



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

6
240

CAMPUS IZTACALA

COMPATIBILIDAD *IN VITRO* DE LOS HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS: *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin Y
Paecilomyces fumosoroseus (Wize) Brown & Smith CON PLAGUICIDAS
QUÍMICOS Y PRODUCTOS AGRÍCOLAS UTILIZADOS EN LOS
AGROECOSISTEMAS

T E S I S:

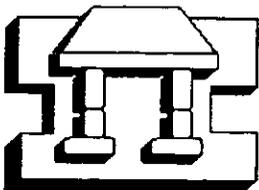
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

MIGUEL ANGEL AYALA ZERMEÑO

ASESOR (A): DRA. CONCHITA TORIELLO N.



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, EDO. DE MEX., 1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

267458



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi querida madre la Sra. Lybia Zermeño A por todo su amor y apoyo incondicional.

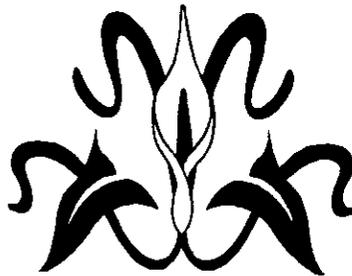
A mi padre el Sr. Emiliano Ayala Aguilar, porque es el mejor hombre que he conocido y ha sido para mí un ejemplo a seguir.

A mis hermanos Susana Ayala Zermeño, Verónica Concepción Ayala Zermeño, Emiliano Ayala Zermeño, Marcos Antonio Ayala Zermeño y Roberto Pablo Ayala Zermeño por los fuertes lazos que existen entre nosotros.

A mis sobrinas Lybia, Estefanía y Mónica que en ellas se encuentran puestas las esperanzas del futuro de mi familia.

A mi abuelita la Sra. Concepción Archundia González, a la cual le guardo mucho cariño y respeto.

Finalmente a toda la familia, especialmente a los que hayan creído siempre en mí.



AGRADECIMIENTOS



Mi más sincero agradecimiento a la Dra. Conchita Toriello N., jefe del Laboratorio de Micología Básica, Facultad de Medicina (UNAM), por su apoyo en la dirección de la presente investigación. Sobre todo por la comprensión y trato cordial hacia mí.

Agradezco al Dr. Arturo Aroch del Depto. de Salud Pública de la Facultad de Medicina, al Biól. Ariel Guzmán F., y al Pasante Mario Zúñiga D. del Laboratorio de Patología de Insectos del Colegio de Postgraduados de la Universidad Autónoma de Chapingo, por su apoyo en el uso de los programas estadísticos para cómputo.

Agradezco la revisión de la presente investigación a los maestros, M. en C. Jorge Padilla R., Biól. Ana Lilia Muñoz V., Biól. Irene Frutis M. y Dr. Rodolfo de la Torre A., todos ellos profesores de la carrera de Biología, Campus Iztacala.

Gracias al Biól. Mohamed Ali Morales P. por su amistad y ayuda desinteresada brindada en el uso general de la computadora.

Un agradecimiento muy especial para Hortencia Navarro B. cuyas enseñanzas sirvieron para mi desempeño adecuado en el trabajo de laboratorio.

Muchas gracias a Amelia Pérez M., Eugenia Flores R., Gabina Arenas L., Gabriela Rodríguez A., Esperanza Duarte E. y Sr. Aniceto Gámez A., por el trato cordial y agradable compañía, lo cual hizo más placentera, mi estancia en el laboratorio. También a todas las personas que conocí y con las que establecí lazos de amistad.

Agradezco especialmente a mis amigos, Andrés Herrera M., Armando Hernández P., Rafael Martínez G., Carlos Antonio Vital C., Omar Ortega V., y a todos los que así se consideren.



CONTENIDO

	Pags.
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
CONTENIDO	III
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
OBJETIVOS	17
• Objetivo general	17
• Objetivos particulares	17
MATERIAL Y MÉTODOS	19
Hongos	19
Productos agrícolas a ensayar	19
• Adherentes/Surfactantes	19
• Fertilizantes	20
• Insecticidas químicos	20
• Fungicidas	22
Métodos de ensayos preliminares	24
• Evaluación del método de Li & Holdom (1994), para observar el crecimiento fúngico	24

• Método de Li & Holdom (1994) modificado para la cuantificación de la suspensión conidial más adecuada para las pruebas de compatibilidad	24
• Evaluación del medio óptimo para las pruebas de compatibilidad	25
• Evaluación de la temperatura óptima para las pruebas de compatibilidad	25
• Evaluación del efecto del tween 20 y 80 sobre el crecimiento de los hongos	26
Método de crecimiento radial en medio impregnado con plaguicidas químicos y productos agrícolas utilizados	26
Análisis estadístico	29
Morfología	30
RESULTADOS	31
DISCUSIÓN	53
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
APÉNDICE	66
ÍNDICE DE TABLAS	68
ÍNDICE DE FIGURAS	70

