentro de la clasificación de compuestos inorgánicos y orgánicos.

Los compuestos insolubles están formulados en polvos y en polvo líquido soluble. Las sales solubles se preparan como soluciones acuosas. Algunos compuestos organometálicos son solubles en aceites minerales. Existe una gran cantidad de fungicidas comerciales que contienen cobre. Algunos son mezclas de compuestos de cobre. Otros incluyen cal y otros metales. La composición de productos específicos se encuentra disponible generalmente mediante los fabricantes o los centros de control de envenenamiento. Compuestos de cobre y arsénico, como el Verde de París aun pueden ser utilizados para la agricultura fuera de los E.U.A.. La toxicidad de estos compuestos debe principalmente a su contenido arsénico (Lamont, 1988).

5.6.8. Resistencia a los fungicidas

La naturaleza de la resistencia a los fungicidas ha sido pobremente estudiada y entendida. El hombre ha utilizado los fungicidas a lo largo de los años. El uso de químicos para el control de las enfermedades en plantas fue restringido a mediados de los años 20s.

Los fungicidas afectan de diversas maneras a los hongos: los fungicidas protectores previenen a las plantas de hongos patógenos mediante la inhibición de la germinación de la espora, los benzimidazoles inhiben la división celular mientras los inhibidores de esteroides inhiben la reproducción de membranas celulares y como consecuencia generan hongos con paredes celulares débiles y disminuyen su capacidad de absorción de nutrientes afectando su bioquímica específica.

El desarrollo de la resistencia es aun controversial, ya que algunos grupos de entomopatólogos claman que altos rangos de exposición ocasionan la resistencia. Opuestamente otros que lo ocasiona bajos rangos de dosis subletal (<http://disease.tfrec.wsu.edu/main/publish/Resistance/resistance.htm>).

5.7. Manejo Integrado de Plagas (MIP)

El manejo integrado contra plagas (MIP) es una estrategia que apoya múltiples controles tácticos en el manejo de plagas. De esta manera se minimiza la oportunidad de las plagas a adaptarse a un control. Las tácticas de MIP incluyen el uso de variedad de cosechas plaga-resistentes o plaga-tolerantes y controles físicos, culturales, biológicos y químicos.

En un programa MIP es importante identificar minuciosamente a las plagas (insectos, enfermedades y maleza). Es muy importante también tener un claro conocimiento de la biología y ecología de la plaga que ataca a la cosecha y los factores que puedan influenciar la infestación de la plaga (Chaput, 1993). La influencia de factores como el clima, y la abundancia de los enemigos naturales de las plagas pueden ayudar a escoger la táctica del manejo (Hoffman *et. al.*, 1996).

El MIP se ha consolidado como una opción eficiente para el control de plagas por ser una estrategia que introduce una nueva filosofía basada en un amplio conocimiento de los ecosistemas productivos con necesidades y carencias particulares (Castañon, R., 2008).

5.7.1. Componentes del Manejo Integrado de Plagas

El monitoreo donde:

- Se incluye detección, identificación y muestreo de las poblaciones de plagas en un tiempo base.
- Del clima con datos disponibles e información de ayuda en la cual prediga el cuando una plaga específica es mas común su ataque.

La primera etapa (nivel de la población de la plaga) determina cuando las poblaciones de la plaga han alcanzado un nivel que puede causar un daño económico.

Un manejo apropiado de tácticas de control de plagas que incluye controles físicos, culturales y biológicos así como controles químicos si lo necesitan (Vincelli & Lorbeer, 1989).

El acceso a la red computacional para obtener una predicción del clima , información sobre los insectos y enfermedades regionales son útiles pero innecesarias. Colocando un equipo de simple para registrar el clima como termómetros, higrómetros, y probetas de lluvia en los campos puede ayudarnos a predecir la actividad de los insectos (Kovach *et al.*, 1992).

A pesar del uso continuo de plaguicidas químicos, las enfermedades y plagas siguen causando las mayores pérdidas en la producción agrícola mundial. La FAO estima que se pierde, durante el almacenaje, entre 5% y 10% de todos los granos alimenticios cosechados, a causa de insectos, ácaros, roedores y hongos. En América Latina las pérdidas varían entre el 25 y el 50% en la cosecha de los cereales, en la India y ciertos países africanos, las pérdidas son del 30% y en algunas zonas del Suroeste de África se pierde hasta el 50% de algunos cultivos (Altieri, M., 1999).

Es evidente que el modelo de producción extensiva basado en el empleo de grandes dosis de agroquímicos, se encuentra agotado. En las próximas décadas se espera reducir al

mínimo el empleo de químicos para controlar plagas y enfermedades y adoptar un modelo alternativo, menos costoso, socialmente aceptable, ambientalmente adecuado y útil a largo plazo (Alvarado, 2000).

Entre las aplicaciones de la biotecnología dentro del MIP, en el país, está estrechamente relacionado con la colaboración, a largo plazo, entre productores agrícolas, empresas de agroquímicos y centros de investigación, tanto público como privados. Así, el fomento a la investigación en esta materia, y el establecimiento de redes de transferencia de tecnología, vinculación entre la academia y los productores, son elementos necesarios para lograr la estructuración de programas regionales exitosos que satisfagan las demandas puntuales de cada agricultor (Harman, 2000).

6. METODOLOGÍA

6.1 Obtención y Mantenimiento de los Formulados.

Los formulados provenientes de México se recibieron debidamente embolsados, etiquetados y sellados. El producto proveniente de Estados Unidos se recibió en frascos cerrados y etiquetados.

Las cepas de los hongos fueron proporcionadas por diferentes investigadores, a las cuales se les asignó una clave interna. Algunas de las cepas fueron utilizadas como referencia, la GHA para *Beauveria bassiana* y 612 para *Paecilomyces fumosoroseus*.

Tabla 1. Cepas utilizadas durante este estudio.

Cepa	Producidas por
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (conidias)*	Empresa Mycotech, E.U.A.
<i>Beauveria bassiana</i> (conidias)	Empresa Mycotech, E.U.A.
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (blastoesporas) “MJ” cepa 612	USDA, E.U.A.
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (blastoesporas) “MC” cepa 612	USDA, México
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (blastoesporas) “MJ” cepa 612	UANL /IB, México

“MJ”: Medio de cultivo “Mark Jackson” desarrollado por el USDA para cultivar blastoesporas de *Paecilomyces fumosoroseus*.

“MC”: Medio de cultivo “Medio Catalina” desarrollado por FCB, UANL, para cultivar blastoesporas de *Paecilomyces fumosoroseus*.

USDA: Departamento de Agricultura de Estados Unidos

UANL: Universidad Autonoma de Nuevo León

IB: Instituto de Biotecnología

Los formulados de las blastoesporas y las conidias se almacenaron a una temperatura de -4°C en condiciones estériles y baja humedad hasta su aplicación. La empresa Mycotech Corp.© enviaba los frascos días antes de su aplicación.

4) Fungicidas:

a.- Quadris®

Composición química: azoxystrobin, Metil (E) -2-2-6-(2-cianophenoxy)pirimidin-4-
yloxy-fenil-3-metoxiacrilato (IUPAC).

Quadris 2,08 F,

Zeneca, Inc. Wilmington, DE

Itivon NV (D), Whitaker Distribution Inc., Zeneca Ag Proproducts (BP)

Rangos [Kg. (AI)/ha]: 0.09

b.- Top Cop® con sulfuro

Composición química: Cuprico sulfato-tricúprico hidroxido-hemidrato, cobre (II)
sulfato-tricuprico, hidroxido de hemidrato.

Top Cop 6.25-1 F,

Stroller Entreprises, Inc., Houston TX

Rangos [Kg. (AI)/ha]: 3.47

c.- Bravo®

Composición química: Chlorothalonil

Bravo 6.0 flowable (F),

ISK Biosciences Corp., Mentor, OH.

Rangos [Kg. (AI)/ha]: 1.67

d.- Tilt®

Composición química: Propionazole

Tile 4.1 F,

Ciba- Geigy Corp., Greensboro, NC.

Rangos [Kg. (AI)/ha]: 0.14

6.2 Determinación de Micotoxicidad con los Fungicidas Selectos:

Se realizaron tres tipos de bioensayos en el laboratorio: *in vitro*, *in vivo* y *en campo* con plantas de melón (*Cucumis melo*), cebollas (*Allium cepa*) y col de bruselas (*Brassica oleracea*) con formulados entomopatógenos de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana*.

6.3 Preparación de los formulados entomopatógenos de Conidias o Blastoesporas para

su Conteo:

Se utilizaron tres diluciones: alta y media.

Dilución alta:

- 1.- Se midió 100 ml de agua destilada y agregó a un frasco.
- 2.- Se sacaron 10 microlitros de agua destilada del frasco y se agregó 10 microlitros de solución surfactante Tween 80 al 0.01%.
- 3.- Se tomó 10 ml de esta solución y se agregaron a otro frasco con perlas de vidrio y un imán.
- 4.- Se pesó 10mg del formulado en polvo del entomopatógeno y se agitó por 15 minutos.

En la **Tabla 2** se muestran las concentraciones utilizadas de cada uno de los formulados de los entomopatógenos para realizar los bioensayos en el laboratorio y en campo.

Tabla 2. Concentraciones de cada uno de los entomopatógenos utilizados en los bioensayos.

Entomopatógeno	Concentración
<i>Beauveria bassiana</i> (conidia)	1 mg / 1ml Tween 80 0.01%
Mycotech Pfr 612 (conidia)	1 mg / 1ml Tween 80 0.01%
<i>P. fumosoroseus</i> (Blastoesporas) (E.U.A)	1.5 mg / 1ml Tween 80 0.01%
<i>P. fumosoroseus</i> (Blastoesporas) México "Mark Jackson"	3 mg / 1ml Tween 80 0.01%
<i>P. fumosoroseus</i> (Blastoesporas) México "Catalina"	3 - 5 mg / 1ml Tween 80 0.01%

Dilución media:

- 1.- Se tomó 4 ml de la solución Tween al 0.01% y se agregó a un frasco con perlas de vidrio y un imán.
- 2.- Agregó 1 ml de la dilución alta y se agitó por 15 minutos.

6.4. Conteo de Esporas en el Contador Electrónico:

- Se calibró el contador electrónico Coulter Counter de acuerdo a su instructivo.
- Se tomaron 5 ml de la dilución Media y se leyeron.
- Se tomó la lectura por triplicado.

6.5. Conteo de Esporas en el Microscopio:

- 1.- Se roció 1ml de la solución Alta mediante la Torre Rociadora en una caja Petri conteniendo agar-agua (Agar granulado al 3%).
- 2.- Se cortó un cuadro del agar y se colocó en un portaobjetos, se le agregó una gota del colorante ácido Fuccínico y se cubrió con un portaobjetos.
- 3.- Se observó al microscopio.
- 4.- Se contó el número de esporas de acuerdo al método Fisher. (uam.es/departamentos/economicos/econapli/fse03/discriminate.pdf)

6.6 Obtención del Porcentaje de Viabilidad de las Conidias o Blastoesporas:

De cada uno de los formulados de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* se roció 1 ml del formulado de la dilución alta en una placa con agar SDL, posteriormente se incubó durante 18 hs a 25°C y se contaron 100 conidias o blastoesporas al microscopio compuesto para determinar el Porcentaje de Germinación.

6.7. Bioensayo *in vitro* a nivel de laboratorio

Se realizaron tres tipos de bioensayos *in Vitro*:

6.7.1. Estudio de Germinación:

Se prepararon 5 matraces de 250ml con 200 ml de agar SDL cada uno y se esterilizaron. Después de enfriarse un poco se les agregó a cada matraz un fungicida diferente 1.68 ml de Bravo[®], 3.36 ml de Top Cop[®], 0.24 ml de Tilt[®] y 0.26 ml de Quadris[®] (concentración indicada en el empaque para su uso en campo). El quinto matraz fue el control. A todos los matraces se les agregó cloranfenicol como antibiótico, se vaciaron en cajas petri y se dejaron enfriar 24 h.

Se prepararon soluciones de dilución alta a partir de los formulados de cada uno de los entomopatógenos y se utilizó la misma concentración indicada en la **Tabla 2** para cada uno de los hongos.

Se tomó 1ml de cada solución de cada entomopatógeno y se roció en la Torre Rociadora a 10 psi en 10 cajas de cada fungicida, así como en 10 cajas controles (agar SDL sin fungicida) y una caja de petri con agar agua para Conteo de esporas. Se colocaron en una caja de plástico con una servilleta húmeda y se taparon. Se incubaron a 25 °C con un fotoperíodo de 16:8 D:L por 24 h. Cada 24 h durante 7 días se contó el número de colonias por caja. Del mismo formulado se roció una caja Petri con agar SDL para determinación del porcentaje de Germinación.

Los resultados se procesaron estadísticamente, mediante un análisis de varianza, se utilizó el Estudio de Bartlett para Homogeneidad de grupo de Varianzas.

6.7.2. Estudio del Crecimiento radial

Se prepararon 5 matraces con 500ml de medio de agar SDL y se esterilizaron. Después de enfriarse a cada matraz se le agregó cada uno de los fungicidas en la cantidad promedio recomendada para utilizarse en campo Tilt[®] 0.3 ml, Bravo[®] 2.1 ml, Top Cop[®] 4.2ml, y Quadris[®] 0.65ml por cada 250 ml de medio SDL. El quinto matraz fue el control. Se agregó cloranfenicol a todos los matraces como antibiótico. Se vaciaron en cajas Petri. Se dejaron enfriar 24 h.

Previamente se prepararon cajas con los entomopatogenos a evaluar. Se rociaron 2 ml de cada uno de los formulados en cajas de agar con SDL, se envolvieron con papel aluminio y se incubaron a 25 °C con un fotoperíodo de 16:8 D:L por 48 h.

Se cortó y se saco un círculo de 10 mm en el centro de la caja petri con agar SDL y fungicida, en su lugar se colocó un círculo con micelio de blastosporas de *P. fumosoroseus*, conidias de *P. fumosoroseus* y conidias de *B. bassiana*, hongo el cual se obtuvo de las cajas que se mencionaron en el párrafo anterior . Se dibujó en la caja petri un círculo que corresponda al círculo del entomopatógeno y se dibujaron dos líneas perpendiculares a este para medir cada 24h el crecimiento micelial. Lo anterior se realizó con cinco cajas petri de cada uno de los fungicidas y cinco controles. Todas las cajas se colocaron en una caja de plástico con una servilleta húmeda, se taparon y se incubaron a 25°C con un fotoperíodo de 16:8 D:L.

Los resultados se procesaron estadísticamente, mediante un análisis de varianza, se utilizado utilizó el Estudio de Bartlett para determinar la Homogeneidad de grupo de Varianzas (Steel & Torrie, 1992).

6.7.3. Bioensayo de Mezcla en Matraz:

En un matraz con perlas de vidrio se agregó 10 ml de Tween 80 al 0.01% estéril, el formulado de cada uno de los entomopatógenos en concentraciones de acuerdo a la **Tabla 2**. Se agitaron por 10 min.

Después se agregaron 40 ml de Tween 80 al 0.01% y cada uno de los fungicidas (0.06 ml de Tilt[®] 0.42 ml de Bravo[®], 0.84 ml de Top Cop[®], y 0.07 ml de Quadris[®] por cada 500 ml de medio SDL). Se agitaron a 150 rpm y se marco la hora de inicio.

Una vez transcurrida una hora, dentro de la campana de flujo laminar en condiciones de esterilidad, se tomo una muestra de 1.5 ml de cada uno de los matraces conteniendo cada fungicida así como el control y se depositaron cada uno en un vial, cada muestra se tomo por duplicado. Se regresaron los matraces a la agitadora para realizar lo mismo cada hora por cuatro horas.

Cada una de las muestras de 1.5ml depositadas en el vial se colocaron en una centrifuga Beckman Microfuge ETM y se centrifugó por 2 min. Se tiró el sobrenadante. Se rompió con la punta de la pipeta el sedimento agregando 1.5ml de Tween 80 al 0.01% . Se centrifugó por segunda vez por 2 min., se agregó 1.5 ml de Tween 80 al 0.01% para resuspender el sedimento y se agitó.

Los viales de los diferentes fungicidas así como el control fueron vaciados en un rociador Nalge Company con el cual se rociaron dos cajas conteniendo agar SDL y 2 cajas con portaobjetos con agar SDL. Se sellaron la cajas con parafilm y se incubaron a 25°C 16:8 D:L. Se repitió lo mismo cada hora por 4 horas.

En este bioensayo se mezclaron blastosporas y conidias respectivamente de formulados entomopatógenos de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Los portaobjetos se limpiaron a las 24h y se les agregó una gota de azul algodón y se cubrió con un cubreobjetos. Se leyeron al microscopio compuesto y se determinó el porcentaje de

Germinación. Las cajas con agar SDL se incubaron a 25 °C 16:8 D:L por 7 días. Al séptimo día se cuantificó el crecimiento del entomopatógeno.

6.8. Bioensayo *In vivo*:

Se trabajó con plantas de melón (*Cucumis melo*) producidas en el invernadero del Departamento de Agricultura, en Weslaco, TX, Estados Unidos e infestadas con mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).

En todas las plantas se marcaron 40 ninfas en segundo estadio. Se trabajaron con tres grupos de 16 plantas y 16 plantas para el control.

6.8.1. Primer Grupo *Dos Días Antes* de la aplicación del entomopatógeno (2DA):

Dos días antes se rociaron 4 plantas con cada uno de los fungicidas Bravo[®], Top Cop[®], Tilt[®], y Quadris[®], para tener un total de 16 plantas. Después las plantas se colocaron en bases de plástico con papel filtro, se rociaron las plantas en la Torre Rociadora a 10 psi con los formulados de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* y se les colocó una tapa de plástico con tela malla. De cada formulado se rociaron una caja Petri con agar SDL para determinación de porcentaje de Germinación y una caja de Petri con agar agua para Conteo de esporas.

6.8.2. Segundo Grupo *Mismo Día* de la aplicación del entomopatógeno (MD):

Se rociaron 4 plantas con cada fungicida Bravo[®], Top Cop[®], Tilt[®], y Quadris[®]. Después las plantas se colocaron en bases de plástico con papel filtro, se rociaron las plantas en la Torre Rociadora a 10 psi con los formulados de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* y se les puso una tapa de plástico con tela malla. De cada formulado se rociaron una caja Petri con agar SDL para determinación de porcentaje de Germinación y una caja de Petri con agar agua para Conteo de esporas.

6.8.3. Tercer Grupo *Dos Días Después* de la aplicación del entomopatógeno (2DD):

Las plantas se colocaron en bases de plástico con papel filtro, se rociaron en la Torre Rociadora a 10 psi con los formulados de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* y se les puso una tapa de plástico con tela malla y dos días después se rociaron 4 plantas con cada fungicida Bravo[®], Top Cop[®], Tilt[®], y Quadris[®] para tener un total de 16 plantas. De cada formulado se rociaron una caja petri con agar SDL para determinación de porcentaje de Germinación y una caja de petri con agar agua para Conteo de esporas.

6.9.4. Grupo Control

Se colocaron 16 plantas en bases de plástico con papel filtro, se rociaron en la Torre Rociadora a 10 psi con los formulados de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* y se les puso una tapa de plástico con tela malla. De cada formulado se rociaron una caja petri con agar SDL para determinación de porcentaje de Germinación y una caja de petri con agar-agua para Conteo de esporas.

Todas las bases con plantas de los cuatro tratamientos anteriores se colocaron en bolsas de plástico zip lock con un algodón húmedo por 24 h incubándose a 25°C 16:8 D:L. Después se incubaron por 7 días. Se contaron cuantas ninfas de las 40 fueron infectadas por los entomopatógenos, obteniéndose el Porcentaje de infección.

Los resultados se procesaron estadísticamente, mediante un análisis de varianza, se utilizó el Estudio de Bartlett para Homogeneidad de grupo de Varianzas.

6.9 Bioensayo en campo:

Se trabajó en cultivos de melones y coles de Bruselas (*Brassica oleracea*), ubicado en los campos de cultivo 1015 del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, ubicado en Weslaco, TX., Estados Unidos de América.

La parcela se dividió al azar en 3 secciones y estas a su vez en 15 subsecciones pequeñas cada una. La distribución de la aplicación de cada fungicida y el tiempo de aplicación fue al azar como se muestra en la **Tabla 3**. El procedimiento fue realizado de la misma forma en que en el Bioensayo *in vivo*.

Tabla 3. Distribución en campo para la aplicación de fungicidas y formulados de los diferentes entomopatógenos para el bioensayo en campo.

Sección 1			Sección 2			Sección 3		
C1	T-2DD-1	B-MD-1	Q-2DA-2	T-2DD-2	B-2DA-2	T-2DD-3	Q-2DA-3	B-2DA-3
TC-MD-1	B-2DA-1	Q-2DA-1	TC-2DA-2	B-2DD-2	Q-MD-2	TC-2DA-3	C3	T-2DA-3
B-2DD-1	Q-MD-1	TC-2DA-1	B-MD-2	C2	T-MD-2	Q-MD-3	TC-MD-3	B-MD-3
T-2DA-1	TC-2DD-1	T-MD-1	Q-2DD-2	TC-2DA-2	T-2DA-2	T-MD	B-2DD-3	Q-2DD-3
		Q-2DD-1			TC-2DD-2			TC-2DD-3

C = Control

Q = Quadris

2DA = 2 Días Antes

T = Tilt

TC = Top Cop

MD = Mismo Día

B = Bravo

2DD = 2 Días Despues

Una vez dividido el campo en secciones fueron identificadas cada una con banderas de diferentes colores para una fácil identificación visual. Siempre se tuvo mucho cuidado, para evitar contaminación entre cada uno de los fungicidas.

Cada uno de los fungicidas fueron vaciados en un tanque pequeño para posteriormente rociarlos en la parcela en su sección correspondiente, denominándose a este grupo **Dos días Antes de la aplicación del entomopatógeno (2DA)**.

Dos días después se rociaron, el segundo grupo denominado **Mismo día de la aplicación del entomopatógeno (MD)** se roció con los fungicidas en las áreas designadas y delimitadas por banderas de colores dentro del mismo campo. Asimismo se rociaron los tres grupos de cada área y cada una de las secciones con cada uno de los formulados de cada entomopatógeno.

Dos días después de lo anterior, se roció con los fungicidas al tercer grupo denominándose a este **2 Días Después de la aplicación del entomopatógeno (2DA)** . Se repitió el experimento por cinco semanas tomándose una muestra cada semana y se cuantificó el Porcentaje de infección.

El Porcentaje de infección se determina mediante el conteo de pupas infectadas por el hongo de un total de muestras.

Los resultados se procesaron estadísticamente, mediante un análisis de varianza, se utilizó el Estudio de Bartlett para Homogeneidad de grupos de Varianzas.

6.9.1 Cálculos para determinación de galones utilizados en el rociado

Cálculos para tratamientos en campo:

$$(N)(D) = \text{fila pies/tratamiento}$$

N = No. de filas en los bloques

D = Distancia entre cada fila = pies

$$\text{área de fila} = \frac{\text{Area total de tratamiento}}{\text{Ancho de la fila}}$$

1 acre = 43,560 pies²

Area de tratamiento:

$$\frac{\text{fila pies/tratamiento}}{\text{fila pies/acre}}$$

$$(\text{No. de esparadores})(\text{velocidad}) = \text{velocidad}$$

Tiempo necesario para cubrir un acre:

$$\text{Tiempo} = \frac{\text{área de filas}}{\text{velocidad}}$$

La media de rocío tomando en cuenta la presión de **100 psi** en cada boquilla del rociador hidráulico es de **370 ml / min/ boquilla.**

Número de boquillas totales:

$$\text{No. de boquillas} = (\text{Num. de espreadores})(\text{No. de boquillas})$$

Volumen utilizado para cada tratamiento:

$$\text{Volumen Total} = (\text{media de rocío}) (\text{No. de boquillas})(\text{tiempo})$$

7. Resultados

7.1. Conteo de Esporas en el Microscopio:

Se obtuvieron resultado positivos en cuanto a la viabilidad y conteo de conidias y blastosporas de cada formulado.

Los conteos obtenidos de blastosporas en “medio Mark Jackson y Catalina” producidos en México fueron bajos en comparación con los de E.U.A., esto se podría deber a su formulación y medio de producción. Por lo que se decidió aumentar la concentración en los bioensayos como se mostró en la Tabla 2.

7.2. Conteo de Esporas en el Contador Electrónico

Estos resultados (Tabla 3) se usaron como medio de confirmación de los conteos manuales obtenidos con el método anterior.

7.3. Bioensayo *in vitro*

7.3.1. Obtención del Porcentaje de Germinación de Conidias y Blastoesporas

Se obtuvieron bajos porcentajes de viabilidad (Tabla 4) en los primeros formulados de blastosporas de Monterrey (medio Mark Jackson y Catalina) y según investigaciones presentadas por Ramos *et al.* en el 2000 se utilizaron 10^8 esporas del formulado de *P. fumosoroseus* para infectar al insecto, además se observaron hifas al microscopio del polvo del formulado por lo que el producto quizá tuvo un secado incompleto antes del envasado, y germinó. Los siguientes porcentajes analizados fueron aceptables, aún así se incremento la concentración de blastosporas en comparación con las conidias del formulado de *Beauveria bassiana* y blastoesporas del formulado de *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en E.U.A.

Tabla 4. Porcentaje de Germinación y Conteo de esporas de cada uno de los productos utilizados durante los diferentes bioensayos.

Entomopatógenos	%Germinación	Dosis	Conteo de esporas (sp/mm ²)
<i>Beauveria bassiana</i> Mycotech, E.U.A.	94%	Alta	691
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Mycotech, E.U.A.	75.5%	Alta	565
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> “MJ”, E.U.A.	99%	Alta	936
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> “MJ”, México	80.5%	Alta	173.3
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> “MC”, México	80.5%	Alta	173.3

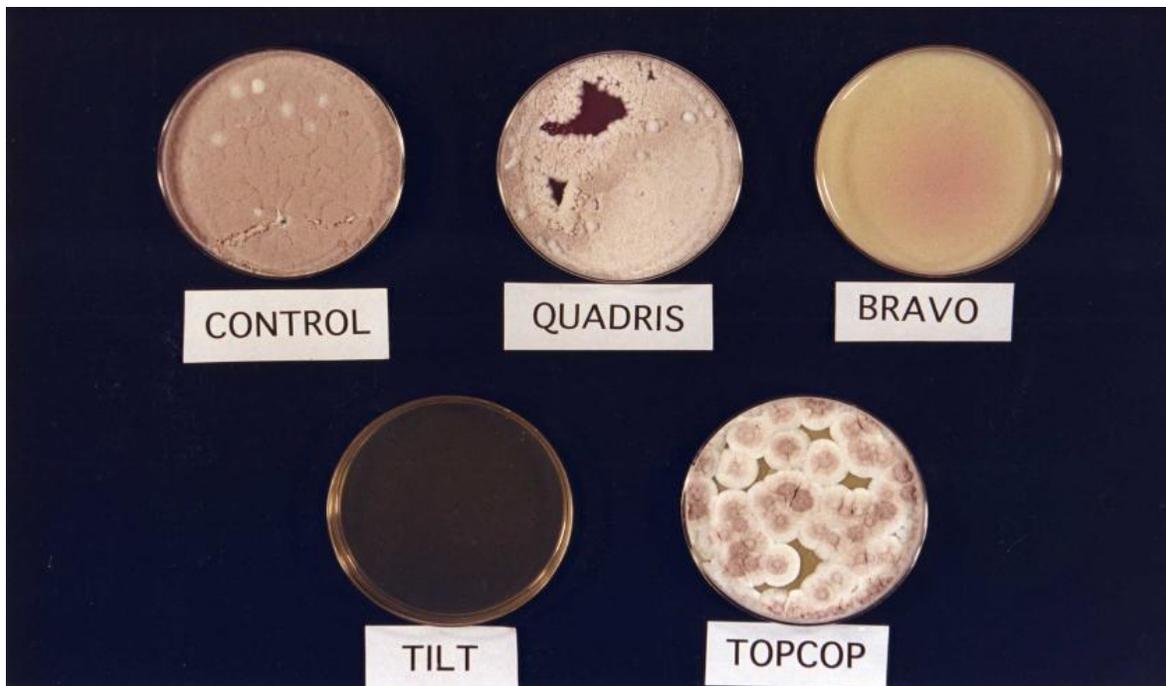
Después de un periodo de incubación de 8-d el crecimiento de conidias del formulado entomopatógeno de *P. fumosoroseus* los tratamientos fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R y Bravo^R el que causo una inhibición total del crecimiento de hongo. En tanto en cajas con Quadris^R la inhibición fue mínima. Top Cop^R no causo inhibición colonial.

Las blastoesporas del formulado de *P. fumosoroseus* (Mycotech) fueron en los tratamientos significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R y Bravo^R los que causaron una inhibición total del crecimiento de hongo. En tanto en cajas con Quadris^R la inhibición fue mínima. Top Cop^R no causo inhibición colonial.

Las blastoesporas del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* (México) “MC” fueron los tratamientos significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R y Bravo^R el que causo una inhibición total del crecimiento de hongo. En tanto en cajas con Quadris^R la

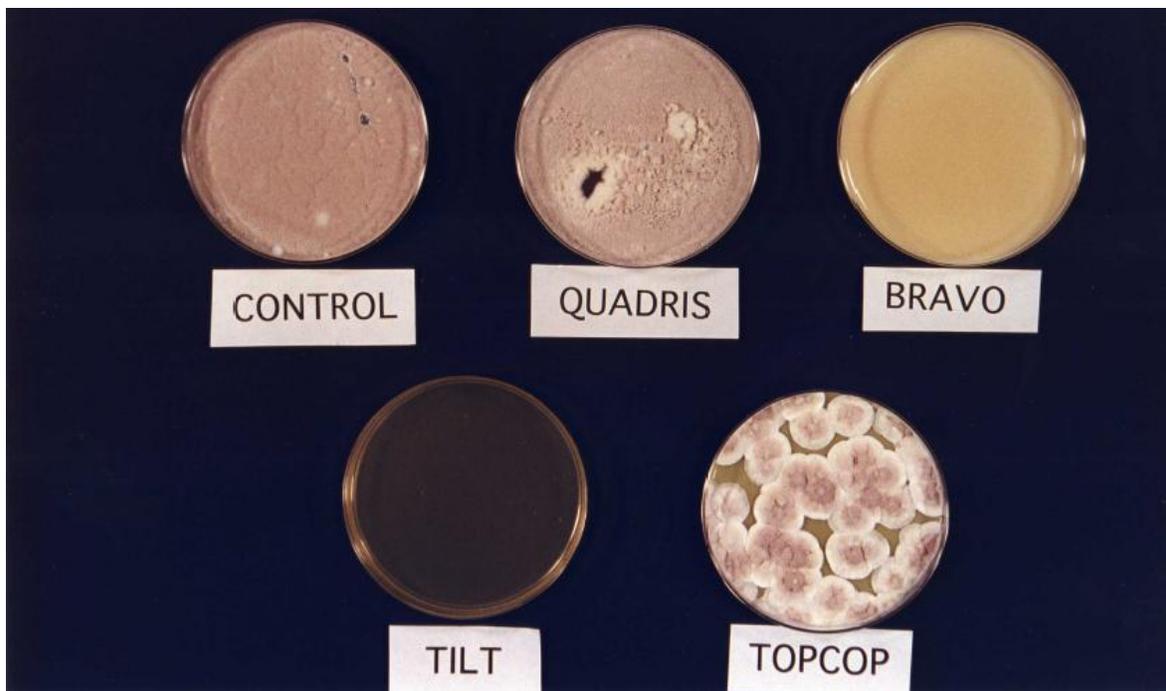
inhibición fue mínima. Top Cop^R no causo inhibición colonial, como se muestra en la Fotografía 1.

Fotografía 1. Resultados del estudio de germinación del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MC”, México en presencia de cuatro fungicidas comerciales.



Las blastoesporas del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* “MJ”, México fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R y Bravo^R los que causo una inhibición total del crecimiento de hongo. En tanto en cajas con Quadris^R y Top Cop^R la inhibición fue moderada. Como se muestra en la fotografía 2.

Fotografía 2. Resultados del estudio de germinación del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MJ”, México en presencia de cuatro fungicidas comerciales.



7.3.2. Crecimiento Radial

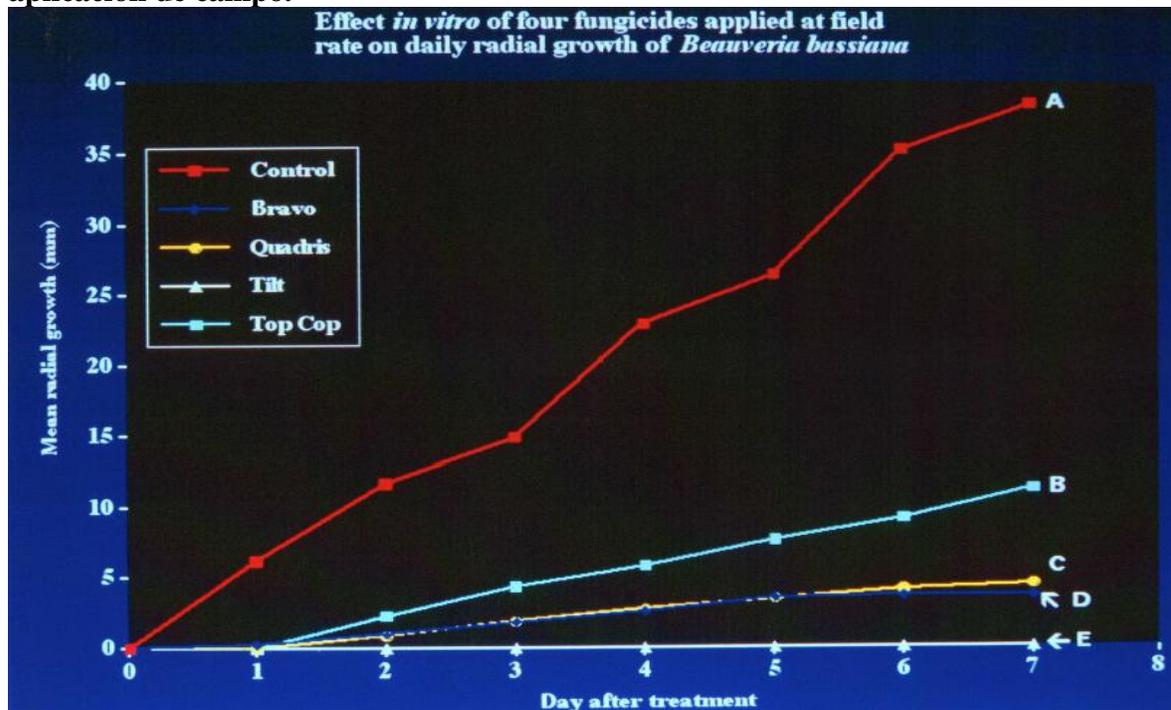
En la Tabla 5 se compara el crecimiento radial del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* en mm en presencia de cada fungicida, después de un periodo de incubación de 8-d el crecimiento radial en los tratamientos fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R el que causó una severa micoestasis y una micotoxicidad moderada. Bravo^R y Quadris^R solo causaron una micoestasis moderada. Top Cop^R solo causó una micoestasis ligera. Siempre se utilizó el mismo parámetro de medición.

Tabla 5. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 replicaciones del formulado entomopatígeno *Beauveria bassiana* en presencia de los fungicidas comerciales y un Control a diferentes tiempos.

Fungicida	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Tilt	0	0	0	0	0	0	0
Bravo	0.245	0.965	1.84	2.74	3.36	3.48	4.69
Quadris	0.875	1.89	2.72	3.35	3.45	4.09	4.45
Top Cop	0	2.29	2.88	3.24	3.77	4.12	4.34
Control	6.21	11.62	13.92	17.15	18.54	22.32	23.40

Crecimiento en mm.

Gráfica 1. Efecto *in vitro* del crecimiento radial del formulado entomopatígeno *Beauveria bassiana* en presencia de cuatro fungicidas comerciales en dosis de aplicación de campo.



En la Tabla 6 se compara el crecimiento radial en mm del formulado entomopatígeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido por la empresa Mycotech© en presencia de cada fungicida. Siempre se utilizó el mismo parámetro de medición. Después de un periodo de incubación de 8-d el crecimiento radial, los tratamientos fueron

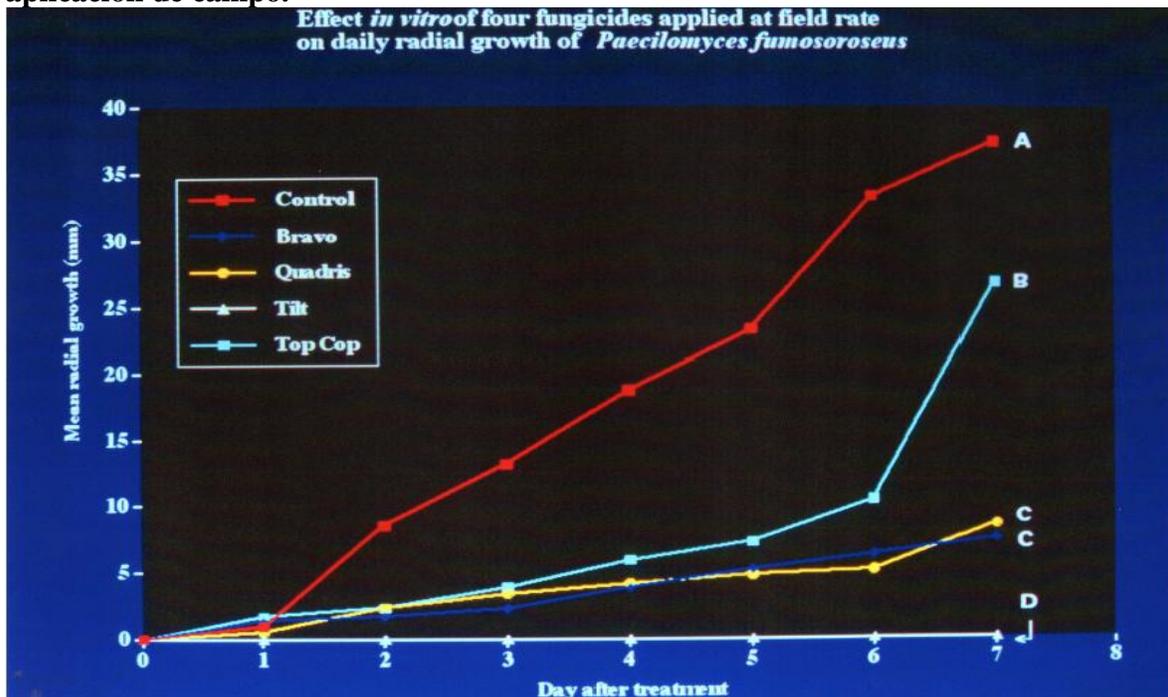
significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R y Bravo^R causaron una severa micoestasis y una micotoxicidad moderada. Quadris^R solo causaron una micoestasis moderada. Top Cop^R solo causo una micoestasis ligera.

Tabla 6. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 replicaciones del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Mycotech) en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos.

Fungicida	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Tilt	0	0	0	0	0	0	0
Bravo	0.97	1.22	1.63	2.72	3.69	4.44	5.29
Quadris	0.52	1.67	3.11	3.78	4.34	5.17	8.58
Top Cop	1.7	2.37	3.92	5.97	7.32	10.45	26.79
Control	0.99	8.58	13.19	18.77	23.30	33.26	37.38

Crecimiento en mm.

Gráfica 2. Efecto *in vitro* del crecimiento radial del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en presencia de cuatro fungicidas comerciales en dosis de aplicación de campo.