RESUMEN

Metarhizium anisopliae y *Paecilomyces fumosoroseus* son hongos entomopatógenos utilizados como ingredientes activos en insecticidas biológicos, para el combate de las plagas de la mosca pinta y la mosquita blanca respectivamente. En el presente trabajo se examinó la compatibilidad de las cepas EH-350 de *Metarhizium anisopliae* y EH-349 de *Paecilomyces fumosoroseus* aisladas de la mosca pinta (Homoptera: Cercopidae) y mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) respectivamente, con insecticidas químicos empleados en el combate de estas dos plagas, así como con otros productos agrícolas y fungicidas, de acuerdo al porcentaje de inhibición (% I) del crecimiento de los hongos estudiados. Se realizaron pruebas con siete adherentes/surfactantes, dos fertilizantes, siete insecticidas, y dos fungicidas. Se ensayaron dos concentraciones por producto de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo con uno o ambos hongos. El experimento se realizó por triplicado en cajas de Petri con APD impregnado con los productos agrícolas anteriormente citados, incubados a 28°C, durante 10 días. Posteriormente se obtuvo el porcentaje de inhibición (% I) del crecimiento con base en el crecimiento del testigo y de cada tratamiento (tres experimentos para cada hongo y concentración ensayada) para observar las compatibilidades entre los hongos y los productos probados. Entre los adherentes/surfactantes ensayados, los resultados mostraron el mejor crecimiento radial de *M. anisopliae* con Penetrator y Kinetic, y *P. fumosoroseus* con los mismos, más Adhefix 12 y Kaytar; ambos hongos fueron compatibles con los dos fertilizantes usados ya que no mostraron inhibición del crecimiento. Con respecto a los insecticidas químicos estos inhibieron de manera variable el crecimiento de los hongos. Para *M. anisopliae* se observó el mejor crecimiento con Dipterex (organofosforado) y Corsair (piretroide) y un elevado % I (> de 71 %) con ambas concentraciones de Biothion y Diazinon (organofosforados). *P. fumosoroseus* mostró un buen crecimiento con Biometta (organofosforado) y Biosulfan (organoclorado) con % I entre 10 y 38 %; y poco crecimiento con Biothion y Diazinon (organofosforados) con elevados % I (> 83 %). Los fungicidas Benlate y Biocaptan mostraron incompatibilidad por su total inhibición del crecimiento de ambos hongos. Se sugiere la selección adecuada de los adherentes/surfactantes para cada hongo, la utilización de los fertilizantes ensayados al mismo tiempo que la aplicación del insecticida biológico, la aplicación por separado con los insecticidas químicos, y un cuidadoso manejo de los fungicidas en aplicaciones separadas, para no interferir con la actividad del biológico.

INTRODUCCIÓN

La agricultura intensiva, con el afán de elevar la producción y productividad, ha usado y abusado de los plaguicidas químicos para combatir los insectos y las enfermedades que le disputan el alimento al hombre. Algunas plagas son el resultado directo del uso irracional de agroquímicos que después de ser utilizados por un tiempo llegan a ser ineficaces para controlar dichas infestaciones (Ramírez, 1996). Ante la aparición de problemas de resistencia de las plagas a los plaguicidas químicos, resurgimiento de otras, explosión poblacional de plagas secundarias a consecuencias de uso indiscriminado de esos productos, surge un nuevo concepto, el manejo integrado de plagas (MIP). Este último hace referencia a una filosofía que utiliza los principios ecológicos para manejar económicamente plagas clave en el agroecosistema de un cultivo dado. Usando para ello todas las técnicas y métodos que se consideren los más adecuados y compatibles para manejar en lo posible, las poblaciones de plagas a niveles por debajo del umbral de daño económico. Los métodos y técnicas, utilizados por el manejo integrado de plagas son dependientes al máximo del control natural de las poblaciones de plagas, combinando técnicas tales como métodos culturales, enfermedades específicas del insecto, variedades resistentes, insectos estériles, atrayentes, control biológico y aplicaciones de insecticidas químicos selectivos que puedan contribuir al control de la plaga (García y Byerly, 1995). Recientemente también se habla del manejo ecológico de plagas (EBPM, siglas en inglés), esta naciente filosofía apela en contra del MPI, porque considera que este último solo se aboca al control de insectos plaga, sin tomar en cuenta los otros tipos de organismos plaga que integran el agroecosistema. El enfoque de ambas filosofías es muy similar, ya que el EBMP plantea el conocimiento de las plagas utilizando para su control suplementos químicos y biológicos. Recomienda además las prácticas agrícolas que aumentan los procesos naturales, que mantienen controlada a una población plaga. Dichas prácticas se ven reforzadas por el uso de organismos y productos para el control biológico, plantas resistentes y pesticidas químicos de espectro reducido (Lorence, 1996). En vista de lo anterior, el considerar alternativas a los plaguicidas químicos, como por ejemplo el control biológico, es relevante para la conservación de los agroecosistemas. Estos mecanismos de control natural se abocan al estudio de parásitos, patógenos y depredadores en la regulación de las densidades de población de los huéspedes y presas. El control biológico a pesar de ser en sí un fenómeno que se da en la naturaleza, puede ser aprovechado por el hombre con fines utilitarios en la lucha contra las plagas (DeBach, 1987). Los agentes de control biológico son los más prometedores para poder llevar a cabo, el manejo

integrado de plagas o cualquier otro tipo de acciones fitosanitarias. En este contexto deben ser consideradas todas las condiciones ambientales bajo las que el biorregulador natural desempeña su función de manera óptima. Entre los principales agentes de control biológico se encuentran virus, bacterias, protozoarios, nemátodos, hongos e insectos.

Existe una amplia gama de hongos taxonómicamente diferentes que ocasionan enfermedades en insectos y artrópodos pero son pocos los que se han estudiado en forma intensiva hasta la fecha (Deacon, 1988). Las enfermedades ocasionadas por hongos en insectos son comunes, se extienden fácilmente y a menudo diezman poblaciones en epizootias espectaculares. Una epizootia es un evento que se da en las poblaciones naturales, donde los individuos enfermos de una población hospedera o área determinada se presentan en cantidades elevadas de casos no comunes, originadas por un patógeno al presentarse las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo. Los hongos entomopatógenos (llamados así porque causan enfermedad en insectos), infectan principalmente penetrando a través de la cutícula del hospedero (Hajek y St. Leger, 1994). El hábitat de los hongos entomopatógenos, engloba una gran gama de hábitats que incluyen cuerpos de agua dulce, suelo, superficie del suelo, etc. Dadas las cualidades de este grupo de hongos como patógenos de insectos, es lo que ha permitido catalogarlos como entomopatógenos por excelencia. Sus características han hecho ver a los investigadores su potencial para el control biológico de plagas agrícolas que ante la actual situación donde cada vez más se hace uso indiscriminado de plaguicidas químicos en los agroecosistemas, bien puede constituir una alternativa que vaya de acuerdo con los principios de conservación del ambiente. Por consiguiente surge recientemente el interés en los micoinsecticidas. No obstante, que se conocen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos, solamente diez, son los que presentan desarrollo como controladores biológicos, siendo así que el gran potencial de estos hongos, no ha sido bien desarrollado y aprovechado (Samson *et al.*, 1988; Roberts, 1989).