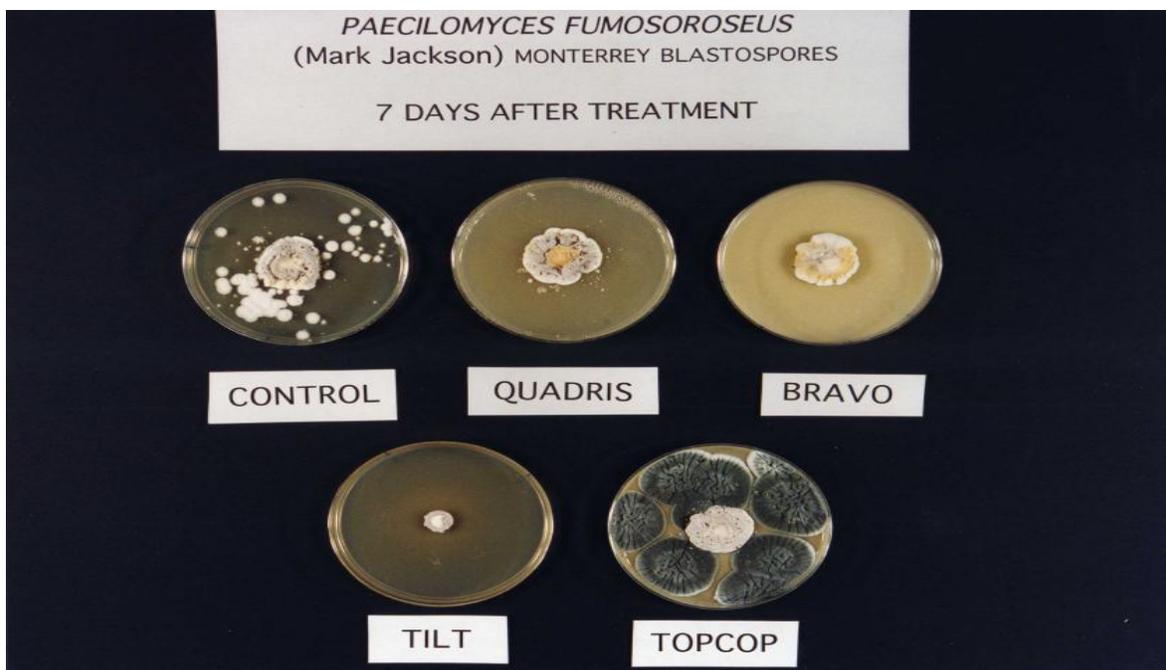
En la Tabla 7 se compara el crecimiento radial en *mm* del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido “MJ”, México producido por la empresa Mycotech© en presencia de cada fungicida, exponiéndose desde 24h hasta 168h en condiciones adecuadas. Siempre se utilizó el mismo parámetro de medición. Tilt^R produjo una micoestasis severa ya que inhibió el crecimiento del hongo.

Tabla 7. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 replicaciones del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MJ”, México en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos.

Fungicida	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Tilt	0.68	0.66	0.89	0.82	0.75	0.75	0.75
Bravo	1.12	2.26	4.25	5.40	6.68	7.84	7.84
Quadris	0.94	2.44	3.26	4.56	5.81	6.51	6.51
Top Cop	1.49	3.62	4.38	5.80	7.60	8.3	8.3
Control	1.45	3.34	3.87	6.26	7.68	8.61	9.21

Crecimiento en mm.

Fotografía 3. Resultado del crecimiento radial del formulado entomopatogeno *Paecilomyces fumosoroseus* en presencia de cuatro fungicidas comerciales en dosis de aplicación de campo.



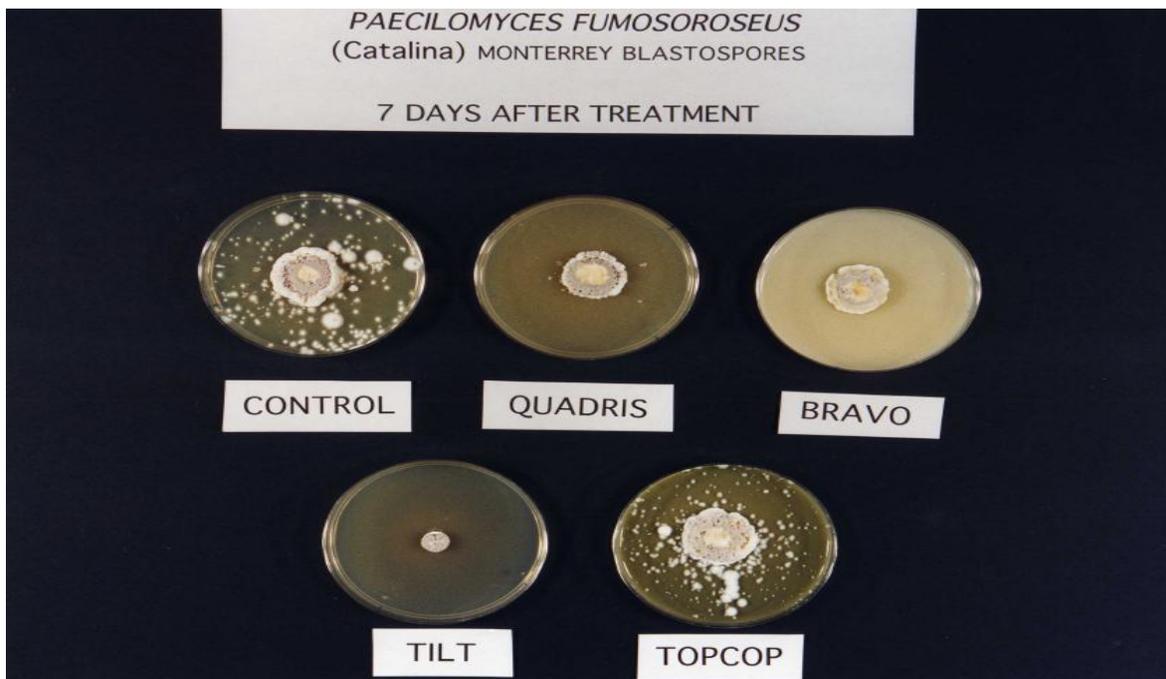
En la Tabla 8 se compara el crecimiento radial en mm del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidos en México en medio Catalina producido por la empresa Mycotech© en presencia de cada fungicida, Después de un periodo de incubación de 8-d de crecimiento radial los tratamientos fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R, Bravo^R y Quadris^R causaron una severa micoestasis y una micotoxidad moderada. Top Cop^R solo causó una micoestasis moderada. Siempre se utilizó el mismo parámetro de medición. En la fotografía 4 se muestra el crecimiento radial del hongo en presencia de los cuatro fungicidas comerciales.

Tabla 8. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 replicaciones del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MC”, México en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos.

Fungicida	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Tilt	0.65	0.67	0.83	0.79	0.75	0.83	0.83
Bravo	1.4	3.02	4.53	6.64	7.42	7.51	7.51
Quadris	1.59	2.9	4.10	5.24	7.25	7.48	7.48
Top Cop	2.75	3.13	5.12	6.24	8.22	8.89	8.89
Control	1.29	3.47	4.74	6.16	7.92	10.52	10.52

Crecimiento en mm.

Fotografía 4. Resultado del crecimiento radial del formulado entomopatogeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MC”, México en presencia de cuatro fungicidas comerciales en dosis de aplicación de campo.



En la Tabla 9 se compara el crecimiento radial en *mm* del formulado del entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidos en E.U.A en medio Mark Jackson producido por la empresa en presencia de cada fungicida, después de un periodo de incubación de 8-d de crecimiento radial, los tratamientos fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$). Todos los fungicidas afectaron al desarrollo del hongo. Sin embargo fue Tilt^R causó una severa micoestasis y una micotoxicidad severa. Top Cop^R, Bravo^R y Quadris^R solo causó una moderada micoestasis. Siempre se utilizó el mismo parámetro de medición.

Tabla 9. Crecimiento Radial promedio en mm de 5 replicaciones del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (E.U.A.) (medio Mark Jackson) en presencia de los fungicidas Tilt®, Bravo®, Quadris®, Top Cop®, y el Control a diferentes tiempos.

Bioinsecticida	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Tilt	0.02	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Bravo	0.38	0.97	2.66	4.09	6.56	11.88	11.88
Quadris	0.1	0.81	1.65	2.38	3.52	4.44	5.91
Top Cop	0.75	1.54	3.21	5.15	6.27	7.43	8.2
Control	0.99	2.14	3.48	5.14	6.4	7.56	9.11*

Crecimiento en mm.

* Producción de micelio.

7.3.3. Bioensayo de Mezcla en Matraz

En la Tabla 10 se muestra la medición del crecimiento total de conidias del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* al ser asperjado en una caja petri con agar mezclado con cada uno de los fungicidas después de cada hora de agitación. Las condiciones de incubación y los parámetros de medición siempre fueron los mismos.

Tabla 10. Crecimiento de Conidias del formulado entomopatígeno *Beauveria bassiana* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tratamiento	Crecimiento Obtenido a Diferentes Horas de Contacto			
	1h	2h	3h	4h
Control 1	++++	+++ (+)	+++ (+)	+++
Control 2	++++	+++ (+)	+++ (+)	+++
Quadris 1	----	----	----	----
Quadris 2	----	----	----	----
Tilt 1	(+)	(+)	(+)	(+)
Tilt 2	(+)	(+)	(+)	(+)
Bravo 1	----	----	----	----
Bravo 2	----	----	----	----
Top Cop 1	++	+++	++++	++++
Top Cop 2	++	+++	++++	++++

++++ = Crecimiento Total +++ = Crecimiento casi total ++ = Crecimiento moderado
 + = Crecimiento casi nulo --- = Sin crecimiento

En la tabla 11 se muestra la medición del crecimiento total de blastosporas del formulado entomopatígeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido por la empresa Mycotech© al ser asperjado en una caja petri con agar mezclado con cada uno de los fungicidas despues de cada hora de agitación. Las condiciones de incubación y los parámetros de medición siempre fueron los mismos.

Tabla 11. Crecimiento de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tratamiento	Crecimiento Obtenido a Diferentes Horas de Contacto			
	1h	2h	3h	4h
Control 1	++++	++++	++++	++++
Control 2	++++	++++	++++	++++
Quadris 1	+++ (+)	++++	++++	++++
Quadris 2	++++	++++	+++	+++
Tilt 1	+++	+++	+++	+++
Tilt 2	+++	+++	+++	+++
Bravo 1	+	----	----	----
Bravo 2	+	----	----	----
Top Cop 1	----	----	----	----
Top Cop 2	----	----	----	----

++++ = Crecimiento Total +++ = Crecimiento casi total ++ = Crecimiento moderado
 + = Crecimiento casi nulo --- = Sin crecimiento

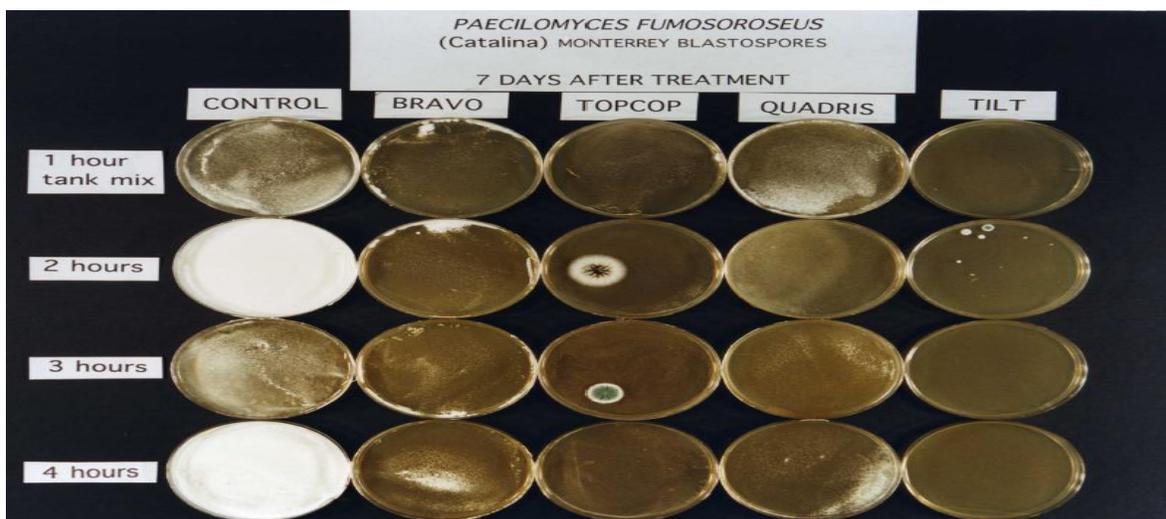
En la tabla 12 se muestra la medición del crecimiento total de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido en México en medio “Catalina” al ser asperjado en una caja petri con agar mezclado con cada uno de los fungicidas después de cada hora de agitación. Las condiciones de incubación y los parámetros de medición siempre fueron los mismos. Así mismo en la Fotografía 5 se muestra el crecimiento del hongo con respecto al tiempo de agitación y en presencia de cada fungicida.

Tabla 12. Crecimiento de blastosporas del formulado del entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MC”, México al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tratamiento	Crecimiento Obtenido a Diferentes Horas de Contacto			
	1h	2h	3h	4h
Control 1	+++	++++	+++	++++
Control 2	+++	+++	+++	++(+)
Quadris 1	+	++	+	++
Quadris 2	+++	+	++	++
Tilt 1	----	----	----	----
Tilt 2	----	----	----	----
Bravo 1	+(+)	+(+)	++	++
Bravo 2	+	++	++	++
Top Cop 1	----	----	----	----
Top Cop 2	----	----	----	----

++++ = Crecimiento Total +++ = Crecimiento casi total ++ = Crecimiento moderado
 + = Crecimiento casi nulo --- = Sin crecimiento

Fotografía 5. Resultados en cajas petri del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MC”, México al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.



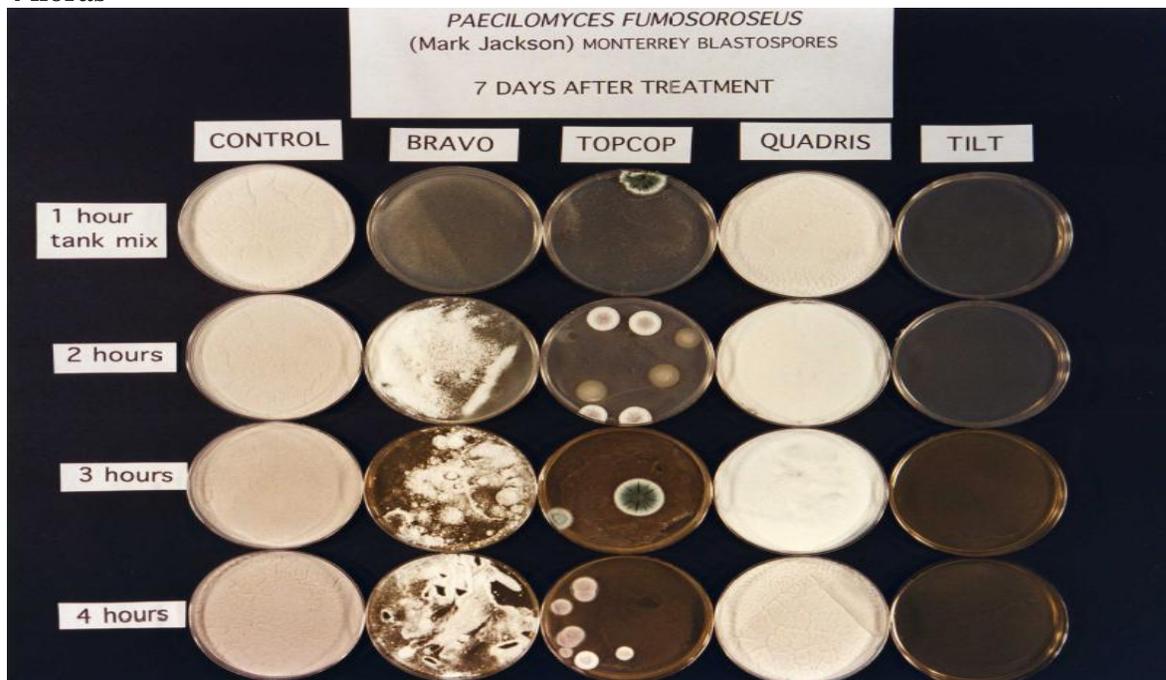
En la Tabla 13 se muestra la medición del crecimiento total de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido en México en medio “Mark Jackson” al ser asperjado en una caja petri con agar mezclado con cada uno de los fungicidas después de cada hora de agitación. Las condiciones de incubación y los parámetros de medición siempre fueron los mismos. Así mismo en la Fotografía 6 se muestra el crecimiento del hongo con respecto al tiempo de agitación y en presencia de cada fungicida.

Tabla 13. Crecimiento de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MJ”, México al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tratamiento	Crecimiento Obtenido a Diferentes Horas de Contacto			
	1h	2h	3h	4h
Control 1	++++*	++++*	++++*	++++*
Control 2	++++	++++	++++	++++
Quadris 1	++++	++++	++++	++++*
Quadris 2	+++	++++	++++	++++*
Tilt 1	----	----	----	----
Tilt 2	----	----	----	----
Bravo 1	(+)	+++	++	+++ (+)
Bravo 2	+	++	++	+++
Top Cop 1	----	----	----	(+)
Top Cop 2	----	(+)	----	(+)

++++ = Crecimiento Total +++ = Crecimiento casi total ++ = Crecimiento moderado
 + = Crecimiento casi nulo --- = Sin crecimiento

Fotografía 6. Resultados en cajas petri del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* “MJ”, México al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas



7.3.3.1. Porcentaje de Germinación en Mezcla en Matraz

El porcentaje de Germinación de conidias del formulado entomopatógeno de *Beauveria bassiana* producido por la empresa Mycotech© mostrado en la Tabla 14 se determinó despues de asperjarse una muestra del bioinsecticida mezclado con cada fungicida sobre un portobjetos con agar SDL, y realizarse una tinción con azul de algodón para su conteo.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de conidias del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Conidias del formulado entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>				
Germinación (%)				
Tratamiento/Tiempo (h)	1	2	3	4
Control	54	100	100	100
Top Cop	5	24.4	18	30
Tilt	24	27.5	35	21.5
Bravo	0	0	0	2
Quadris	0	0.5	9.5	30

El porcentaje de Germinación de blastoesporas del formulado entomopatógeno de *Paecilomyces fumosoroseus* mostrado en la Tabla 15 se determinó despues de asperjarse una muestra del mismo formulado mezclado con cada fungicida sobre un portobjetos con agar SDL, y realizarse una tinción con azul de algodón para su conteo.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Blastosporas del formulado entomopatógeno <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>				
Germinación (%)				
Tratamiento/ Tiempo (h)	1	2	3	4
Control	100	100	98	100
Top Cop	0	5	2.5	0
Tilt	0	0	0	0
Bravo	4	0	0	0
Quadris	25.5	29.5	5.5	0

El porcentaje de Germinación de blastoesporas del formulado entomopatígeno de *Paecilomyces fumosoroseus* producido en México en medio “Catalina”, mostrado en la Tabla 16 se determinó después de asperjarse una muestra del mismo formulado mezclado con cada fungicida sobre un portobjetos con agar SDL, y realizarse una tinción con azul de algodón para su conteo.

Tabla 16. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastoesporas del formulado entomopatígeno *Paecilomyces fumosoroseus* Mty (medio Catalina) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque después de cada hora durante 4 horas.

Blastoesporas del formulado entomopatígeno <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> México (medio Catalina) Germinación (%)				
Tratamiento/ Tiempo (h)	1	2	3	4
Control	56	100	100	100
Top Cop	37	24	28	26
Tilt	24.5	20.5	0	0.5
Bravo	35	50	37.5*	46.5
Quadris	48.5*	49	55.5*	49*

* presencia de micelio

El porcentaje de Germinación de blastoesporas del formulado entomopatígeno *Paecilomyces fumosoroseus* producido en México en medio “Mark Jackson”, mostrado en la Tabla 17 se determinó después de rociarse una muestra del bioinsecticida mezclado con cada fungicida sobre un portobjetos con agar SDL, y realizarse una tinción con azul de algodón para su conteo.

Tabla 17. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (México) (Medio Mark Jackson) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Blastosporas del formulado entomopatógeno <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> E.U.A (Medio Mark Jackson) Germinación (%)				
Tratamiento/ Tiempo (h)	1	2	3	4
Control	100	100	100	100
Top Cop	30.5	16	19	22.5
Tilt	22.5	10	12	21
Bravo	24	26.5	26	27.5
Quadris	51.5	64	50	61

* presencia de micelio

7.4 Bioensayo *In vivo*:

Durante este bioensayo se obtuvieron datos mostrados en la Tabla 18 de 4 repeticiones sobre micotoxicidad y el porcentaje de pupas vacias infectadas por conidias del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* producidas por Mycotech© en pupas del 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*) previamente infectadas con ella cada una de las plantas. En el caso del control fueron un total de 16 repeticiones. En la Grafica 3 se muestra el porcentaje (\pm SEM) del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* aplicado dos dias despues de diferentes fungicidas comerciales al tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).

La viabilidad de las conidias del formulado entomopatógeno *B. bassiana* fue del 93.5 ± 0.5 %, de conidias del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* fue del 93.5 ± 0.5 %, las blastosporas del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* (Mycotech) fue del 95.5 ± 0.5 %, De blastosporas del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* medio "Catalina" producido en México fue del 93.5 ± 0.5 %, de blastosporas del

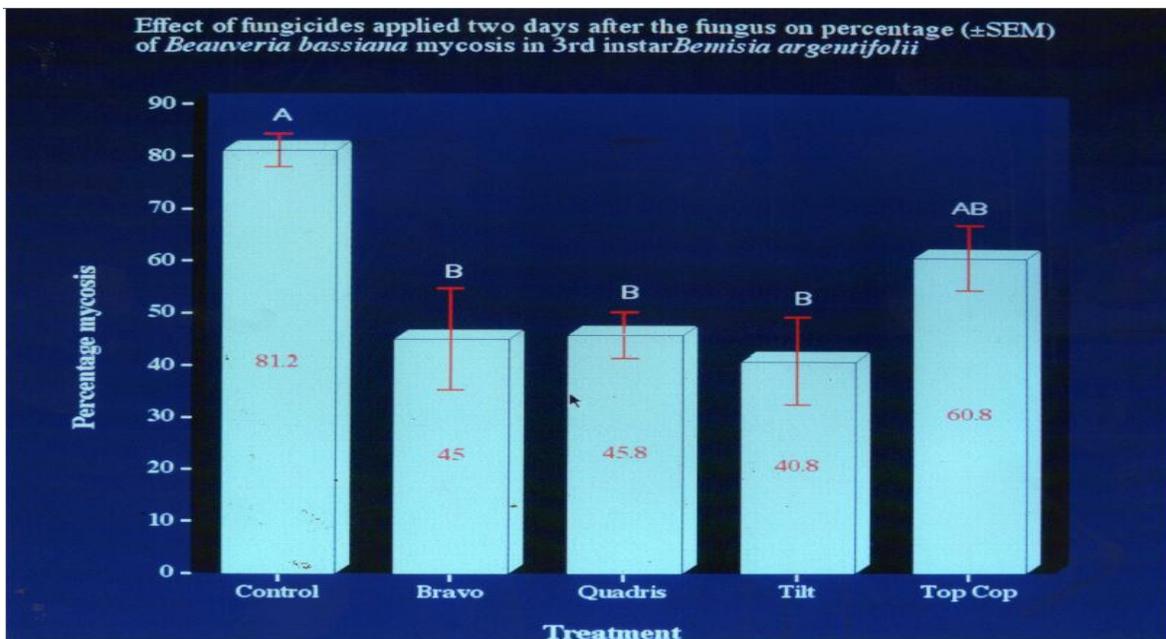
formulado entomopatogeno *P. fumosoroseus* medio “Mark Jackson” producido en México fue del 93.5 ± 0.5 %. Después de ajustar la viabilidad, la significancia \pm SEM dosis aplicada por unidad de área (1mm^2) fue de 474 ± 57 conidias viables.

Tabla 18. Porcentaje de micotoxicidad causado por conidias del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* producidas por Mycotech© en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón(*Cucumis melo*).

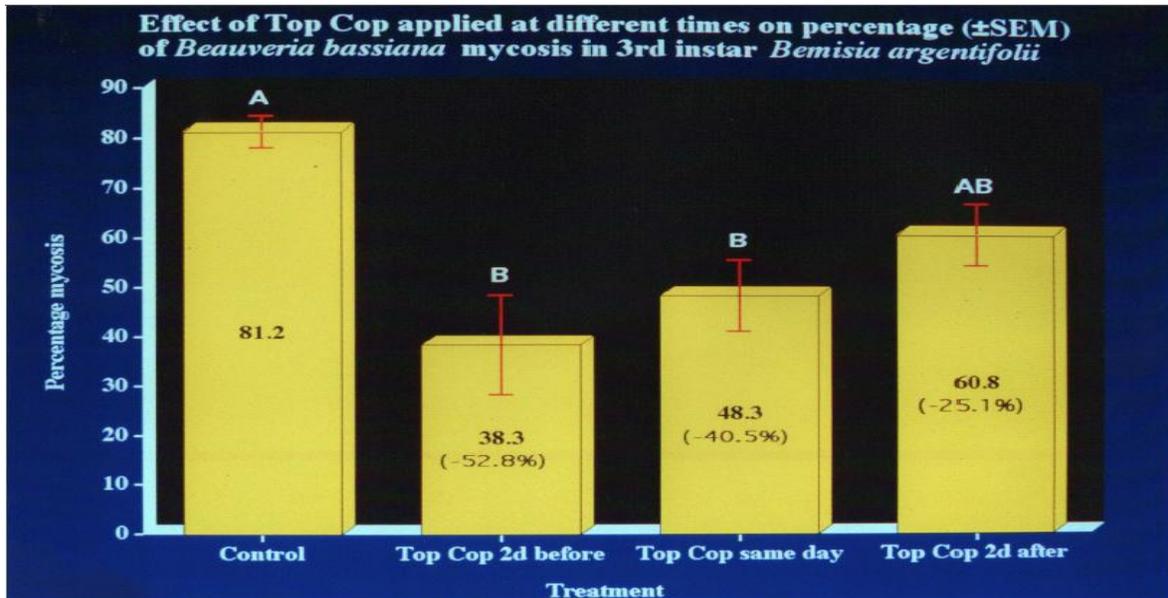
PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	86	8	6	60	16	24	35	33	32	78	14	8	54	18	28
MD	86	8	6	53	15	32	18	66	16	87	9	4	54	18	28
2DD	86	8	6	48	34	18	47	35	18	55	13	32	57	32	11

PR= Periodo de Rociado M = Micosis C = Cascaron pupal NM = No Micosis
 MD = Mismo Dia 2DD = dos días después 2DA = dos días antes

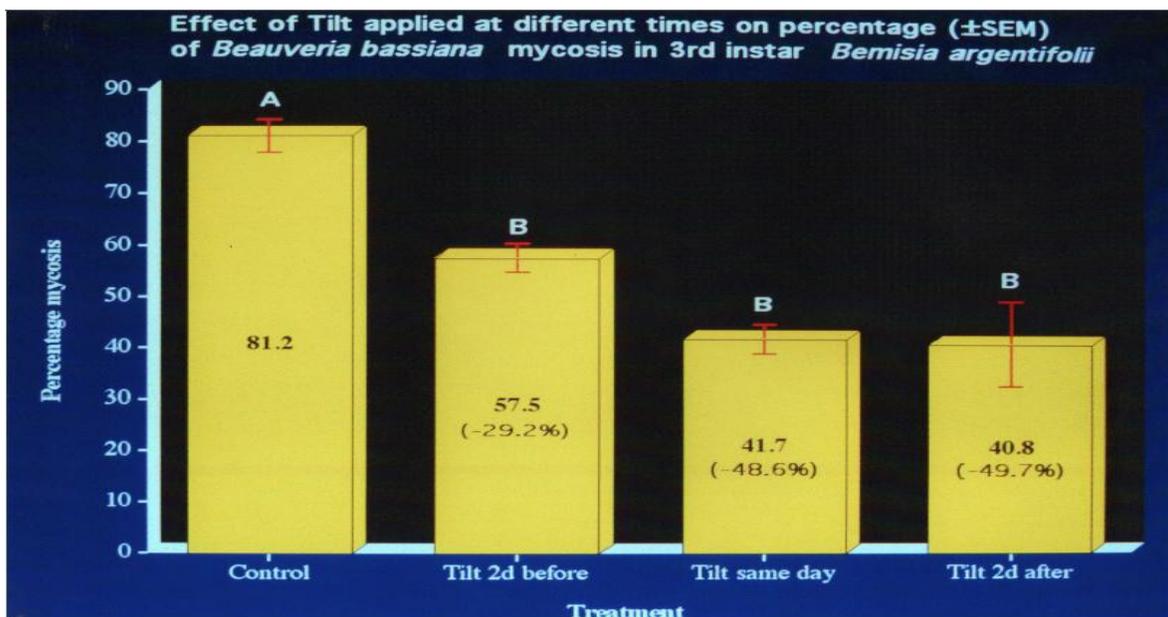
Grafica 3. Efecto de micosis en porcentaje (\pm SEM) del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* aplicado dos dias despues de diferentes fungicidas comerciales al tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



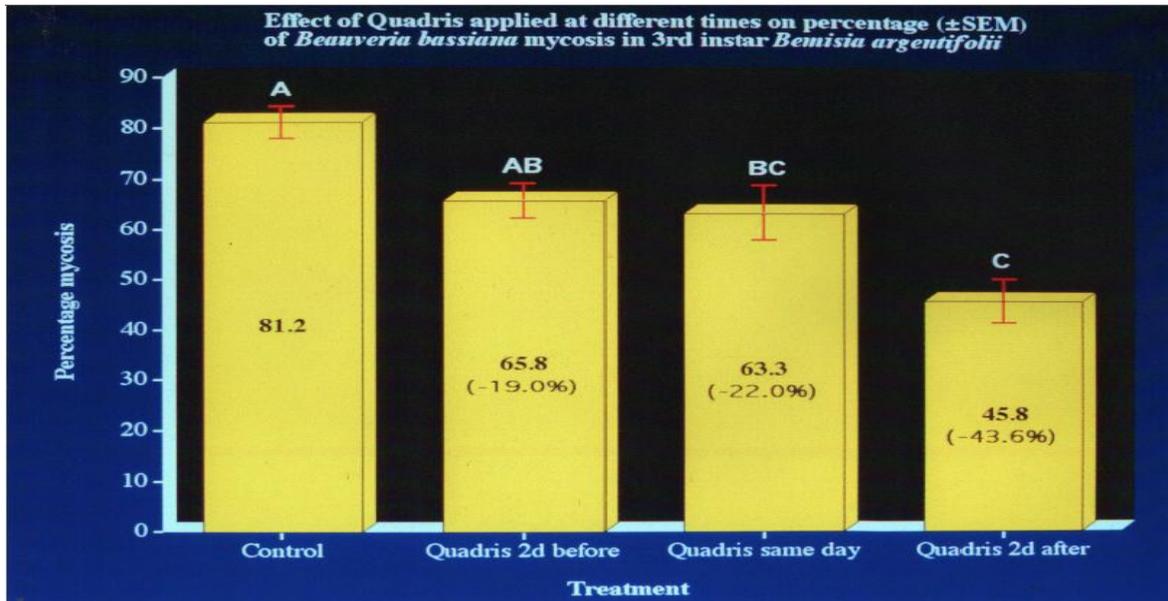
Grafica 4. Efecto de micosis en porcentaje (\pm SEM) del tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) del formulado entomopatogeno *Beauveria bassiana* al aplicar Top Cop^R en diferentes tiempos.



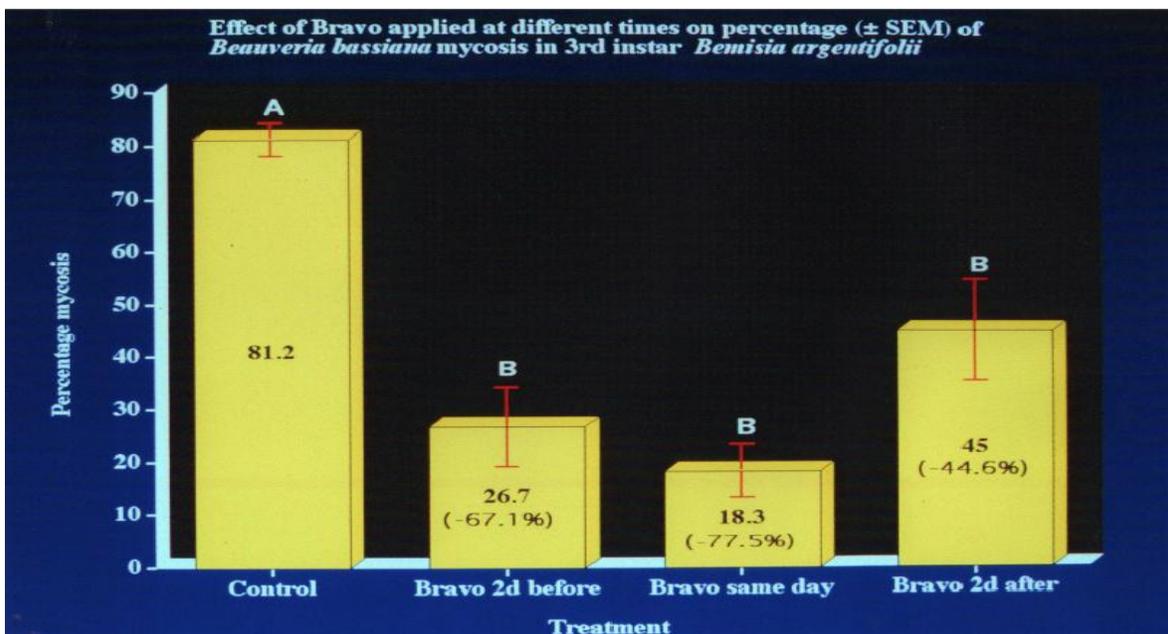
Grafica 5. Efecto de micosis en porcentaje (\pm SEM) en tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) del formulado entomopatogeno *Beauveria bassiana* al aplicar Tilt^R en diferentes tiempos.



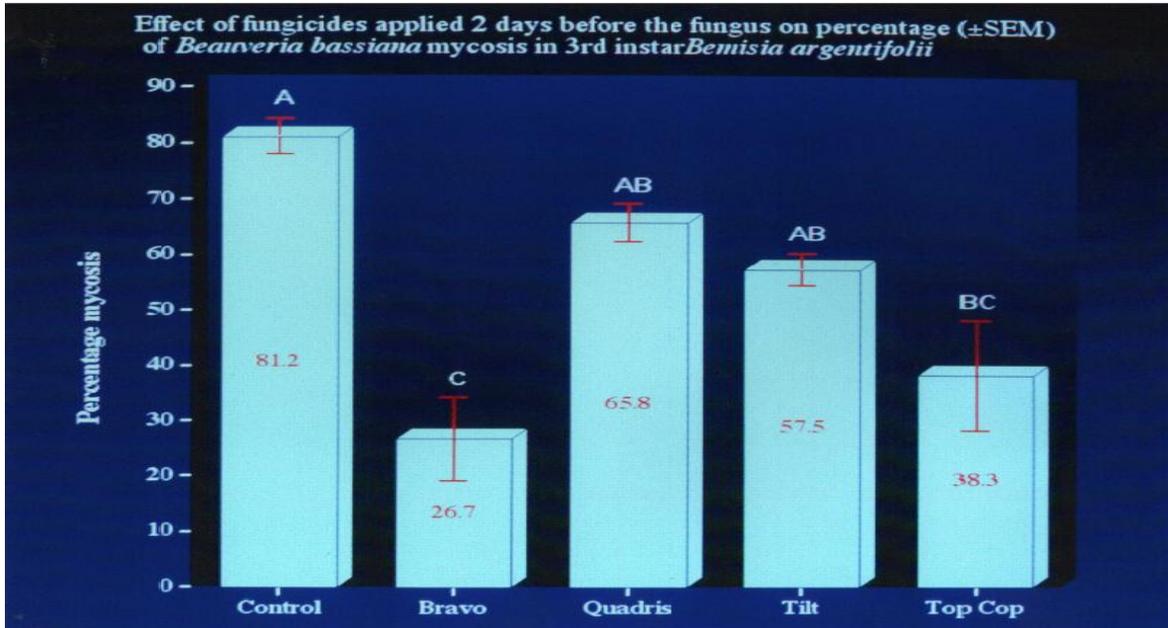
Grafica 6. Efecto de micosis en porcentaje (\pm SEM) en tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) del formulado entomopatogeno *Beauveria bassiana* al aplicar Quadris^R en diferentes tiempos.



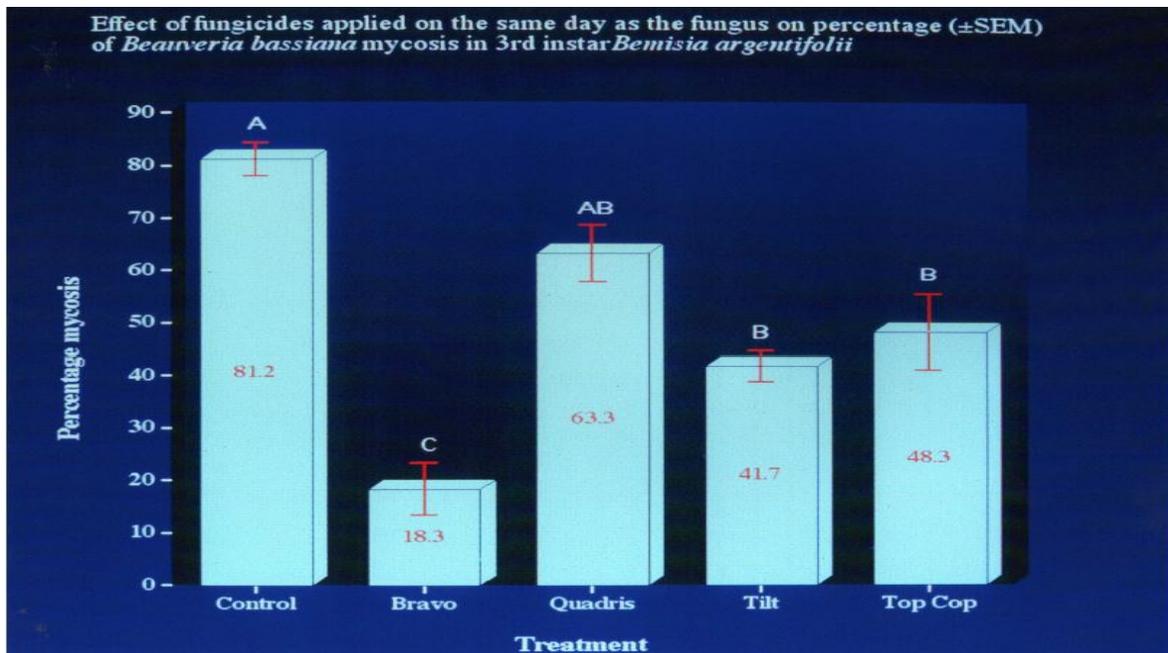
Grafica 7. Efecto de micosis en porcentaje (\pm SEM) en tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) del formulado entomopatogeno *Beauveria bassiana* al aplicar Bravo^R en diferentes tiempos.