Fue Pasteur, el que hace más de un siglo ya pronosticaba el potencial de los hongos entomopatógenos, por su papel como biorreguladores naturales de plagas. En épocas contemporáneas, Ronald Thaxter micólogo de la Universidad de Harvard, fue el primero en caracterizar este grupo de hongos al realizar estudios y ver los efectos devastadores ocasionados por estos, en insectos del grupo de los áfidos. Entre los hongos entomopatógenos más importantes se encuentran un grupo de especies a las que solo se les conoce el estado asexual anamorfo. Aquí se ubica *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, cuyo estudio data desde 1879. A pesar de ser conocido por sus propiedades entomopatógenas, es solo a partir de los últimos veinte años cuando se ha contemplado producirlo masivamente e

implementar su uso para el control biológico de insectos. Ha sido descrito como parásito para alrededor de 200 especies de insectos, en diferentes órdenes como: Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Lepidoptera, Diptera, Siphonaptera, Symphyla, Himenoptera y Coleoptera, incluyendo alrededor de 70 especies de escarabajos (Scarabaeidae) (Glare y Jackson, 1992). Una especie más de *Metarhizium* descrita como patógena de insectos, es *Metarhizium flavoviride* Gams & Roszypal. Igualmente reconocido es el género *Beauveria* que tiene registrado un número de hospederos rebasando las 500 especies de insectos, en su mayoría en los órdenes Lepidoptera y Coleoptera (Hall y Papierok, 1982), aunque también se ha encontrado en Diptera, Homoptera, Siphonaptera y Orthoptera (Laird *et al.*, 1990). La más común de las especies del género es *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, que se encuentra en diversas especies de insectos y es uno de los hongos entomopatógenos más comunes a nivel mundial (Samson y Evans, 1982). Se conoce además otra especie del género que es patógena de insectos, *B. amorpha* (Hohn.) Samson & Evans. Otro integrante más de este grupo de hongos entomopatógenos es *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas, el cual tiene amplia distribución en la naturaleza y puede provocar grandes epizootias en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos de invernaderos. Sus hospederos más comunes son áfidos y las mosquitas blancas (Homoptera), pero también ha sido encontrado en los órdenes Orthoptera, Coleoptera, Diptera y ácaros eriófidios (Mier *et al.*, 1991). Se añaden a estos los hongos del género *Paecilomyces* del cual se conocen catorce especies entomopatógenas (tres de ellas en coleópteros). Las dos especies más comunes son *P. fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y *P. farinosus* (Holm ex SF Grey) Brown & Smith, que causan enfermedad a gran variedad de insectos en diversos lugares del mundo (Samson, 1974). Entre otros géneros, *Hirsutella* contempla un considerable número de especies de gran relevancia como enemigos naturales de ácaros e insectos. Entre estas especies se pueden mencionar a *Hirsutella thompsonii* Fisher y *H. entomophila* Pat.

Otro grupo importante de entomopatógenos son los Zygomycetes que tienen micelios cenocíticos, multinucleados y pueden producir cigosporas como esporas sexuales producto de la fecundación sexual por gametangios. Muchos cigomicetos entomopatógenos se encuentran en el orden de los Entomophthorales. Entre los más importantes están los géneros *Erynia* y *Conidiobolus*, que han sido ampliamente estudiados por su potencial como agentes de control biológico de áfidos. En México, se han descrito alrededor de 12 especies de Entomophthorales parasitando insectos: *Conidiobolus apiculatus* (Thaxter) Remaudière & Keller, *C. coronatus* (Constatin) Batko, *C. major* (Thaxter) Remaudière & Keller, *C. obscurus* (Hall & Dunn) Remaudière & Keller, *Entomophthora muscae*

(Cohn) Fres., *E. planchoniana* Cornu, *Erynia dipterigena* (Thaxter) Remaudière & Hennebert, *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert y *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Remaudière & Keller, (Remaudière y Latgé, 1985).

Los hongos entomopatógenos son particularmente importantes para el control biológico de plagas de coleópteros, ya que las enfermedades bacterianas y vírales se presentan raramente en escarabajos (Hajek y St. Leger, 1994).

Entre las marcas registradas de estos hongos a nivel mundial contra diversas plagas existen los siguientes:

- *Beauveria bassiana*: Boverin® contra *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera) y *Cydia pomonella* (Lepidoptera) en la U.R.S.S.; producto sin marca contra *Dendrolimus punctatus*, *D. tabulaeformis* y *Ostrinia furnacalis*, (Lepidoptera) en China (Laird *et al.*, 1990). Mycotrol contra mosquita blanca (Homoptera), áfidos (Homoptera) y trips en los Estados Unidos; Bea-Sin contra *Anthonomus grandis* (Coleoptera) en México; Naturalis-O contra diversas plagas en Estados Unidos; Ostrinil contra *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera) en Francia; N.D. contra mosquita blanca (Homoptera) en Estados Unidos (Lorence, 1996).

- *Hirsutella thompsonii*: Mycar® contra *Phyllocoptruta oleivora* (Actiniedida: Eriophyidae; según Krantz, 1978) en los Estados Unidos (Laird *et al.*, 1990).

- *Metarhizium anisopliae*: Biocontrol®, Biomax®, Combio®, Metapol®, Metaquino® y Metabiol® contra la mosca pinta (Homoptera) en Brasil (Laird *et al.*, 1990). Bio-Path contra *Blatella germanica* (Orthoptera) en los Estados Unidos; Meta-Sin contra *Aeneolania postica* (Homoptera) en México (Lorence, 1996) y Salivax® contra la mosca pinta en Centroamérica y México (Toriello, 1997).

- *Paecilomyces fumosoroseus*: Pae-Sin contra mosquita blanca en México (Lorence, 1996) y Bichox® contra mosquita blanca en Guatemala (Toriello, 1997).

- *Verticillium lecanii*: Vertalac® contra áfidos; Micotal® contra mosquita blanca y Thriptal® contra trips en Inglaterra (Laird *et al.*, 1990).

Estos biopreparados han resultado ser inocuos en vertebrados como lo demuestran los experimentos en animales de experimentación como hámsters, ratones, cobayos, etc. por diversos investigadores (Ignoffo, 1973a, 1973b; Toriello y Mier, 1985; Mier *et al.*, 1989, 1994; Siegel y Shaddock, 1990).