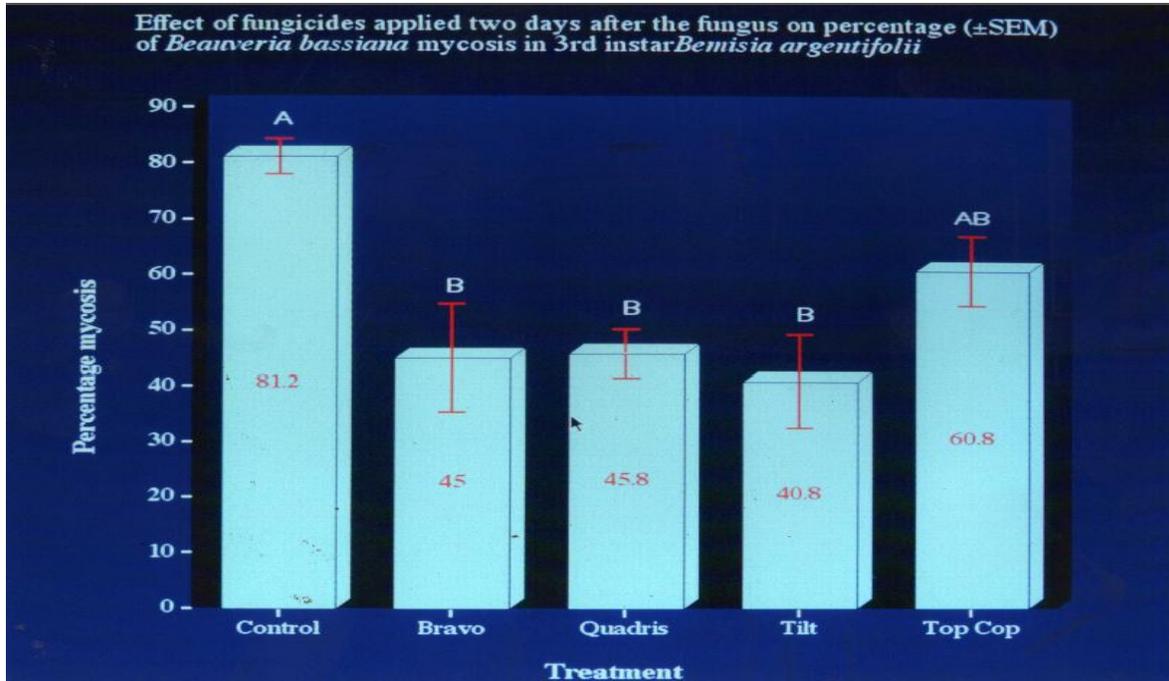
Gráfica 8. Efecto de diferentes fungicidas comerciales aplicados dos días antes del formulado entomopatógeno *Baeuveria bassiana* con respecto al porcentaje (\pm SEM) de micosis del tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



Gráfica 9. Efecto de diferentes fungicidas comerciales aplicados el mismo día del formulado entomopatógeno *Baeuveria bassiana* con respecto al porcentaje (\pm SEM) de micosis del tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



Gráfica 10. Efecto de diferentes fungicidas comerciales aplicados dos días después del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* con respecto al porcentaje (\pm SEM) de micosis del tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



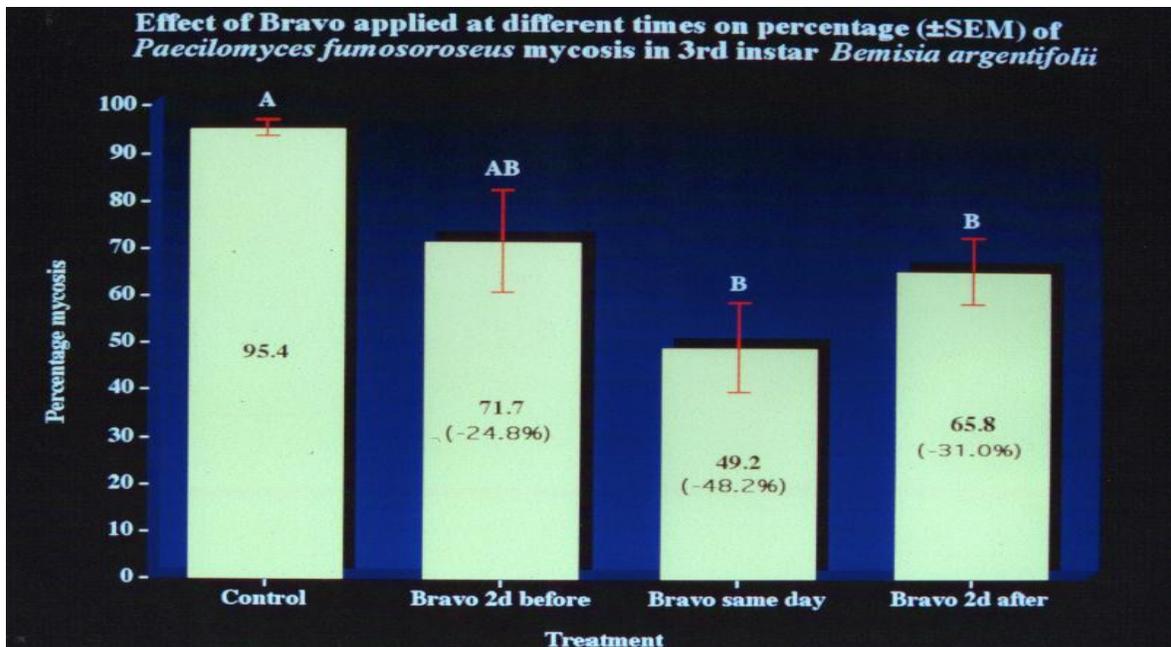
Durante este bioensayo se obtuvieron datos mostrados en la Tabla 19 de 4 repeticiones sobre micotoxicidad y el porcentaje de pupas vacías infectadas por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* en pupas del 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*) previamente infectadas con ella en cada una de las plantas. En el caso del control fueron un total de 16 repeticiones.

Tabla 19. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

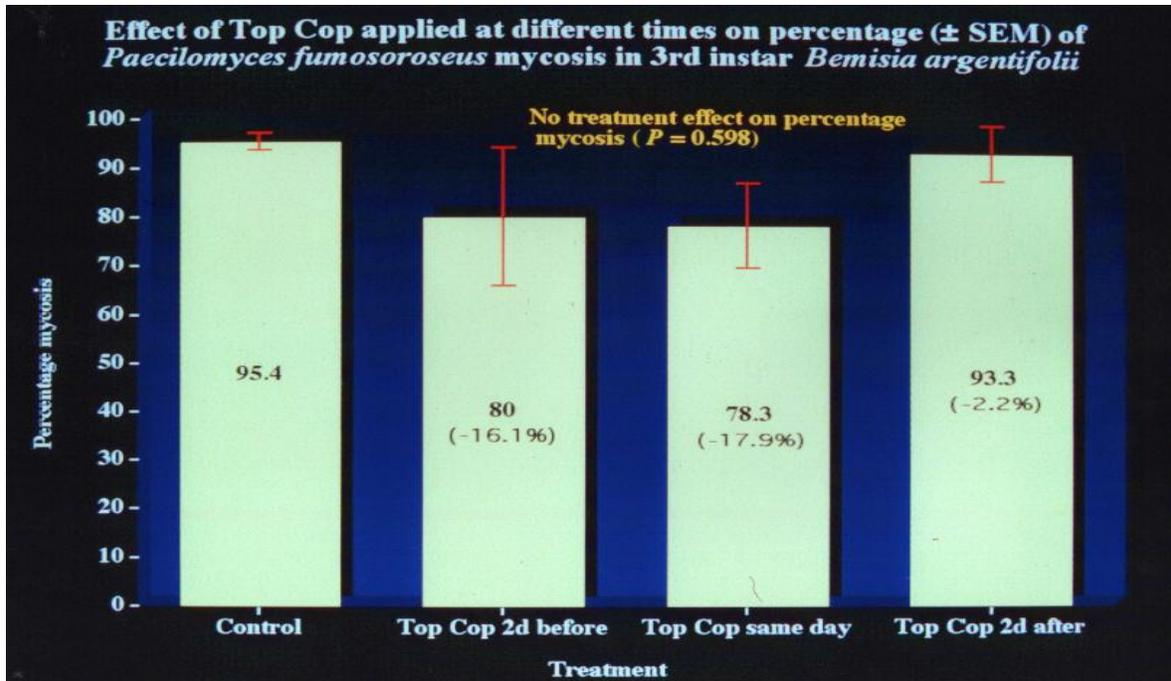
PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	98.3	1.7	0.6	83.3	16.7	4.2	72.5	27.5	1.6	90	11.3	0.83	92.5	7.5	5
MD	98.3	1.7	0.6	75	25	8.3	49.1	50.9	19.2	72	27.9	0.4	85	15	0
2DD	98.3	1.7	0.6	80	20	10.8	73.3	26.7	0	86.7	13.3	3.3	98.3	1.7	0

PR= Periodo de Rociado M = Micosis C = Cascaron pupal NM = No Micosis
 MD = Mismo Dia 2DD = dos días después 2DA = dos dias antes

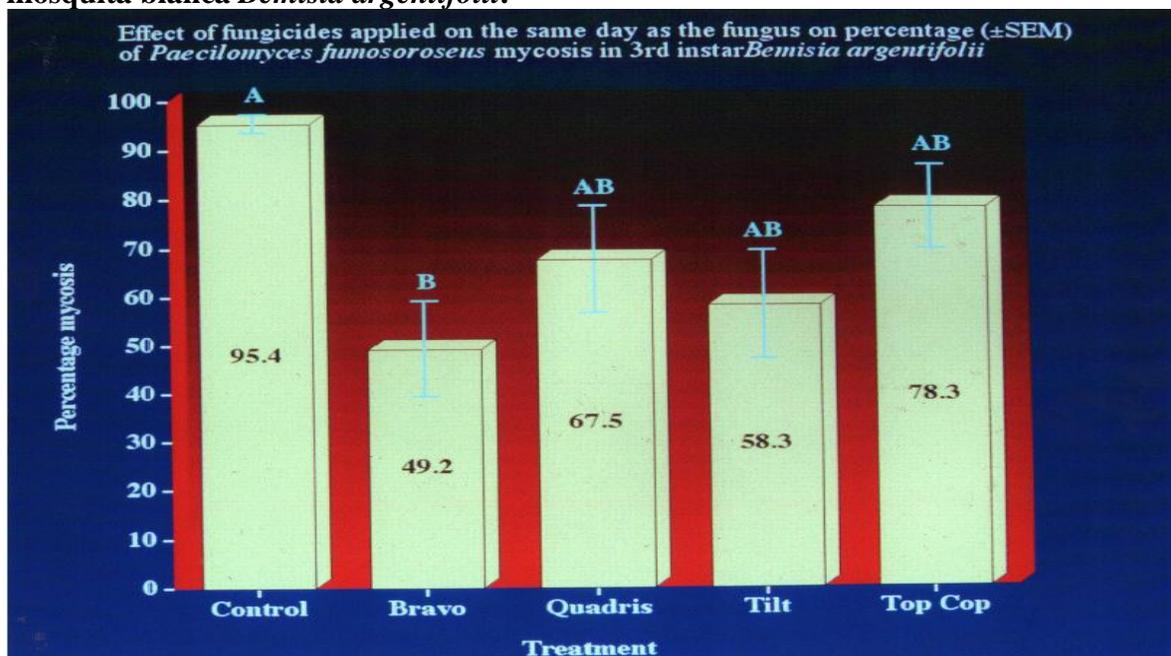
Grafica 11.- Efectos de Bravo^R aplicado a diferentes tiempos en pocentaje (±SEM) del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* causando micosis en el tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



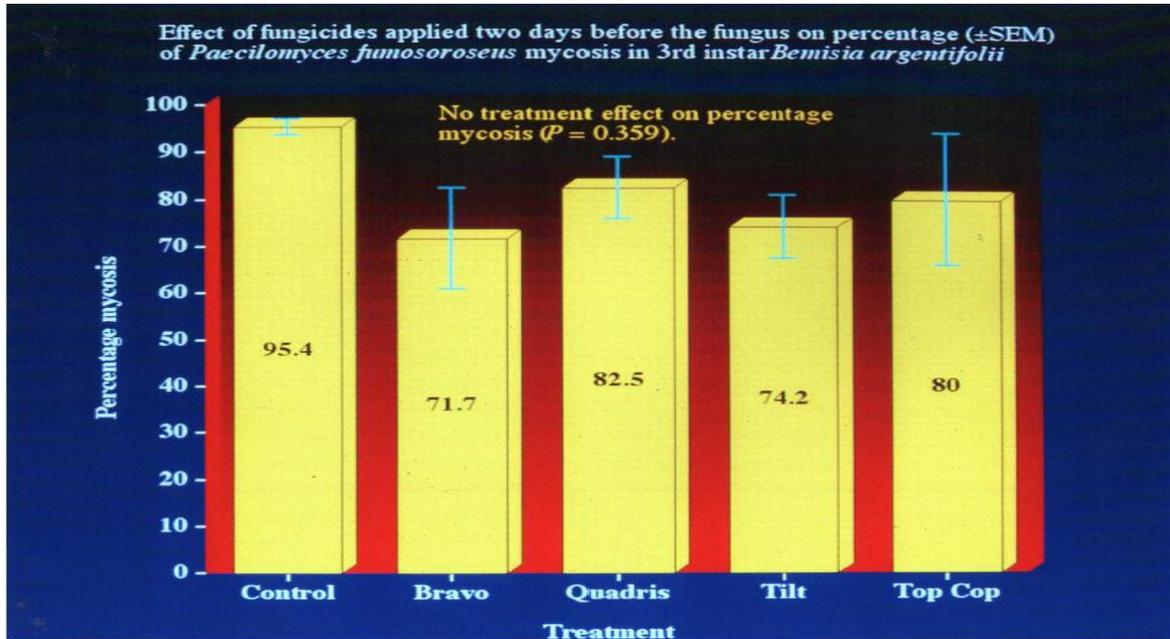
Grafica 12. Efectos de Top Cop^R aplicado a diferentes tiempos en porcentaje (\pm SEM) del formulado entomopatogeno *Paecilomyces fumosoroseus* causando micosis en el tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).



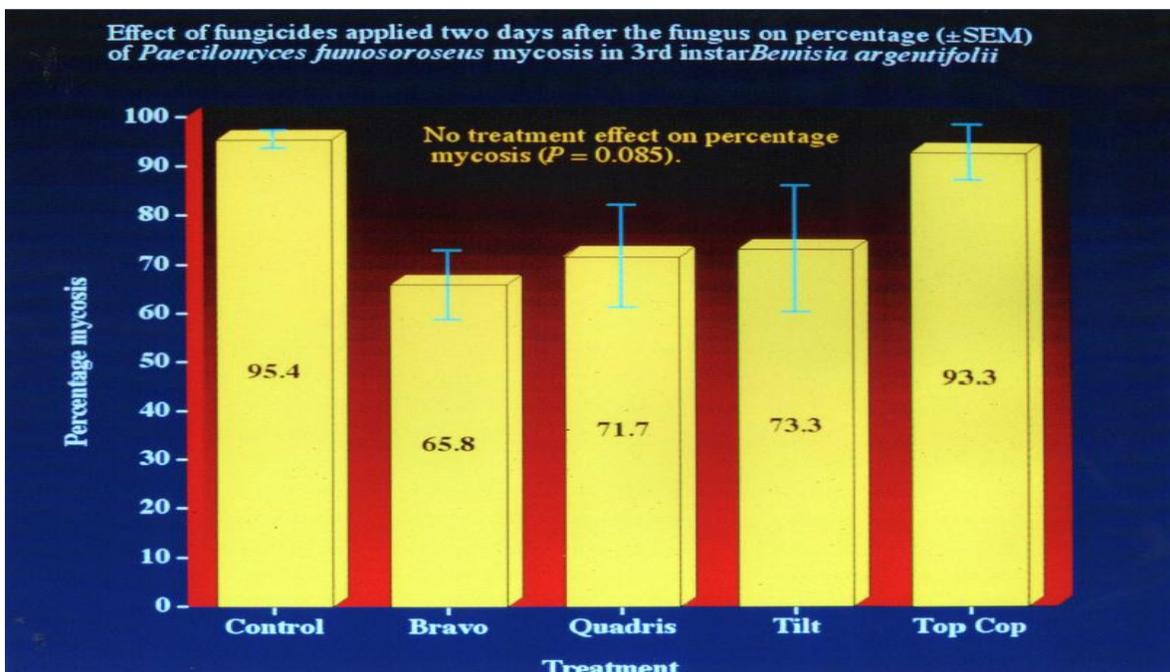
Gráfica 13. Efecto de cuatro fungicidas comerciales aplicados el mismo día que el formulado entomopatogeno *Paecilomyces fumosoroseus* en el tercer estadio de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii*.



Gráfica 14. Efecto de cuatro fungicidas comerciales aplicados dos días antes que el formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en el tercer estadio de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii*.



Gráfica 15. Efecto de cuatro fungicidas comerciales aplicados dos días después que el formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en el tercer estadio de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii*.



Durante este bioensayo se obtuvieron datos mostrados en la Tabla 20 de 4 repeticiones sobre micosidad y el porcentaje de pupas vacías infectadas por blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en E.U.A. en medio “Mark Jackson” en pupas del 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*) previamente infectadas con ella en cada una de las plantas. En el caso del control fueron un total de 16 repeticiones.

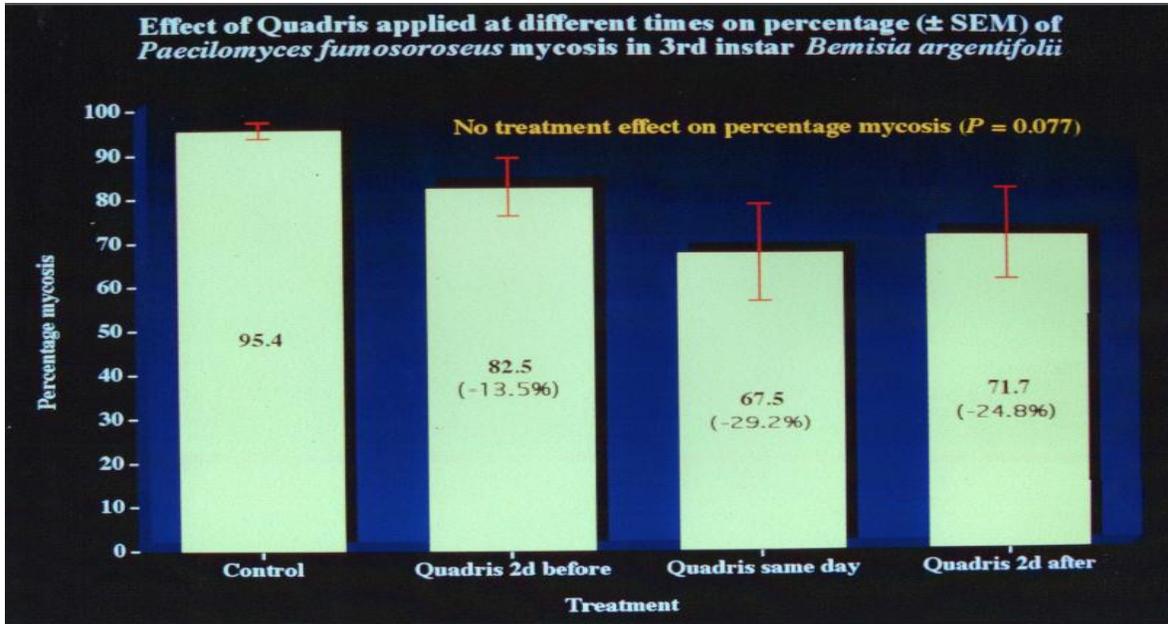
Tabla 20. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en E.U.A. en medio “Mark Jackson” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	81.4	18.5	0.1	91	9	0	53.2	46.7	0.1	79.1	20.8	0.1	85.5	14.5	0
MD	81.4	18.5	0.1	77.5	22.5	0	82.3	17.7	0	77.8	22.2	0	68.5	31.1	0.4
2DD	81.4	18.5	0.1	91.7	8.2	0.1	77.4	22.5	0.1	93	6.95	0.05	85.8	14.1	0.1

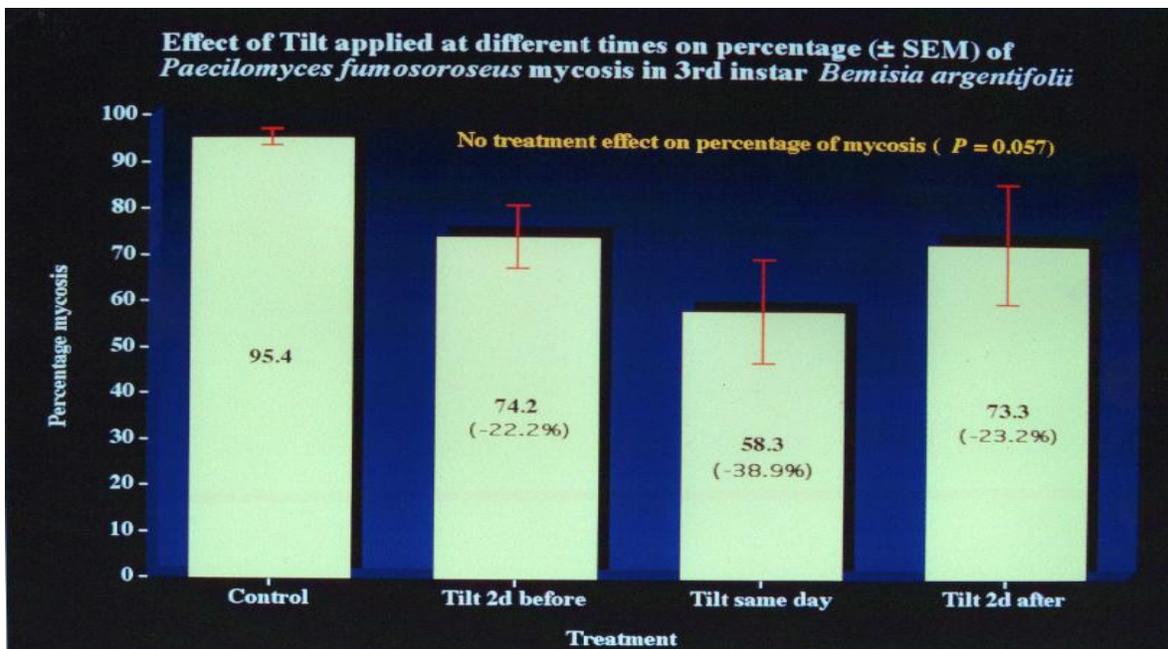
PR= Periodo de Rociado C = Cascaron pupal 2DA = dos días antes Mic = Micosis

MD = Mismo Dia 2DD = dos días después

Grafica 16.- Efectos de Quadris^R aplicado a diferentes tiempos en porcentaje (\pm SEM) del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* causando micosis en el tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*)



Grafica 17.- Efectos de Tilt^R aplicado a diferentes tiempos en porcentaje (\pm SEM) del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* causando micosis en el tercer estadio de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*)



Durante este bioensayo se obtuvieron datos mostrados en la Tabla 21 de 3 repeticiones sobre micotoxicidad y el porcentaje de pupas vacías infectadas por blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Catalina” en pupas del 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*) previamente infectadas con ella en cada una de las plantas. En el caso del control fueron un total de 12 repeticiones.

Tabla 21. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Catalina” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	47.9	52	0	61.7	38.2	0	42.5	22.5	35	55	14.1	30.8	18.4	50.8	30.8
MD	47.9	52	0	40.78	59.3	0	29.1	19.1	51.6	24.1	35.8	40	64	25	27.5
2DD	47.9	52	0	30.7	69.2	0	28.3	15.8	55.8	55.8	15	29.1	53.3	10	36.6

PR= Periodo de Rociado C = Cascaron pupal 2DA = dos días antes Mic = Micosis
 MD = Mismo Dia 2DD = dos días después

Durante este bioensayo se obtuvieron datos mostrados en la Tabla 22 de 3 repeticiones sobre micotoxicidad y el porcentaje de pupas vacías infectadas por blastosporas del formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Mark Jackson” en pupas del 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*) previamente infectadas con ella en cada una de las plantas. En el caso del control fueron un total de 12 repeticiones.

Tabla 22. Porcentaje de micotoxidad causado por blastosporas del formualdo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Mark Jackson” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	SM	C	M	SM	C	M	SM	C	M	SM	C	M	SM	C
2DA	42	20.9	37.4	55	45	0	46.6	24.1	29.3	50.8	30.8	18.3	57.5	10	32.5
MD	42	20.9	37.4	50.8	49.2	0	45.8	25.8	28.3	39.2	17.5	43.3	64.1	5	30.8
2DD	42	20.9	37.4	36.9	63	0.1	27.5	11.6	60.8	41.7	10.8	48.3	21.6	6.6	71.6

PR= Periodo de Rociado C = Cascaron pupal 2DA = dos dias antes Mic = Micosis

MD = Mismo Dia 2DD = dos días después

7.5 Bioensayo en campo

Se experimentó preliminarmente en un campo de melones de la Universidad de Texas A&M en plantios pertenecientes al USDA, ambos contaminados con mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*).

Se realizó un estudio preliminar. El campo fue dividido en espacios rectangulares de iguales dimensiones y se identificaron con banderas de colores. La distribución fue al azar por el método de Random (Kallenberg, 1986). Se colocó un tanque de 55 galones, y las boquillas se ubicaron de acuerdo a las dimensiones del campo evitando que alguna de ellas quedaran fuera del rango del cultivo. Se realizó un rociado preliminar para verificar que el equipo funcionaba y los resultados fueran confiables.

Posteriormente se utilizó y dividió un campo de cebollas y col de bruselas de la forma antes mencionada. La división fue de la siguiente manera:

3	4	3	5
4	5	4	4
2	3	5	1
1	1	2	3
5	2	1	2
A	B	C	D

- 1 = verde Blastosporas (M.J, Illinois)
 2 = amarillo Surround (M97)
 3 = rojo Control
 4 = blue Sugar Ester
 5 = blanco con negro Mycotrol ES

7.5.1 Cálculos para determinar galones utilizados

Cálculos para determinar la cantidad de galones utilizados en el rociado de los tratamientos en campo:

$$(N)(D) = \text{fila pies/tratamiento}$$

N = No. De filas en los 4 bloques A,B,C,D.

N= 20

Distancia entre cada fila = 100 pies de largo

$$(20)(100) = \mathbf{2000 \text{ fila pies/tratamiento}}$$

$$\text{área de fila} = \frac{\text{Area total de tratamiento}}{\text{Ancho de la fila}}$$

1 acre = 43560 pies²

Ancho de la fila = 3.33 pies.

$$\frac{43560}{3.33} = \mathbf{13,081 \text{ fila pies/acre}}$$

Área de tratamiento:

$$\frac{\text{fila pies/tratamiento}}{\text{fila pies/acre}}$$

$$\frac{2000 \text{ fila pies /tratamiento}}{13,081 \text{ fila pies/acre}} = \mathbf{0.1528} = \mathbf{0.153 \text{ acre / tratamiento}}$$

$$\text{velocidad} = (\text{No. de espreadores})(\text{velocidad})$$

Número de espreadores = 5

Velocidad = 3.0 = 4.40 pies / seg

$$(5)(4.40 \text{ pies/seg}) = 22 \text{ filas pies /seg}$$

Tiempo necesario para cubrir un acre:

$$\text{Tiempo} = \frac{\text{área de filas}}{\text{velocidad}}$$

$$\frac{13,081 \text{ fila pie}}{22 \text{ fila pie /seg}} = \mathbf{594.59 \text{ seg}} = \mathbf{9.90 \text{ min.}}$$

La media de rocío tomando en cuenta la presión de **100 psi** en cada boquilla del rociador hidráulico es de **370 ml / min/ boquilla.**

Se utilizaron **2 boquillas** por cada área de tratamiento, por lo que para determinar el número de boquillas totales:

$$\text{No. de boquillas} = (\text{Num. de espreadores})(\text{No. de boquillas})$$

$$(5 \text{ espreadores})(2 \text{ boquillas}) = \mathbf{10 \text{ boquillas}}$$

Volúmen utilizado para cada tratamiento:

$$\text{Volumen} = (\text{media de rocío}) (\text{No. de boquillas})(\text{tiempo})$$

$$(370 \text{ ml/min}) (10 \text{ boquillas})(9.9 \text{ min}) = 36,630 \text{ ml / boquilla} = 36.63 \text{ L/acre}$$
$$= \mathbf{9.67 \text{ galones/acre}}$$

En un tanque de 55 galones se utilizaron 15 galones de volumen total y se calculó la cantidad de cada bioinsecticida a rociar de acuerdo a los estudios antes descritos para su rociado en el campo por medio del tractor como se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23. Tratamientos aplicados durante el estudio en campo en cebollas

Tratamientos	Volumen utilizado
Sugar Ester	171ml /15gal.
Surround	1.68kg/ 15 gal.
Mycotrol ES*	1611ml / 15 gal.
Blastosporas (M. Jackson)*	1551 gr. / 15 gal

* Se utilizó surfactante Silwet L-77 al 0.03% para la disolución del producto.

Se lavó y enjuagó el tanque después de cada tratamiento con detergente.

Cabe señalar que durante el rociado del formulado de blastoesporas de *P. fumosoroseus* “Mark Jackson” producido en E.U.A se tuvieron problemas ya que la tierra de diatomea incluido dentro de su formulación, formaba una masa dentro del filtro.

Asimismo, al rociar un Surround (M97), compuesto en estudio por el USDA/ARS que puede controlar insectos y enfermedades y no es tóxico para el medio ambiente ni los seres humanos (Viva *et. al.*,2006), se roció 2 veces por la cantidad de viento presente.

Para el estudio en campo el campo se dividió de la siguiente manera:

Sección 1			Sección 2			Sección 3		
C1	T-2DD-1	B-MS-1	Q-2DA-2	T-2DD-2	B-2DA-2	T-2DD-3	Q-2DA-3	B-2DA-3
TC-MD-1	B-2DA-1	Q-2DA-1	TC-2DA-2	B-2DD-2	Q-MD-2	TC-2DA-3	C3	T-2DA-3
B-2DD-1	Q-MD-1	TC-2DA-1	B-MD-2	C2	T-MD-2	Q-MD-3	TC-MD-3	B-MD-3
T-2DA-1	TC-2DD-1	T-MM-1	Q-2DD-2	TC-MD-2	T-2DA-2	T-MD-3	B-2DD-3	Q-2DD-3
Blanco	Blanco	Q-2DD-1	Blanco	Blanco	TC-2DD-2	BLANCO	BLANCO	TC-2DD-3

Q- Quadris 2DA- 2 Días antes TC- Top cop 2DD- 2 Días Después
 B- Bravo T- Tilt MD – Mismo Día C- Control

Una vez realizado los cálculos para el rociado de cada uno de los fungicidas de acuerdo a las recomendaciones de cada fabricante se depositó cada concentración por separado dentro del tanque del tractor como se muestra en la Tabla 24. Después de aplicar cada fungicida se lavo perfectamente el tanque.

Tabla 24. Concentración aplicada de cada fungicida por cada 10 galones durante el segundo bioensayo en campo.

Fungicida	Cantidad en ml.
Bravo	380 ml
Tilt	47.5ml
Top Cop	760 ml
Quadris	59.5 ml

Sugar Ester y Surround, productos comerciales utilizados como bioinsecticidas, se aplicaron en campo para realizar pruebas de aspersión, aplicación y de mortandad. Los resultados no son significativos para esta tesis ya que no se consideró dentro de los objetivos ni en la hipótesis el análisis de estos productos. Estos han sido probados con anterioridad obteniendo resultado bastante aceptables.

Debido al bajo porcentaje de viabilidad, al tipo de formulación (ya que tapaban las boquillas del tractor), a inclemencias del tiempo, y poca población de mosquita blanca se decidió solo aplicar los bioinsecticidas Mycotrol ES* donde en la **Tabla 25** se muestran los resultados obtenidos y el formulado a partir de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* “MJ” E.U.A. donde se muestran los resultados en la **Tabla 26**, los cuales a pesar de que presentaron ciertos problemas en su aplicación tuvieron una buena dispersión.

Tabla 25. Porcentaje de micotoxidad causado por Mycotrol ES* en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de cebolla (*Allium cepa*).

PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	88	7	5	57	17	26	34	32	34	70	18	12	49	22	29
MD	90	6	4	51	16	33	17	67	16	80	13	7	45	10	45
2DD	90	6	4	45	35	20	45	36	19	41	20	39	47	38	15

PR= Periodo de Rociado C = Cascaron pupal 2DA = dos días antes Mic = Micosis

MD = Mismo Dia 2DD = dos días después

Tabla 26. Porcentaje de micotoxidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* de Mark Jackson en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de cebolla (*Allium cepa*).

PR	Fungicidas														
	Control (%)			Tilt (%)			Bravo (%)			Quadris (%)			TopCop (%)		
	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C	M	NM	C
2DA	88	12	0	73	20	7	45	39	16	69	21	10	70	25	5
MD	85	10	5	55	30	15	60	30	10	67	23	10	58	39	3
2DD	90	9	1	79	20	1	77	23	0	82	17	1	69	25	6

PR= Periodo de Rociado C = Cascaron pupal 2DA = dos días antes Mic = Micosis

MD = Mismo Dia 2DD = dos días después

8.-Discusiones

Durante lo últimos dos siglos la alta demanda de alimento ha originado la utilización de químicos que deterioran al medio ambiente para el control de plagas las cuales devastan a cosechas enteras disminuyendo su calidad y su cantidad. Por otro lado los ecosistemas se han dañado a tal grado que muchos de ellos han dejado de existir o simplemente cambian o modifican su coexistencia. Lo anterior demuestra que se debe mantener un equilibrio entre lo químico y lo biológico utilizando un Manejo Integral de Plagas (IPM). Como establece Chaput en 1993 en un programa IPM es importante identificar minuciosamente a las plagas (insectos, enfermedades, y maleza). Asimismo tener un claro conocimiento de la biología y ecología de la plaga que ataca a la cosecha y los factores que puedan influenciar la infestación de la plaga.

8.1. Porcentaje y Germinación de Conidias y Blastoesporas.

El entomopatógeno con mayor porcentaje de germinación y conteo de esporas fue *P. fumosoroseus* (E.U.A.) aun mayor que el presentado por *P. fumosoroseus* de Mycotec© el cual fue producido bajo un procedimiento industrial en condiciones controladas. El porcentaje de germinación de *P. fumosoroseus* (México) en los dos medios (“Catalina y Mark Jackson”) producido a nivel laboratorio fue bajo en comparación a la dosis utilizada por Ramos *et al.* en el 2000, razón por la cual se utilizó mayor cantidad de muestra para realizar los bioensayos. Las conidias son esporas asexuales producidas por constricción de la punta de una hifa abierta en un esporangio (dicciomed.es) y la blastosporas son esporas que se reproducen por gemación (dicciomed.es) además su periodo de duplicación es mayor en blastosporas que en conidias, mas sin embargo esto ocasiona mayor sensibilidad a los cambios de las condiciones ambientales como se refiere Thomas *et al.*, 1987, en que determinó que las blastosporas tienen un corto tiempo de vida y no sobreviven en condiciones ambientales adversas.

8.2. Crecimiento Radial

En 1985, Pierre Ferron corroboró la hipótesis acerca de que un día los hongos podrían ser utilizados como componentes principales para el manejo de control de plagas y estableció que se requiere definir los ecosistemas en los cuales estos enemigos naturales efectivamente juegan un rol positivo y determinan la estrategia necesaria para el mejor uso de los hongos. Del mismo modo, se debe proteger a la planta de hongos que ataquen a las cosechas e inhiban su crecimiento con agentes micóticos. Al tener en perspectiva estos dos parámetros se realizaron pruebas para establecer el manejo integrado en la aplicación coordinada de estos dos productos. Los fungicidas pueden inhibir el crecimiento de los hongos mediante contacto o sistémicos por lo que la utilización de fungicidas compatibles con el entomopatógeno es importante para una obtener una cosecha sana.

Los resultados mostraron que *Beauveria bassiana* tuvo un crecimiento radial mínimo en presencia de Quadris®, Bravo® y Top Cop®. en comparación del control. Sin embargo hubo una inhibición total de crecimiento en presencia de Tilt®.

Así mismo, *Paecilomyces fumosoroseus* se inhibió totalmente en presencia de Tilt, tuvo un crecimiento mínimo en presencia de Bravo® y Quadris®, y crecimiento abundante en presencia de Top Cop®.

El control del *Paecilomyces fumosoroseus* (México) producido en medio “Mark Jackson” tuvo un crecimiento radial moderado en comparación con el crecimiento del mismo entomopatógeno preparado en E.U.A. y el mismo medio. En presencia de Top Cop® hubo un crecimiento radial aceptable en comparación con el control. Quadris® y Bravo® tuvieron crecimiento radial mínimo en comparación del control. Tilt® tuvo un crecimiento radial no significativo.

Paecilomyces fumosoroseus, medio “Catalina” producido en México presentó un bajo crecimiento en el control del entomopatógeno, además presentó baja inhibición en

presencia de los fungicidas Bravo®, Quadris® y Top Cop®. Hubo mínimo crecimiento radial en presencia de Tilt®.

El formulado entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* tuvo un crecimiento radial mayor que el control en presencia de Bravo® así como un crecimiento moderado en presencia de Top Cop® y Quadris®, en cambio no hubo crecimiento significativo en presencia de Tilt®.

8.3 Mezcla en tanque:

La importancia para determinar la posibilidad de aplicar un bioinsecticida que ataque a la plaga en conjunto con un fungicida que proteja a la planta contra el ataque de hongos que deterioren su calidad es importante para aumentar la producción de la cosecha. Lumsden, R.D. y Walter en 1995 establecieron que la mayoría de los fungicidas requieren una célula viva intacta por lo que la combinación se debe dar entre un fungicida que no afecte la viabilidad del bioinsecticida. Del mismo modo Lewis y Papavizas en 1987 determinaron los fungicidas dependientes de la célula intacta, por el otro lado, estos requieren diseños sofisticados en la formulación comercial, para asegurar la estabilidad del producto durante su almacenaje.

Es necesario conocer el tiempo de mezclado ya que durante su aplicación cuando los plantíos son extensos, entre mayor sea la estabilidad de la mezcla entre el fungicida y el bioinsecticida con respecto al tiempo, menor es el costo del rociado.

Conidias del formulado entomopatógeno *Beauveria bassiana* presentaron después de la **1h** de agitación un crecimiento total en cajas Control, un crecimiento moderado en Top Cop®, un crecimiento mínimo en Tilt® y ningún crecimiento en Bravo® y Quadris®. En la **2h** de agitación hubo un crecimiento casi total en cajas Control, crecimiento casi total en Top Cop®, mínimo crecimiento en Tilt® y ningún crecimiento en Bravo® y Quadris®.

. En la **3h** de agitación existió un crecimiento total en cajas Control, y Top Cop®, mínimo crecimiento en Tilt®, y ningún crecimiento en Bravo® y Quadris®. Asimismo en la **4h** de agitación resultó un crecimiento total en cajas Top Cop®, crecimiento moderado en cajas Control, mínimo crecimiento en cajas Tilt®, y ningún crecimiento en Bravo® y Quadris®. Mostrando que Top Cop® puede utilizarse mezclado con conidias de *B. bassiana* ya que no presento inhibición sino al contrario hubo un crecimiento paulatino después de estar en agitación durante las cuatro horas.

En cuanto al formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus*, medio “Mark Jackson” producido en E.U.A. después de **1h** de agitación existió un crecimiento total en cajas Control, un crecimiento mínimo en Top Cop®, un crecimiento moderado en Tilt®, mínimo crecimiento en Bravo® y crecimiento casi total en Quadris®. Durante la **2h** de agitación resultó un crecimiento total en cajas Control, ningún crecimiento en Top Cop®, crecimiento moderado en Tilt®, ningún crecimiento en Bravo® y crecimiento total en Quadris®. En la **3h** de agitación existió un crecimiento total en cajas Control, y ningún crecimiento en Top Cop®, crecimiento moderado en Tilt®, ningún crecimiento en Bravo® y crecimiento casi total en Quadris®. Durante la **4h** de agitación existió un crecimiento total en cajas Control, ningún crecimiento en cajas Top Cop® crecimiento moderado en cajas Tilt®, ningún crecimiento en Bravo® y crecimiento casi total en Quadris®. Esto nos indica que se puede utilizar Quadris en combinación con las blastosporas de *P. fumosoroseus* sin importar el tiempo.

Durante la **1h** de agitación las blastosporas de *P. fumosoroseus* medio “Catalina” producido en México presentaron un crecimiento casi total en cajas Control, ningún crecimiento en Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y crecimiento casi moderado en Quadris®. Mientras la **2h** de agitación hubo un crecimiento total en cajas Control, ningún crecimiento en Top Cop®, crecimiento moderado en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y moderado crecimiento en Quadris®. Durante la **3h** de agitación se reportó un crecimiento casi total en cajas Control, ningún crecimiento en Top

Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y crecimiento casi moderado en Quadris®. En la **4h** de agitación hubo un crecimiento total en cajas Control, ningún crecimiento en cajas Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y crecimiento moderado en Quadris®. Cabe destacar que el crecimiento de las blastosporas de *P. fumosoroseus* producidas en medio Catalina en Monterrey no se vieron afectadas en presencia de Bravo® y Quadris®.