Al hacer uso de los hongos entomopatógenos con fines de control de plagas es necesario considerar la temperatura, humedad relativa, movimiento del aire y radiación solar dado que todos estos

son factores determinantes en la persistencia e inicio del proceso de infección, después de ser aplicados en un cultivo. Por ello, es importante investigar la época del año para asegurar un microclima favorable que permita el desarrollo de enfermedades en las poblaciones de la plaga que se desee controlar (Ramírez, 1996).

Una de las habilidades de los hongos entomopatógenos es la de degradar las proteínas de la cutícula del insecto huésped. Dicho mecanismo ha sido estudiado por diversos investigadores (Goettel *et al.*, 1989; St. Leger *et al.*, 1991; Boucias y Pendland, 1991; Charnley y St. Leger, 1991; St. Leger *et al.*, 1992; Hayek y St. Leger, 1994; St. Leger *et al.*, 1995a), y consiste desde la penetración de la cutícula a la subsecuente absorción de nutrientes de los líquidos corporales del insecto. La cutícula del insecto comprende una delgada epicutícula de lípidos y proteínas que cubren a la gruesa procutícula conformada por microfibrillas de quitina, embebidas en proteína lo cual le confiere resistencia mecánica y gran resistencia biológica por la asociación de dichos componentes (Figura 1). Durante la penetración

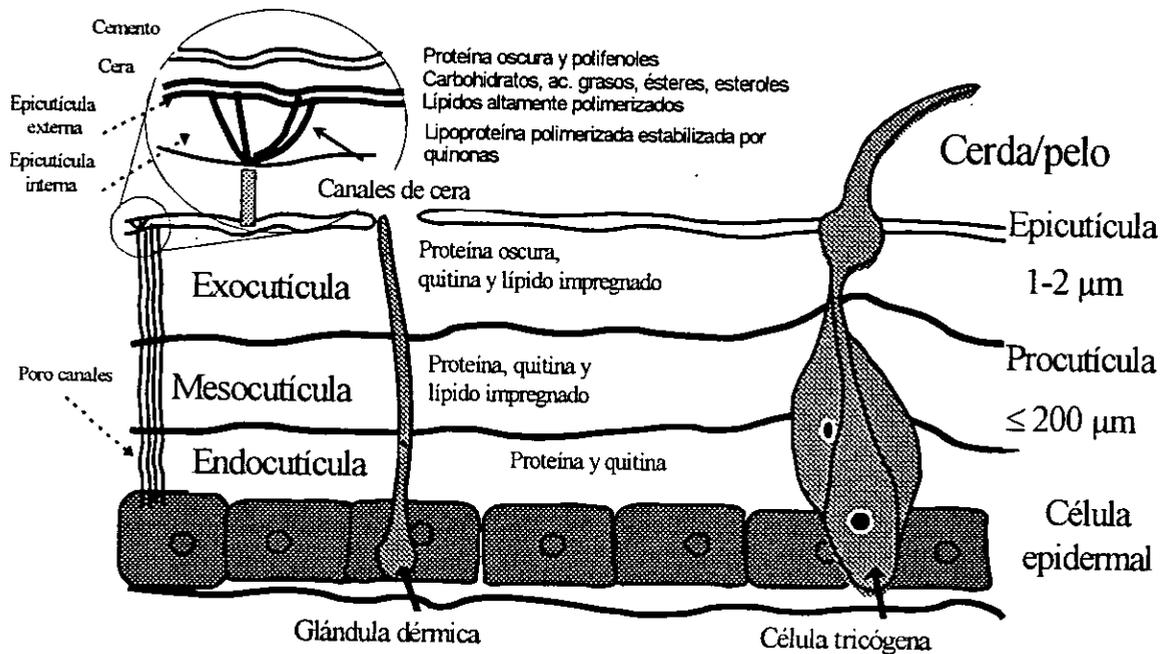


Figura 1. Estructura de la cutícula del insecto (Modificado de Charnley y St. Leger, 1991).

cuticular, el hongo se desplaza a través de diferentes ambientes, respondiendo positivamente gracias a los procesos bioquímicos adaptativos que ha desarrollado, además de sus dotes para la diferenciación celular, al generar una serie de estructuras de morfología específica (Figura 2). Por ejemplo, durante el

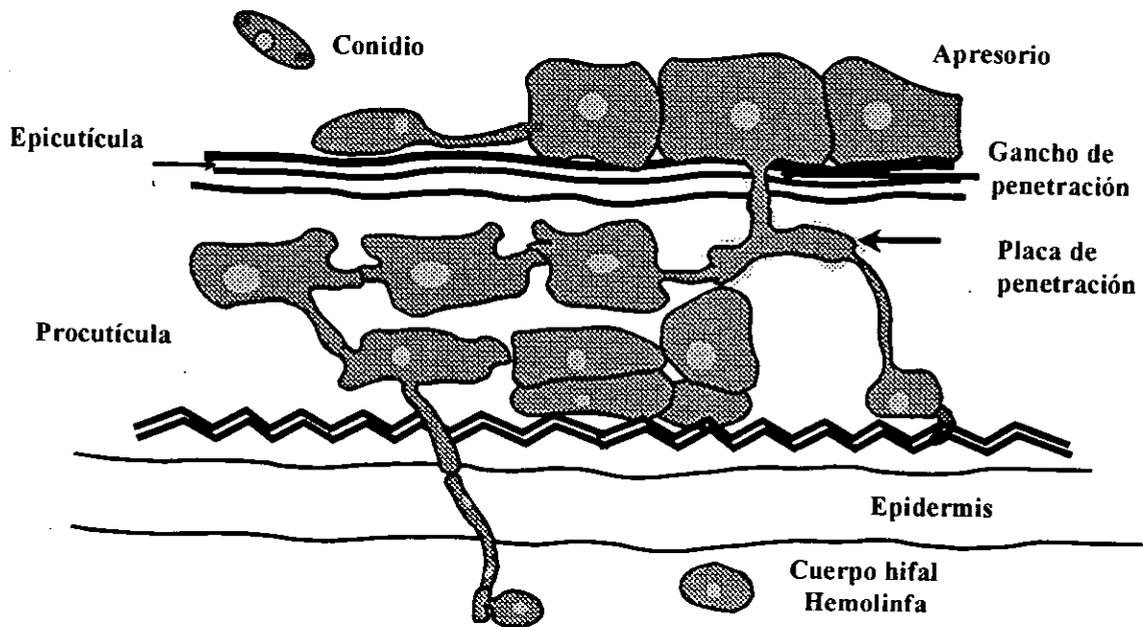


Figura 2. Esquema general del mecanismo de penetración cuticular de los hongos entomopatógenos (Modificado de Charnley y St. Leger, 1991).