En cuanto a blastosporas de *P. fumosoroseus* medio “Mark Jackson” producidas en México en la **1h** de agitación prevaleció un crecimiento total además de esporulación en cajas Control, ningún crecimiento en Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, mínimo crecimiento en Bravo® y crecimiento casi total en Quadris®. Durante la **2h** de agitación existió un crecimiento total en cajas además de esporulación en cajas Control, casi mínimo crecimiento en Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y crecimiento total además de esporulación en Quadris®. Durante la **3h** de agitación hubo un crecimiento total en cajas Control, y ningún crecimiento en Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, mínimo crecimiento en Bravo® y crecimiento total en Quadris®. En **4h** de agitación se presentó un crecimiento total en cajas Control, casi mínimo crecimiento en cajas Top Cop®, ningún crecimiento en Tilt®, moderado crecimiento en Bravo® y crecimiento total además de esporulación en Quadris®. Se recomienda la utilización del fungicida Quadris® para mezclado con el entomopatógeno *P. fumosoroseus* ya que durante las **4h** de mezclado su crecimiento fue satisfactorio. Además presentó esporulación en presencia del fungicida, lo cual según Monzon en 2001 se debe conocer la patogenicidad de la cepa contra la plaga a controlar, así como la cantidad de esporas necesarias para provocar una epizootia en el campo después de la aplicación del hongo.

R.S Mullin en 1957 recomendó que la aplicación de fungicidas debe ser específico y depende de la estación del año, el clima y el tipo de cultivo (Mullin, 1957), y esto se sigue aplicando, actualmente tenemos más información ya que podemos realizar un análisis

del ecosistema ocasionando el menor daño posible al habitat y así obtener una buena cosecha.

8.4. Bioensayo *in vivo*

La micosidad mostrada por conidias del formulado entomopatógeno *B. bassiana* producidas por Mycotech© (Tabla 17) fue del 86% en el control, el fungicida que menos inhibió la micosidad del entomopatógeno 2 Días Antes (2DA) y Mismo Día (MD) fue Quadris® con un 78% y 87% respectivamente, mientras que en 2 Días Después fue Top Cop® con un 57%. Todos los fungicidas inhibieron poco al entomopatógeno, mas sin embargo fue Quadris® el fungicida que menos inhibió al entomopatógeno y Bravo® el que más lo inhibió. Según Quintero en el 2001 concluyó que *Bemisia* presenta susceptibilidad a este entomopatógeno.

Las blastoesporas del formulado entomopatógeno *P. fumosoroseus* presentó un 98.3 % de micosidad sobre larvas de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en el control. La micosidad del entomopatógeno durante la aplicación del fungicida 2 Dias Antes (2DA) que menos inhibió fue Top Cop® y Quadris® con un 92.5% y 90% respectivamente. En cuanto al Mismo Dia (MD) Top Cop® tampoco inhibió la micosidad del hongo con un 85%, y en 2 Días después (2DD) hubo una micosidad comparable al control en presencia de Top Cop®. En general existe una buena compatibilidad entre hongos y fungicidas y estos últimos permiten la acción del hongo en la mosquita blanca (*B. argentifolli*) y se confirma con Carballo en 1998 donde estableció que el control biológico sea efectivo se debe considerar en la aplicación dosis parecidas a las utilizadas por lo agroquímicos así como en bioensayos en el laboratorio, invernaderos y campo que confirmen la efectividad del producto una vez formulado.

Los resultados obtenidos durante el bioensayo con blastoesporas de *P. fumosoroseus* producidos en E.U.A. (Tabla 19) muestran una infección del 81.4% en el control contra la mosquita blanca (*B. argentifolii*) mientras que el fungicida que menos inhibió la acción del

bioinsecticida 2 Días Antes (2DA) fue Tilt® con un 91%, mas sin embargo el Mismo Dia (MD) el fungicida que menor impactó en el desarrollo de la infección por parte del hongo fue Bravo® con un 82.3%, en cambio Dos Días Despues (2DD) fúe en presencia de Quadris® con un 93% en donde el bioinsecticida tuvo el mas alto porcentaje de micosis. El único fungicida que no se comporto de acuerdo a lo obtenido en *in vitro* fue Tilt® ya que este siempre inhibió la micosis del entomopatógeno. Esto demuestra que la susceptibilidad de los diferentes estados de desarrollo esta influenciada por la habilidad del patógeno de iniciar la infección y su especificidad (Gindin *et al.*,2000).

Las blastoesporas de *P. fumosoroseus* producidas en México en medio “Catalina” afectaron en un 47.9% a las larvas de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolli*) en el control. A los 2 Días Antes la micosis presentada por el entomopatógeno fue del 61.7% en presencia del fungicida Tilt® siendo esta la mas alta en comparación con lo presentado por los otros fungicidas, pero ningun fungicida inhibió la micosis del hongo. El Mismo Día (MD) el entomopatógeno presentó la mas alta micosis, de 64% aún mas alta que el control, en presencia de Top Cop®. Dos Día Despues (2DD) en presencia de Quadris® el hongo tuvo la más alta micosis en comparación con los demas fungicidas. Ningún fungicida inhibió la micosis del entomopatógeno. Según López *et al.* en 2001, practicamente, todos los insectos son susceptibles a algunas enfermedades causadas por hongos.

El porcentaje de micosis presentado (Tabla 22) por el control de blastoesporas de *P. fumosoroseus* producido en medio “Mark Jackson” fue del 42% el cual se considera bajo considerando la micosis del bioinsecticida reportada por Quintero en el 2001 donde la cual es de 61% de actividad patógena en *Spodoptera frugiperda*. Así mismo el entomopatógeno presentó 2 días Antes (2DA) y Mismo Día (MD) las más alta micosis del 57.5% y 64.1% en presencia de Top Cop® en comparación de los otros fungicidas. Asimismo, 2 Días Despues (2DD), el bioinsecticida presentó la mas alta micosis en presencia de Tilt®. Esto último es antagónico a los resultados obtenidos en el bioensayo *in vitro* donde Tilt® inhibió cualquier crecimiento del entomopatógeno. Esto comprueba lo

que indicó Monzón en 2001 que la eficacia del control biológico de plagas mediante entomopatógenos depende del contacto entre la plaga y el hongo.

8.5. Estudio en campo

La mayor incidencia de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) se presenta en el mes en los meses de septiembre, octubre y noviembre con un alto porcentaje de población, esto coincide con lo citado por Friare *et al.* en 2006 donde indica que la mayor incidencia de la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) es en el mes de noviembre con un 80%. Debido a lo anterior se decidió realizar los estudios de campo en los meses de septiembre a noviembre, lo unico a considerar es el viento, por lo que se aplicó el tratamiento temprano en la mañana.

Se recolectó las hojas 2 y 3 de las plantas al azar ya que de acuerdo al INIFAP en 1998 el patrón de disposición espacial de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) a nivel de planta individual campo o predio de un mismo cultivo y local o regional con un patrón diverso de cultivos. Este es el resultado de las interacciones entre los hábitos de oviposición de las hembras, el hábito sedentario de los estados inmaduros y la dinámica de crecimiento de la planta hospedante. Además Nava- Camberon en 1996 establecieron que las densidades mas altas de las ninfas variaron en su localización y estuvieron localizadas en las hojas 2 al 8.

9.- Conclusiones

1.- Es indispensable realizar un conteo de esporas y porcentaje de germinación antes de aplicar un bioinsecticida en campo para establecer la cantidad efectiva a utilizar y reducir costos de protección en la cosecha. Existe diferencia significativa de mortalidad y compatibilidad entre conidias y blastoesporas de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* en presencia de los fungicidas.

2.-Quadris® es un fungicida que se puede mezclar con el entomopatógeno *P. fumosoroseus* independiente del medio por el cual se haya producido y puede tener un tiempo de aplicación mayor sin que esto afecte al entomopatógeno. Por otro lado, Top Cop® es un fungicida compatible con *B. bassiana* ya que no presentó inhibición alguna durante el proceso de mezclado, por lo que Quadris® y Top Cop® son fungicidas recomendables para aplicar ambos controles, químico y biológico y obtener una cosecha de buena calidad.

3.- El crecimiento radial de los entomopatógenos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* tanto de las conidias como blastosporas es inhibido en presencia del fungicida comercial Tilt®, por lo cual se recomienda evitar su uso en un manejo integrado (MIP) de plagas.

4.- Hubo una mínima diferencia del crecimiento y germinación de blastosporas de *P. fumosoroseus* en comparación a las conidias de *B. bassiana* en presencia de fungicidas. Mas, sin embargo las blastosporas de *P. fumosoroseus* producidas en México tuvieron menor crecimiento que el control, mas no así en presencia del fungicida.

5.- Los datos del Estudio *in vivo* mostraron que solo Top Cop® y Quadris® bajo ciertas condiciones como estabilidad y cantidad de esporas del entomopatógeno y estadio larvario de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) pueden ser utilizados en campo junto con los bioinsectidas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*, en tanto Tilt® y Bravo® pueden inhibir el desarrollo de los bioinsectidas antes mencionados.

6.- En el Estudio *in vivo* *P. fumosoroseus* mostró generalmente ser mas compatible con los fungicidas que *B. bassiana* despues de tres aplicaciones.

7.- Los datos en campo demostraron que conidias de *B. bassiana* y blastoesporas de *P. fumosoroseus* pueden ser utilizados en combinación con los fungicidas Top Cop[®] y Quadris[®]. Sin embargo, se debe considerar el estadio larvario de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) para obtener mayor efectividad del entomopatógeno y evitar que condiciones ambientales variables como aire, temperatura y humedad afecten su capacidad micótica.

10.- Recomendaciones

En particular algunos datos tienen implicaciones importantes para el uso futuro de fungicidas en la agricultura en donde los entomopatógenos fúngicos endémicos o introducidos puedan contribuir al manejo de plagas.

Ampliar el estudio sobre el manejo integrado de controles físicos, químicos y biológicos para disminuir el efecto negativo sobre los ecosistemas. Asimismo se debe proporcionar mayor información a los agricultores sobre el manejo de estos controles en beneficio de sus cosechas.

El estudio de controles químicos naturales aplicados en presencia de bioinsecticidas se debe ampliar para disminuir la contaminación de las especies y de los ecosistemas ocasionada por compuestos químicos sintéticos además de un manejo integral de sustancias químicas naturales y sintéticas así como bioinsecticidas para disminuir la resistencia de los organismos plaga que afectan a las cosechas.

Así mismo es de importancia vital buscar alternativas que conserven el equilibrio ecológico en el control de plagas que conlleven a una relación equilibrada entre el hombre y su medio e incrementen la producción agrícola, hoy tan necesaria para la sobrevivencia de la humanidad.

11.- BIBLIOGRAFÍA

Agudelo, F. & L.A. Falcon. 1983. Mass production, infectivity, and field application studies with the entomogenous fungus *Paecilomyces farinosus*. J. Invertebr. Pathol. **42**: 124-132.

Alcazar S. J., Raman, K.V. Torres E., Yabar L. E. 2003. *Beauveria sp.* Hongo amigo del agricultor. Enero 15, 2003. Redepapa Vol. **5** No. 1 (ISSN 0124 5740).

Altieri, M. & Nicholls, C. 1999. Classical biological control in Latin America. Past, present and future. En Handbook of Biological Control. (Bollows, T. y Fisher, T. Eds.) Academic Press. EU. pp.975 – 989.

Alvarado, B. 2000. Las alternativas biológicas en el manejo integrado de plagas de maíz en México. Ponencia presentada en la Reunión de Productores de Monsanto. Puerto Vallarta. Agosto 16-18.

Badii, M.H.; A.E. Flores; R. Foroughbakhch & L. Hauad. 1994. Diversidad ecológica. Calidad Ambiental 1 (**5**), 18-22.

Badii, M.H., Flores, A.E. & L. J. Galán Wong. 2000. Fundamentos y perspectivas de control biológico. Universidad Autonoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, Nuevo León. Pág: 325 - 338.

Baldauf, S.L., & J.D. Palmer. 1993. Animals and fungi are each other's closest relatives: Congruent evidence from multiple proteins. PNAS.90:11558-11562.

Barnett, H. L. & B. Hunter. 1998. Illustrate genera of imperfect fungi. 4ta Edición. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota (USA). 217 pp. 236 - 245.

Baker, R. 1982. Induction of suppressiveness, in *Suppressive Soils and Plant Design* (Schneider, R. W., ed.), American Phytopathology Society, St. Paul, MN, pp.35.

Baker, R. 1983. State of art: plant diseases, in *Proceedings of the National disciplinary Biological Control Conference* (Battenfield, S.L., ed.) Cooperative Reservation Service, U. S. Department of Agriculture, Washington, DC, pp.1.

Baker, R. & Scher, F. M. 1987. Enhancing the activity of biological control agents, in *Innovative Approaches to Plant Disease Control* (Chet, I. ed.), Toronto, Canada, pp. 1- 17.

Bartnicki, G.S. 1994. Spore Germination in Fungi : Basic Concepts. In: Boberts, D, Aist J. (Eds) *infección Proceses of Fungi. A Bellagio Conference, March, 21 - 25, 1983.* The Rockefeller Foundation. New York. pp. 111 - 117.

Bing, L.A. & L.C. Lewis. 1992. Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in corn: the influence of th plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Hübner). *Biocontrol Science & Technology.* 2:39-47.

Boyetchko, S., E. Pedersen, Z. Punja, & M. Reddy. 1999. Biopesticides: present status and future prospects. *Irr. Biopesticides: Use and Delivery.* Ed. F.R. Hall and J.J. Menn. Humana Press. Totowa, NJ. pp 487 – 507.

Brooks G.T., Roberts T.R. 1999. *Pesticide Chemistry and Biosciene.* Royal Society of Chemistry.

Bradley, C., Black, W., Kearns, R. & P. Woods. 1992. The role of producción technology in mycoinsecticide development. En: G. Leatham (ed.). *Frontiers in Industrial Micology.* Mycological Society of America. Symposium on industrial Mycology.

Bravo, A. 1997. Minireview: phylogenetic relationships of *Bacillus thuringensis* α -endotoxin family proteins and their functional domains. *J. Bacteria* 2793-2801.

Butler, G.D., Jr., T.J. Hnenberry, & W.D. Hutchison. 1986. Biology, sampling and population dynamics of *Bemisia tabaci*. *Agriculture Zoo. Rev.*1:167-195.

Burges, H.D. 1981. Microbial Control of pests and Plant Disease. Academic Press, NY. pp.949.

Burges D.H, Jones K.A. 1998. Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganism, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers.Great Britain.

Byrne, D.N., T.S, Bellows & M.P. Parrella. 1990. Whiteflies in agricultural systems. In: Whiteflies: Their Bionomics, pest Status and Management. Gerling D.(ed.). Intercept LTD, Andover, Hants, UK. pp. 227-261.

Castañon, S. R. 2008 Biotecnología en el Manejo Integrado de Plagas: Opciones de la Aplicación de la Biotecnología al Manejo Integrado de Plagas en México. Agronet. Mar. 15, 2008.

Carlton. B.C. 1990. Economic consideración marketing and application of biocontrol agents, in *New Directions in Biological Controls—Alternative Suppressing Agricultural Pests and Diseases* (Baker, R.R. and Dunn, P.E. Liss, New York, pp. 419 - 434.

Carballo, M. 1998. Formulación de hongos entomopatógenos. *Rev. Manejo integrado de plagas.* 47: 1-4.

Cedillo B.L. A., Rivero S. O., & Ponciano R. G. 1996. La Situación Ambiental en México: Cap. Plaguicidas y Salud Ocupacional, ENSP. PUMA,UNAM, Méx.

CICLOPLAFEST. 1996. Lo que usted debe saber sobre gestión de los plaguicidas en México. Serie Plaguicidas en México. Marzo, Num. 4. Semarnap, México.

Consejo Interamericano para el Desarrollo Integral, (CIDI). 2007. Quinta Reunión Ordinaria de la Comisión Interamericana de Ciencia y Tecnología. 20- 21 de septiembre del 2007. Washington D.C. OEA/Ser. W/XIII 3.5, CIDI/COMCYT/INF. 5/07.

Chaput, J. 1993. Integrated pest management for onions, carrots, celery, and lettuce in Ontario: A handbook for growers, scouts and consultants. Ontario Ministry of Agriculture and Food Field Services, Central and North Region pest Management Section. pp.67.

Cliquet, S. & Jackson, M.A. 1999. Influence of culture on production and freezing tolerance of *Paecilomyces fumosoroseus* blastospores. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **23**, 97-102.

Cook, R.J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for local control of plants pathogens. *Annual Review Phytopathology*. **31**, 53 - 80.

Cook, R.J. 1993. The role of biological control in pest management in century, in Pest Management: *Biologically Based Technologies*, vol.18 (R.D. and Vaghn, J.L., eds.), Beltsville Symposium. American Chemical. Washington, DC, pp. 10-20.

Cook, R.J., Bruckart, W.L., Coulson, J.R., Goettel, M.S., Humber Lumsden, R.D., et al. 1996. Safety of microorganisms intended for pest a disease control: a framework for scientific evaluation. *Biology. Control* **7**, 333.

Chet, I. 1987. *Innovative Approaches To Plant Disease Control*. Wiley Toronto, Canada.

Dannaker C.J., Maibach M. 1993. Contact urticaria and anafilaxis to the fungicida chlorothalonil. *Cutis* **52**:3120 -5.

Dinham Bárbara. 1999. Lifer Science Take Over. *Pesticide News*. June, Num. **44**. Boletín de Pesticide Trust UK..

Dubos, B. 1987. Fungal antagonismo in aerial agriobiocenoses, in *Innovative Approaches to Plant Disease Control* (Chet, I., ed), Wiley, Toronto, Canada, pp. 107 - 135.

Falcon, L.A. 1971. Use of bacteria for microbial control in: microbial control of insects and mites. Burges, H.D. and N.W Hussey (eds) Academic Press, New York.

Fargues, J. 1984. Adhesion of the fungai spore to the insecto cutícula in relación to pathogenicity. In: Boberts, D, Aist J (Eds) *Infection Proceses of Fungi*. A Bellagio Conference, March, 21 - 25, 1983. The Rockefeller Foundation. New York. pp. 90 - 110.

Feng, M. G.;; T.J. Poprawski & G.G. Khachatourians. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beuveria bassiana* for insect control: currents status. *Biocontrol Science and Technology*. **4**:3-34

Ferron, P. 1985. Fungal Control, in *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*, vol. 12, *Insect Control* (Kerkut, G. A. and Gilbert, L. I. eds.), Pergamon, Oxford, pp. 313-346.

Fraire S. L., Cordova G.M., Jimenez Ch. J.A., 2006. XIX Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Tabasco Noviembre 16-17.

Frost & Sullivan. 1990. Biopesticides: A technology impact report, Frost & Sullivan Inc. New York, N.Y. pp.1- 341.

Fokkema, N.J., Gerlagh, M., Kohl, J., Jongbloed, P. h. J., & Kessel. 1994. Prospect fro biological control of foliar pathogens, in *Proceedin Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases*, BCPC Publ Major Print Ltd., Nottingham, UK, pp. 1249 - 1258.

FUNGICIDAS. 2008. www.jmcpr.net/GLOSARIO/FUNGICIDAS.htm 14 de marzo,2008.

FUNGICIDAS. 2008. Capítulo 15. <http://eea.uprm.edu/formularios/pesticidas/spch15.pdf>.

Fuxa, J.R. & Tanada. 1989. Epizootiology of Insect Diseases. John Wiley and Sons, N.Y. pp.555.

Gabriel, C.J. & C.R. Cook. 1990. Biological control the need for a new scientific framework. *Bio/Science*. **40**:204-207.

Galan Wong, L.J, & Arévalo Niño K. 1985. Uso y Aplicación de bioinsecticidas en México. Primera Conferencia sobre Economía del Medio Ambiente en México y América Latina, Monterrey, N.L. México.

Galindo, E., 2000. BIOTECNOLOGÍA: Una antigua y moderna aliada al hombre. Presidente de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C. Cámara de Diputados LVIII Legislatura. Crónica Legislatura. No. 12 Enero 2000.

Gindin, G., N. U. Geschotovt. & B. Racciah. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to Different Development Stages of the Silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica*. **28**:229 - 239.

Glare, T. & A. Lingwood. 1998. Morphological and genetic caracterización of *Beuveria spp.* From New Zealand. *Mycological Research*. **102**: 250 - 256.

Grove G. 1997. Fungicide Resistance , Washington State University. (<http://disease.tfrec.wsu.edu/main/publish/Resistance/resistance.htm>)(4-mayo-99).

Harman, G. 2000. Myths and Dogmas of Biocontrol. *Plant Disease*. **84** (4): 377-393.

Hoffman, M.P., Petzoldt, C. H., Frodsham, A. C. 1996. Integrated Pest Management for Onions. Cornell Cooperative Extension Publication. Chapter 2.

Humber, R.A. 1991. Fungal Pathogens of aphids, pp.45 - 56. In D.C. Peters, J.A. Webster, and C.S. Chlouber, Aphids-Plant Interactions: Populations to Molecules, Agricultural Experiment Station, Division of Agriculture, Oklahoma State University, stillwater, Pub. MP-132.

Humber, R.A., R. S. Soper, N. Wilding, & G. Remaudière. 1977. The identificación of certain widely studied strains of Entomophthora pathogenic for aphids. Mycotaxon **5**: 307 - 310.

Ignoffo, C.M. & W.F. Hink. 1971. Propagation of arthropod pathogens in living systems in: microbial control of insect and mites Burges, H.D. y N.W Hussey (eds) Academic Press, N.Y.

Inglis, P.W., Tigano M.S., & Valadares-Inglis M.C. 1999. Transformation of the enthomopathogenic fungi *Paecilomyces fumosoroseus* and *Paecilomyces lilacinus* (deuteromycotina: hyphomycetes) to benomyl resistance.

INIFAP (Centro de Investigación Regional del Noreste). 1998. Temas Selectos para el Manejo Integrado de la Mosquita Blanca. *Disposición Espacial y Planes de Muestreo en varios Cultivos*. Num. 6 Noviembre. pp.51- 71.

Jackson, M.A.; McGuire, M.R. Lacey, L.A. & S.P. Wright. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *P. fumosoroseus*. Mycological Research. **95**:1-7.

Kallenberg, O. 1986. Random Measures, 4th edition. Academic Press, New York, London, Akademie-Verlag, Berlin.

King, E.G. & N. C. Leppla eds. 1994. Advances and Challenges in Insect Rearing. USDA-Agricultural Research Service, New Orleans, LA.

Khachatourians, G.G. 1986. Production and use of biological pest control agents. Tibtech, pp.120 -124.

Kleespies, R.G. & Zimmermann, G. 1992. Production of blastospores by three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin in submerged culture. *Biocontrol Science and Technology* **2**, pp.127 - 135.

Kovach, J., Petzoldt, C. Degni, J. & Tette, J. 1992. A method to measure the environmental impact of pesticides. *New York's Food and Life Sciences Bulletin* pp.139.

Lamont D., L., Duflou JALC. 1988. Copper sulfate: Not harmless chemical. *Am J. Forensic Medicine Pathology* **9**;226-7.

Landa, Z. L.; Osborne, F.; Lopez & J. Eyal. 1994 A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. *Biological Control*. **4**:341 – 350.

Lane, B.S. Trinci, A.P., & Gillepsie, A.T. 1991. Endogenous reserves and survival of blastospores of *Beauveria bassiana* harvested from carbon- and nitrogen- limited batch cultures. *Mycological Research* **95**, 821 - 828.

Latijnhouwers M, de Wit PJ, & Govers F. 2000. *Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. Trends in Microbiology* Vol. **11** 462 -469.

Latgè, J.P., & B. Papierok. 1988. Aphid pathogens, pp. 323 - 335. In A.K. Minks and P. Harrewijn eds., World Crop Pests, 2B - Aphids: their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam.

Lewis, J.A. & Papavizas, G.C. 1987. Application of *Trichoderma Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off. *Pathology* **36**, 438 - 446.

Lisansky, S. 1989. Biopesticides: The next revolution?. *Chemistry and Industry*, pp.478 - 482.

López-Ávila, A. Cardona, C. García j., Rendón, J. Rendón, & F., Hernández, P. 2001. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* **27**:137 - 141.

Lorence, Q. A. 1996. Los biopesticidas en el marco de la agricultura sustentable. Cuadernos de vigilancia tecnológica, Cambiotec. UNAM. México. pp.39 – 43.

Lopez L.V., Hans Borje J. 2001. Biodiversidad del suelo. **6**: 12-45.

Lumsden, R.D. & Walter, J.F. 1995. Development of the biocontrol gliocladium virens: risk assessment and approval for horticultural use, in *Biological Control: Benefits and Risks* (Hokkanen, M.T. and Lynch, j.M. eds.) Bridge University Press, Cambridge, UK, pp. 263 - 269.

Maniana, N. & J. Fargues. 1985. Susceptibility of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, to the fungal pathogens *Paecilomyces fumosoroseus* and *Nomuraea rileyi*. *Florida Entomologist*. **68**: 178 - 183.

Martinez Carrillo J.L. 1990. Implementing a resistance management strategy for cotton pests in Northwest Mexico. Pp. 209. En *Procc. Beltwide Cotton Production and Research Conferences*. National Cotton Council. Memphis TN.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol New and Inf.* **21**: 47 - 50.

Middaugh, D.P. & F.J. Genthner. 1994. Infectivity and teratogenicity of *Beauveria bassiana* in *Menidia beryllina* embryos. *Arch Environmental Contamination Toxicology* 27:95 - 102.

Mims, C.A., N.J. Dimmoch, A. Nash, & J. Stephan. 1995. Mims Pathogenesis of Infectious Disease. 4th edition. Academic Press. New York.pp.414.

Mireles, V., J. 2006. Toxicidad del Hongo Entomopatogeno *Beuveria bassiana* (Balsamo) *Vuillmin* en diferentes Estadios de Crecimiento de *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidoptera: *Noctuidae*).

Mullin, R.S. 1957. Potato fungicide tests in eastern Virginia for the eight year period 1949 – 1956. *American Journal of Potato Research*. Editor Springer NY. Vol. 34, Num. 6 / Jun. pp. 164 – 168. Colletion: Biomedicina y Ciencias Biológicas.

Nava- Camberos, U. 1996. Bionomics of *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring on cotton, cantalaupe, and pepper. Tesis Doctoral. Texas A&M University. pp.212.

Quispe Perez, V. Pumacahua M. H., Medina Laura, C., Cruz Linares, J.L., Vallenias Bellota, J., & Ocampo R. 2002. Experiencia de concertación interinstitucional para el control integrado de plagas y enfermedades en los cultivos de papa y maíz. In: Sociedad Entomológica del Perú (SEP). Programa y Resumenes, XLV Convención Nacional de Entomología, 44. Lima (Perú). 3-7 nov 2002. Lima (Perú) SEP, Universidad Nacional Agraria La Morena. 2002. pp. 161. AP(QL479 P4 S6 2002) (AN=62424).

Quintero, Z.I. 2001. Producción de diferentes métodos de cultivo y sobrevivencia de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (Deuteromycotina: Hyphomycetes).Tesis Doctoral. UANL, FCB. Postgrado.pp.95.

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

Papavizas, G. C. 1984. Soilborne plant pathogens: new opportunities for biological control. *Proceedings 1984 British Crop Protection Conference--Pests and Disease*, pp. 371 - 378.

Poinar, Jr., G.O. & G.M. Thomas. 1984. A fossil entomogenous fungus *Beauveria bassiana* from Dominican amber. *Experientia.* **40**:578 - 579.

Ramos, E., S. Alves., M. Tanzino & R. Lopez. 2000 Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a en condiciones de laboratorio. *Manejo Integrado de Plagas.* **56**: 65 - 69.

Rhodes, D.J. 1990. Formulation requirements for biological control agents. *Aspects Appl. Biol.* **24**: 145-153.

Riba, G. & A.M. Ravelojoana. 1984. The parasexual cycle in the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumoso - roseus* (Wize) Brown and Smith. *Can. J. Microbiol.* **30**:922-926.

Rodríguez-del-Bosque, L. A. F. Silvestre, V. M. Hernandez, H. Quiroz & J.E. Thorn. 2004. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga crinita* and *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal Entomology Science* **40**: 67 - 73.

Rodríguez del Bosque, L.A., & H.C. Arredondo Bernal. 1999. Quién es quién en control biológico en México. Directorio de especialistas, instituciones y laboratorios de organismos benéficos. INIFAP, SAGAR, CNSA, IICA. Folleto Técnico No. **23**. División Agrícola. México.

Salazar, A. Ruby. 2007. Aprovechamiento de polímetros biodegradables para la remoción de metales pesados y colorantes a nivel laboratorio. FCB , UANL. pp.18.

Samson, R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. In: *Studies in Mycology*. Vol. 6. Centralbureau voor Schimmelcultures, Barn, the Netherlands.

Samson, R.A., Evans, H.C. & J.P. Largè. 1988. Atlas of enthomopatogenic fungi. De Springer- Verlag. pp.1- 72.

Samson, R.A., Evans, H.C. & J.P. Largé. 1988b. Taxonomy of Enthomopathogenic Fungi. Pp. 5.16. En: Atlas of Enthomopathogenic Fungi. Springer - Verlag. Nueva York, New York.

Schwemmler, W & G. Gassner. 1989. Insect Endocytobiosis: Morphology, Physiology, Genetic, Evolution. Boca Ratón, eds. FL CRC Press.

Smith, P. 1993. Control of *Bemisia tabaco* and the potencial of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. *Biocontrol News and Information*. **14**: 71-78.

Soper, R.S. & M.G. Ward. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control. In “Biological control in crop production”, Barc Symposium No. 5” (G.C. Papavizas De), Allanheld, Asum, Monteclair, New Jersey. pp. 161-180.

Steel R.J. & J. Torrie. 1992. Bioestadística: principios y procedimientos. México. Mc Graw-Hill. Serie Schaun.

Steinhaus, E.A. 1947. Principles of Insect Pathology. Mc Graw-Hill, New York.

Syngentacropprotection-us.com/prodrender/index/.as?prodid=657. 2008

Syngentacropprotection-us.com/prodrender/index.asp?nav=OVERVIEW&Prodid=413

Syngentacropprotection-us.com/prodrender/index.asp?prodid=693

Tamez G. P., Galan W. L., Medrano R. H., García G. G., Rodríguez P. C., Gomez F. & R., Tamez G, R. 2003. Bioinsecticidas: Su Empleo, Producción y Comercialización en México. Agronet., Abril 15.

Tanada, T. & H. Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York. 666p.

Tigano- Milani, M.S. Honeycutt, R.J. Lacey, L.A. Assis, R., McClelland, M. & Sobral, B.W.S. 1995a. Genetic variability of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. *Journal Invertebrates Pathology* **65**: 274-282.

Tigano-Milani, M.S. Samson, R.A., Martins, I. & Sobral, B.W.S. 1995. DNA markers for differentiating isolates of *Paecilomyces lilacinus*. *Microbiology* **141**: 239-245.

Torres-Pacheco, Y., J.A. Garzón-Tiznado, J.K. Brown, A. Becerra- Flores, & R. Rivera- Bustamante. 1996. Detection and Distribution of geminivirus in Mexico and the Southern United States. *Phytopatology* **11**:1186-1192.

(uam.es/departamentos/economicos/econapli/fse03/discriminate.pdf), Método Fisher.

USDA, “United States Department of Agriculture, WHITEFLY KNOWLEDGEBASE” (www.ifas.ufl.edu/ent2/wfly/wfly001a.htm)

Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L.A. & Jackson, M.A. 1998. Effect of various liquid culture media on morphology, growth, propagule production, and pathogenic activity to *Bemisia argentifolii* of the entomopathogenic Hyphomycete *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycopathologia* **143**, 33 - 46.

Vincelli, P.C. & Lorbeer, J.W. 1989. BLIGHT-ALERT: A weather-based predictive system for timing fungicide applications on onion before infection periods of *Botrytis squamosa*. *Phytopathology* **79**: 493-498.

Vivas C., L.E. & Astudillo D. 2006. El control físico de las Plagas Agrícolas I; Métodos Pasivos. Revista Digital CENIAP HOY, Núm. **11**. Maracay, Aragua, Venezuela.

Wraight S.P., R.I. Carruthers, C.A. Bradley, S.T. Jaronsky, L.A. Lacey, P. Wood & Galaini-Wraight. 1998. Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **71**:217-226.

Www. **Corporate.Basf.com/en/ueberuns/?id=f5hwXD2PZbcp21V**

www. **Dicciomed.es/php/diccio.php?id=802**

www. **Dicciomed.es/php/diccio.php?id=1193**

www. **emeral bio.com/about.ctm**

www. **Monsanto.com**

www. **Syngenta.com**

ANEXO 1

ANEXO 2

Anexo 1 Listado de tablas

Tabla A. Ejemplos de algunos entomopatógenos comercializados en Mexico.

Tabla 1. Cepas utilizadas durante este estudio.

Tabla 2. Concentraciones de cada uno de los entomopatógenos utilizados en los bioensayos.

Tabla 3. Distribución en campo para la aplicación de fungicidas y formulados de los diferentes entomopatógenos para el bioensayo en campo.

Tabla 4. Porcentaje de Germinación y Conteo de esporas de cada uno de los productos utilizados durante los diferentes bioensayos.

Tabla 5. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 repeticiones del bioinsecticida *Beauveria bassiana* en presencia de los fungicidas comerciales y un Control a diferentes tiempos.

Tabla 6. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 repeticiones del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* (*Mycotech*) en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos.

Tabla 7. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 repeticiones del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* (México) ("MJ") en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos. Crecimiento en mm.

Tabla 8. Crecimiento Radial promedio en mm de 10 repeticiones del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* (México) ("MC") en presencia de los fungicidas comerciales y el Control a diferentes tiempos.

Tabla 9. Crecimiento Radial promedio en mm de 5 replicaciones del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* (E.U.A.) (medio Mark Jackson) en presencia de los fungicidas Tilt®, Bravo®, Quadris®, Top Cop®, y el Control a diferentes tiempos.

Tabla 10. Crecimiento de Conidias de *Beauveria bassiana* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tabla 11. Crecimiento de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tabla 12. Crecimiento de blastosporas del entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (México) (medio de Catalina) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tabla 13. Crecimiento de blastosporas de entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* México (medio MJ) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque muestreando cada hora durante 4 horas.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de conidias del bioinsecticida *Beauveria bassiana* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Tabla 16. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* Mty (medio Catalina) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Tabla 17. Resultados del porcentaje de Germinación (G) de blastosporas del bioinsecticida *Paecilomyces fumosoroseus* Mty (Medio Mark Jackson) al mezclar cada uno de los fungicidas en tanque despues de cada hora durante 4 horas.

Tabla 18. Porcentaje de micotoxicidad causado por conidias de *Beauveria bassiana* producidas por Mycotech© en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón(*Cucumis melo*).

Tabla 19. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

Tabla 20. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en E.U.A. en medio “Mark Jackson” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

Tabla 21. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Catalina” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

Tabla 22. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en México en medio “Mark Jackson” en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de melón (*Cucumis melo*).

Tabla 23. Tratamientos aplicados durante el estudio en campo de conidias de *B. bassiana* es cebollas

Tabla 24. Concentración aplicada de cada fungicida por cada 10 galones durante el segundo bioensayo en campo.

Tabla 25. Porcentaje de micotoxicidad causado por Mycotrol ES* en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de cebolla (*Allium cepa*).

Tabla 26. Porcentaje de micotoxicidad causado por blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* de Mark Jackson en pupas de 2do y 3er estadio de mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en plantas de cebolla (*Allium cepa*).



National Research, Action, and Technology Transfer Plan, 1997-2001

Second Annual Review of the Second 5-Year Plan

1999-2000

1-14-00

Silverleaf Whitefly

National Research, Action, and Technology Transfer Plan, 1997-2001: Second Annual Review of the Second 5-Year Plan

Investigator's Name(s): Tadeusz J. Poprawski, Gary W. Elzen, Nerla A. Silva Uribe¹, & Connie J. Veland.

Affiliation & Location: USDA-ARS, Beneficial Insects Research Unit, Weslaco, TX; Universidad Autonoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Monterrey, Mexico.

Research & Implementation Area: Section C: Chemical Control, Biopesticides, Resistance Management, and Application Methods.

Dates Covered by the Report: Fall and Winter 1998

In Vitro and In Vivo Compatibility of Selected Fungicides with Fungal Pathogens of *Bemisia* Whiteflies

Formulated fungicides tested were chlorothalonil [Bravo 6.0 flowable (F)], propiconazole [Tilt 4.17 F], azoxystrobin [Quadris 2.08 F], and sulfur-tribasic copper sulfate [Top Cop 6.25-1.0 F]. Rates [kg (AI)/ha] were: chlorothalonil 1.67, propiconazole 0.14, azoxystrobin 0.09, and sulfur-tribasic copper sulfate 3.47.

In Vitro Bioassay. Fungicides were mixed in Sabouraud dextrose agar to equivalent field rates. One fungal plug (1 cm diam.) consisting of mycelia only was transferred to the center of a Petri dish (10 dishes per treatment and control). Dishes were incubated at 25°C and 16:8 (L:D) h. The dishes of each treatment and control were incubated in isolation because volatile products or by-products could influence fungal growth on other treatment or control dishes. Radial growth was measured daily for 7 d. The 7-d cumulative growth data were analyzed by one-way ANOVA. After the 7-d incubation period, *B. bassiana* radial growth was 38.5 mm in the controls and 3.5, 4.4, and 11.3 mm on the Bravo, Quadris, and Top Cop treated agar, respectively. No growth occurred on the Tilt-treated agar plates. Treatment effects were significantly different ($P < 0.001$). *P. fumosoroseus* radial growth at day 7 was 37.4 mm on the control plates, 0 mm on the Tilt plates, and 7.7, 8.6, and 26.8 mm, on the Bravo, Quadris, and Top Cop plates, respectively ($P < 0.001$). We transferred the mycelial plugs from the Tilt treatments to untreated agar plates and examined them for 7 d for any sign of regrowth. No regrowth occurred. We concluded that Tilt was fungitoxic and that the other fungicides were moderately to strongly fungistatic to both fungi.

Spray Chamber In Vivo Bioassay. A laboratory spray chamber, calibrated to deliver 282 liters/ha using 3 TXVS-6 nozzles (2 on drops) at 2.2 kg/cm², and 4.8 km/h, was used to apply fungicides to whitefly-infested melon leaves (30 early 3rd instar nymphs per leaf; 4 replicated leaves per treatment), either 2 days before [2DB], on the same day (3 h before the fungi) [SD], or 2 days after [2DA] spray application of spore (aerial conidia) suspensions of *B. bassiana* and *P. fumosoroseus*. On SD, each leaf was sprayed with one 2-ml aliquot of spore suspension using a Potter spray tower. Each spore suspension was sprayed at a pressure of 0.7 kg/cm² using the fine spray nozzle (0.25 mm orifice diameter) provided with the tower. Dosages, estimated from spore counts taken from cover slips placed alongside the leaves in the spray arena of the Potter tower, were 808 ± 86 and 752 ± 188 spores/mm² for *B. bassiana* and *P. fumosoroseus*, respectively. Treated and control (0.01 % aqueous Tween 80) leaves were then isolated individually in vented plastic Petri dishes, and incubated for 24 h at 25°C and 100% RH under a photophase of 16:8 (L:D) h. Thereafter, leaves were maintained under similar temperature and light regimes, but at 50-55% RH. The dishes of each treatment and control were incubated in isolation for the reason given above. Whiteflies were scored for mycosis 7 days after spore application. The angular values of proportion mycosis were analyzed by one-way ANOVA. Means were separated using the Tukey HSD test. Untransformed means are presented. In the *P. fumosoroseus* series, control mycosis (95.4%) was higher but not significantly different from mycosis in the 2DB, SD and 2DA Top Cop ($P = 0.598$), the 3 Quadris ($P = 0.077$), and the 3 Tilt ($P = 0.057$) treatments. Mycosis rate was 71.7, 49.1, and 65.8% in the 2DB, SD, and 2DA Bravo treatments, respectively [$P = 0.007$; Tukey test: control (a), 2DB (ab), SD (b), 2DA (b)]. In the *B. bassiana* series, control mycosis (81.2%) was significantly higher than mycosis in any of the 3 Bravo [$P < 0.001$; Tukey test: control (a), 2DB (26.7%b), SD (18.3%b), 2DA (45.0%b)] and any of the 3 Tilt [$P < 0.001$; Tukey test: control (a), 2DB (57.5%b), SD (41.7%b), 2DA (40.8%b)] treatments. Significant differences also were found in the Quadris treatments [$P = 0.001$; Tukey test: control (a), 2DB (65.8%ab), SD (63.3%bc), 2DA (45.8%c)] and in the Top Cop treatments [$P = 0.005$; Tukey test: control (a), 2DB (38.3%b), SD (48.3%b), 2DA (60.8%ab)]. At all 3 times of application, the fungicides were generally more compatible *in vivo* with *P. fumosoroseus* than with *B. bassiana*.