proceso de infección de *M. anisopliae*, una vez que el conidio del hongo se fija a la superficie cuticular desarrolla un tubo germinativo. Es a partir de este último que se desarrollan los apresorios (localizados aún en la superficie de la cutícula). Posteriores a éstos se forman ganchos de penetración que penetran a través de la cutícula ejerciendo para ello una presión física y la degradación gracias a enzimas (en la epicutícula). Subsecuentemente se generan hifas y placas penetrantes (en la procutícula), finalizando con cuerpos hifales levaduriformes o blastosporas que se dispersan a través del hemocele, el insecto muere a los pocos días, asfixiado por el micelio y envenenado con las toxinas producidas por el hongo (Figuras 3 y 4) (Hajek y St. Leger, 1994).

Mediante trabajos de clonación es como se pueden seleccionar características únicas de cepas entomopatógenas destacando las especies con estado asexual anamorfo, lo que ha llevado al estudio de

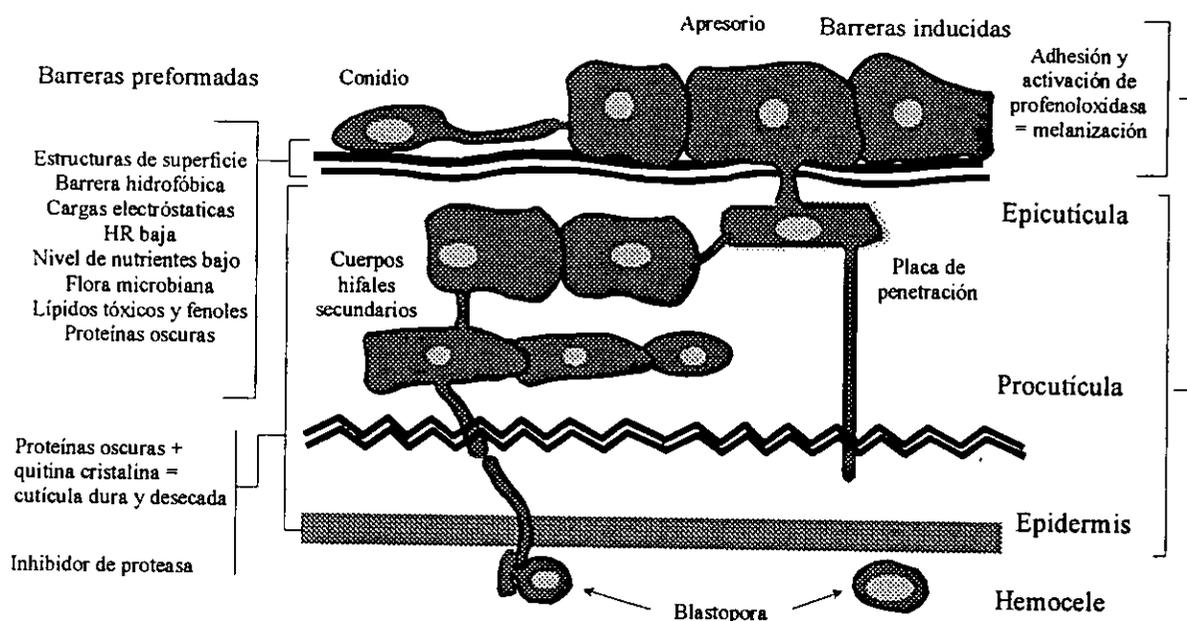


Figura 3. Esquema de las estructuras de infección de *Metarhizium anisopliae* y las barreras de resistencia del insecto (Modificado de Hajek y St. Leger, 1994).

genes estructurales cuyos productos son requeridos para la patogénesis. Los avances obtenidos están basados particularmente en una especie, *Metarhizium anisopliae*, donde las investigaciones realizadas permitieron vislumbrar la existencia de varias clases de genes de patogenicidad, que presentan funciones muy diversas dentro del complejo proceso de la patogénesis. Algunos de estos genes pueden codificar receptores para detectar directa o indirectamente la presencia de un hospedero, una vez detectado el hospedero, otro grupo de genes muy importantes codifican las enzimas necesarias (las llamadas proteasas Pr1 de *M. anisopliae*), que permiten al hongo penetrar las barreras físicas, como lo es la cutícula del insecto. Adicionalmente otro grupo de genes entra en acción inactivando las defensas del huésped o en dado caso codifican las toxinas necesarias para que se desarrolle la enfermedad. Estas investigaciones han permitido la selección de genes importantes de este grupo de hongos y no es difícil imaginar que en un futuro no lejano sea común la manipulación de estos genes por medio de técnicas de ingeniería genética (St. Leger, 1995b). Un ejemplo al respecto es la transformación de *M. anisopliae* lograda por Goettel *et al.* (1990), quienes descubrieron un gen resistente a benomil en el hongo

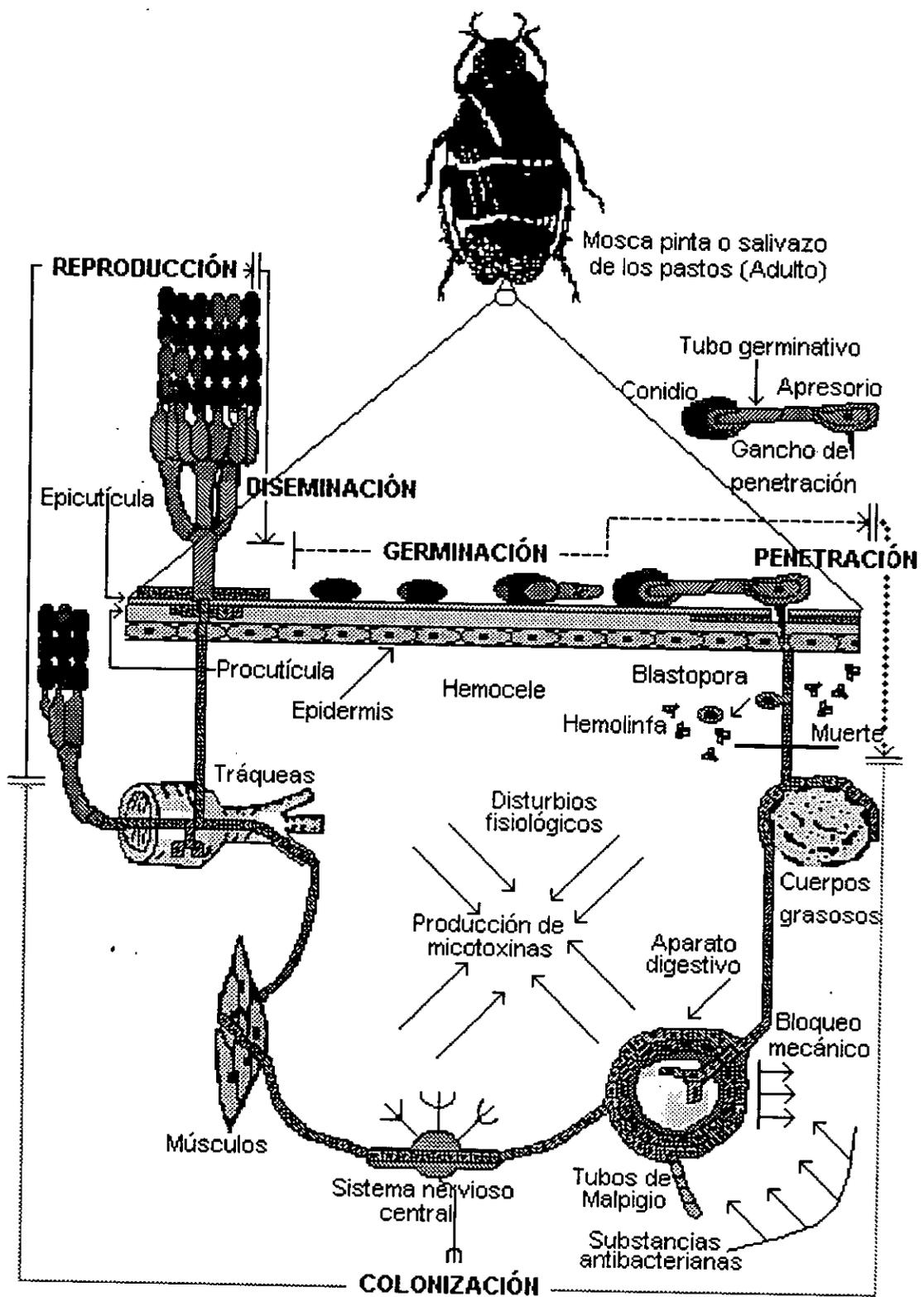


Figura 4. Representación esquemática de las relaciones patógeno - hospedero (*M. anisopliae* - mosca pinta), (modificado de Alves, 1986).

Aspergillus nidulans, el cual se insertó por fusión de protoplastos en *M. anisopliae*. El gen se expresa en *M. anisopliae*, mostrando resistencia al mencionado fungicida, que en condiciones normales le resultaría letal. La transformación genética realizada con esta especie permitirá el uso del hongo como agente de control biológico, aún cuando sea aplicado simultáneamente con el benomil en el campo. La inducción de genes seleccionados de hongos entomopatógenos, a otros microbios y plantas será con el único fin de crear agentes de control biológico sumamente eficaces, que no causen impacto adverso en los agroecosistemas (St. Leger, 1995b).

En México, una de las plagas más importante es la conocida como mosca pinta o salivazo de los pastos, insectos pertenecientes a los homópteros *Aeneolamia albofasciata* (Walk.) y *Prosapia simulans* (Walk.) (Familia: Cercopidae) (Riess y Flores, 1976). Estas plagas han mermado la productividad de pastizales, caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays*) y otras gramíneas, en extensas áreas del país. Su ciclo biológico consta de tres estados: huevecillo, ninfa y adulto; la denominación de salivazo de los pastos se refiere al estado ninfal, ya que en este momento los insectos cubren su cuerpo con una secreción blanquecina que tiene consistencia y aspecto de saliva. Los daños causados por esta plaga varían con respecto a la etapa del ciclo de vida en la que se encuentren. Las ninfas se alimentan de los jugos de la raíz y de las células del parénquima de los tallos. Mientras que los adultos causan el daño al alimentarse de retoños y hojas. Las zonas más afectadas por la plaga están ubicadas a una altitud de 0 y 200 metros, y los factores que influyen en la aparición de la plaga son la temperatura media, la humedad relativa y la precipitación pluvial. Cuando estas condiciones son óptimas, pueden existir hasta cuatro generaciones de mosca pinta en una sola temporada de lluvias. En México, existen antecedentes de la plaga desde 1876. En 1952 se registraron fuertes infestaciones en la huasteca veracruzana y potosina y al sur de Tamaulipas. Desde entonces, extensas áreas de los litorales del Golfo de México y Océano Pacífico han sido presa de esta plaga, lo que ocasiona cuantiosas pérdidas en la ganadería al quedar los animales sin su fuente de alimento y de medrar los campos sembrados con caña de azúcar y cultivos como el arroz y el maíz, productos básicos para la alimentación humana (Coronado, 1978).

En Brasil, por la resistencia de este insecto (cigarrinha: *Mahanarva posticata*, Homoptera: Cercopidae) a los insecticidas químicos, se ha utilizado *M. anisopliae*, en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Ferron, 1981). Actualmente se utiliza comercialmente el hongo en varios países productores de caña contra plagas de cercopídeos (Azañon, 1996).

Por otro lado, los también homópteros *Bemisia tabaci* (Gennadius), *Trialeurodes vaporariorum* (Westood) y *Bemisia argentifolii* (biotipo B de *Bemisia tabaci*) (Familia: Aleyrodidae) conocidos comúnmente como mosquita blanca, son una plaga cosmopolita que ataca una gran variedad de cultivos. El origen de las especies de importancia económica para nuestro país no es muy claro, se piensa que es posible que *B. tabaci* y *B. argentifolii* hayan sido introducidas a América, provenientes de países asiáticos (Irak o Pakistán), mientras que las especies de género *Trialeurodes* son originarias del nuevo mundo. Es en 1962, cuando se considera a la mosquita blanca como una plaga de importancia económica por la pérdida de numerosas cosechas en la zona algodonera de Soconusco, Chiapas (Romero, 1995). Entre los cultivos relevantes de importancia económica que ataca esta plaga se encuentran: Cucurbitáceas, *Citrullus lanatus* (Sandía), *Cucumis melo* (Melón), *C. sativus* (Pepino); Leguminosas, *Glicine max* (Soya), *Phaseolus vulgaris* (Frijol, habichuela, caraota); Malvaceas, *Gossypium hirsutum* (Algodón); Solanáceas, *Capsicum annuum* (Chile dulce, chiltoma, pimentón), *Lycopersicon esculentum* (Tomate), *Nicotiana tabacum* (Tabaco), *Solanum melongena* (Berenjena), *S. toberosum* (Papa); Compuestas *Helianthus annuus* (Girasol) y plantas ornamentales (Hilje, 1994). El daño causado por estos insectos varía con respecto a su etapa de desarrollo. Los instares jóvenes y el adulto se alimentan succionando la savia del floema localizada en el envés de las hojas, causando defoliación (interfiriendo con la fotosíntesis y la respiración), achaparramiento y bajos rendimientos; así mismo excretan mielecilla que provoca el desarrollo de fumaginas, por lo que los frutos requieren de lavado, incrementando costos de producción. Los adultos de la mosca blanca a su vez transmiten una gran variedad de geminivirus que achaparran las plantas y reducen el rendimiento. Además la plaga causa desórdenes fisiológicos por las toxinas que excreta al alimentarse, como son la maduración irregular en frutos de tomate, hoja plateada en calabaza, decoloración de raíz en zanahoria y en el tallo del brócoli (Ramírez, 1996). Con base en lo anteriormente expuesto es posible visualizar las numerosas pérdidas económicas ocasionadas por esta plaga en la productividad de los cultivos. Aunado a estos problemas, la plaga ha desarrollado un aumento marcado de resistencia contra insecticidas químicos lo que ha repercutido en la problemática que presenta su control mediante el uso de estos productos (Mier *et al.*, 1991).

La resistencia de la mosquita blanca a insecticidas químicos ha hecho necesario buscar métodos alternativos de control, constituyendo uno de estos el uso de hongos entomopatógenos, incorporados a un programa de manejo integrado de plagas. A la fecha, entre las especies reportadas que cumplen este fin son: *Aschersonia* spp., *Acremonium* sp., *Aegerita webberi*, *Aphanocladium album*, *Beauveria*

bassiana, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium aphidis*, *Erynia radicans*, *Fusarium scirpi* (*F. aleyrodis*), *Fusarium verticillioides*, *Microcera* sp. (actualmente *Fusarium* o *Pseudomicrocera*), *Paecilomyces cinnamomeus* (descrita como *Verticillium cinnamomeum*), *Paecilomyces farinosus*, *P. fumosoroseus*, *P. fumosoroseus* var. *beigingensis*, *Sporotrichum* sp. (probablemente *Beauveria* sp.), *Trichothecium roseum*, *Verticillium fusisporum* y *Verticillium lecanii*. Sin embargo en forma comercial, solamente se han usado *Verticillium*, *Paecilomyces* y *Beauveria* (Ramírez, 1996).

En México, existe una gran dependencia del uso de insecticidas químicos para el combate de plagas de insectos, dado que estos productos producen un efecto inmediato en poblaciones susceptibles y pueden poner bajo control, rápidamente, grandes poblaciones de insectos (Tabla 1). La escasez de información sobre el manejo de estos productos ha generado su uso intensivo, en consecuencia existen graves desequilibrios en los agroecosistemas, hecho que favorece la aparición de nuevas plagas y de razas más agresivas que incrementan las ya existentes. El uso indiscriminado de insecticidas abarca todos los sectores de la producción. El conocimiento del grado de susceptibilidad o resistencia que han alcanzado las plagas a los insecticidas, constituye una herramienta básica para la planeación y manejo de los mismos, con el fin de evitar la aparición de razas de insectos resistentes e incrementar la vida útil

Tabla 1. Ingredientes activos utilizados en México para el control químico de la mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) y salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en cultivos de importancia económica.

<p>Ingredientes activos contra la mosquita blanca: metamidofós, diazinón, malatión, endosulfán, naled, carbofurán, aldicarb, monocrotofós, metidatión, oxidemetón metílico, acefato, dimetoato, mevinfós, diclorvós, fosfamidón, omeotoato, disulfotón, flualinato, amitraz, bifentrina.</p> <p>Principales especies que integran la plaga de la mosquita blanca: <i>Bemisia tabaci</i>, <i>Bemisia argentifolii</i>, <i>Bemisia</i> sp., <i>Trialeurodes vaporariorum</i>, <i>T. packardi</i>.</p> <p>Ingredientes activos contra el salivazo de los pastos: diazinón, malatión, endosulfán, permetrina, carbarilo, triclorfón, naled, carbofurán, aldicarb, monocrotofós, metidatión, azinfós metílico, fentión, paratión metílico, carbarilo + endosulfán, triclorfón + paratión metílico, clorpirifós, forato, vamidotión</p> <p>Principales especies que integran la plaga del salivazo de los pastos: <i>Aeneolamia albofasciata</i>, <i>A. postica</i>, <i>Prosapia simulans</i>, <i>P. bicinta</i>, <i>Prosapia</i> spp.</p>
--

Referencias: Manual de agroquímicos SARH, 1988; Lagunes, *et al.* 1994; Guía de plaguicidas autorizados de uso agrícola SARH, 1994.

de estos productos disminuyendo sus efectos adversos a la salud humana y al ambiente al aplicarlos solo cuando sean necesarios. La resistencia a químicos de numerosas plagas, hace necesario el sentar las bases para producir insecticidas fúngicos para el control biológico de plagas devastadoras, que acaban con cosechas enteras y ocasionan pérdidas económicas considerables, en la agricultura de país. El continuo incremento en los precios de los plaguicidas hacen cada día más difícil de considerar el control químico como la única estrategia válida para manejar plagas por lo que las alternativas de control biológico podrán ser competitivas con respecto a los productos de control químico, si se desarrollan las cepas más convenientes que permitan alcanzar los objetivos del productor y brinden protección a los agroecosistemas (Mier y Toriello, 1994; García y Byerly, 1995; Ortega y Rodríguez, 1995).

Es necesario realizar estudios para poder precisar los efectos de la interacción de agentes de control biológico con plaguicidas químicos y productos agrícolas para en un momento dado ser aplicados de manera conjunta, teniendo en mente el uso adecuado del químico de acuerdo a las especificaciones, y en dado caso utilizado como un refuerzo para el agente de control biológico (Ramírez, 1996).

ANTECEDENTES

Entre los primeros trabajos de compatibilidad con plaguicidas está el de Soper *et al.* (1974), en el que determinan el efecto de varios insecticidas y fungicidas sobre el crecimiento del entomopatógeno *Entomophthora* spp. y el fitopatógeno *Alternaria solani*, en medio sólido. Estos investigadores encontraron que los fungicidas probados afectaban severamente el crecimiento de los hongos entomopatógenos pero no eran mortales para las cepas, ya que al ser transferidos a medio libre de plaguicidas los hongos recuperaban su crecimiento normal. El benomil resultó ser el único fungicida que no inhibió el crecimiento de *A. solani*. Los insecticidas probados presentaron diferentes efectos sobre el crecimiento de todas las cepas de hongos y observaron una inhibición del crecimiento en proporción a la concentración utilizada lo que indica una tolerancia hacia los plaguicidas. Con los químicos ensayados encontraron efectos inhibitorios más drásticos sobre el fitopatógeno que sobre los hongos entomopatógenos.

Irmiahu y Kenneth (1974) llevaron a cabo pruebas de sensibilidad con varias cepas pertenecientes a dos géneros de entomopatógenos, contra nueve formulaciones de fungicidas y catorce de insecticidas. Para los hongos *B. bassiana*, *V. lecanii* y *Verticillium* sp. todos los fungicidas ocasionaron algún efecto inhibitorio en el crecimiento, mientras que el benomil y otros causaron efectos inhibitorios a las dosis recomendadas para los cultivos e inclusive a 1/10 de esta dosis. Por otro lado, los insecticidas produjeron diversos grados de inhibición sobre el crecimiento de los hongos. Estos trabajos tenían como objetivo la selección de cepas con mayor resistencia a productos químicos para ser usadas conjuntamente (sinergismo) con los hongos y poder ser aplicadas en los agroecosistemas.

Ignoffo *et al.* (1975) probaron la sensibilidad del hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* frente a ocho fungicidas, veinticinco insecticidas y once herbicidas, por medio de pruebas de compatibilidad *in vitro* y bioensayos de patogenicidad. De las evaluaciones *in vitro* reportaron que siete de los ocho fungicidas inhibieron el crecimiento inclusive a 1/10 de la concentración recomendada. El hongo mostró sensibilidad a cuatro de los once herbicidas y trece de los veinticinco insecticidas, y la mayor sensibilidad fue observada con los fungicidas. En los bioensayos de patogenicidad encontraron que los fungicidas benomil y dinoseb inhibieron drásticamente el crecimiento de *N. rileyi* sobre las larvas de *Trichoplusia ni* o gusano falso medidor (Lepidoptera: Noctuidae). Los resultados demostraron que la mayoría de los insecticidas y herbicidas tienen un efecto menos drástico que los fungicidas sobre el crecimiento del hongo.

Mediante estudios *in vitro* de la inhibición del crecimiento de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, Tedders (1981) encontró una alta inhibición con la mayoría de seis fungicidas a las dosis recomendadas para el cultivo del árbol de pecana, y en algunos casos aún ensayando con mayores diluciones.

Clark *et al.* (1982) determinaron la influencia de cuatro fungicidas y tres insecticidas sobre *B. bassiana* tanto en el laboratorio como en el campo. El trabajo de laboratorio mostró que el crecimiento del hongo en medio líquido es inhibido por la acción de los fungicidas. Por otro lado, los insecticidas provocaron una inhibición moderada, reduciendo el crecimiento micelial hasta en un 50 %. Los resultados de los experimentos en campo con los fungicidas fueron semejantes a los de laboratorio aunque en menor magnitud.

En la búsqueda de productos compatibles con seis cepas de *B. bassiana*, Anderson y Roberts (1983) trabajaron con 13 insecticidas comúnmente utilizados en el control del escarabajo de la papa de Colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Efectuaron estudios de invernadero en los que trataron cultivos de papas con el hongo y los insecticidas químicos, en tanques separados, así como mezclados. Los resultados *in vitro* mostraron una inhibición significativa del crecimiento del hongo, más evidente por la formulación que por el ingrediente activo. La germinación y desarrollo colonial fueron afectados por el tipo de insecticida y en grado menor por la cepa utilizada. Estos estudios revelaron la fuerte interacción entre el hongo y el químico en el tanque de mezcla, y por consiguiente la sugerencia de realizar las aplicaciones del hongo y del insecticida por separado para evitar la inhibición de crecimiento del hongo.

Al utilizar tres variedades de *H. thompsonii*, Sosa-Gómez *et al.* (1984) determinaron el efecto de cuatro insecticidas empleados en el combate del ácaro de los cítricos *Phyllocoptruta oleivora* (Actiniedida: Eriophyidae) sobre su esporulación y crecimiento *in vitro*. Encontraron diferentes grados de inhibición dependiendo del insecticida utilizado, proponiendo una selección adecuada de productos para obtener mejores resultados en la lucha por la conservación del agroecosistema.

En otro trabajo posterior, Anderson *et al.* (1989), probaron la compatibilidad *in vitro* de cinco formulaciones de insecticidas con *B. bassiana* y su eficiencia sobre el control del escarabajo de la papa de Colorado *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). En los bioensayos de laboratorio obtuvieron que abamectina, triflumuron y thuringiensin tres de los cinco insecticidas probados fueron compatibles con el hongo, incluso en dosis mayores a las recomendadas por el productor y además observaron que cantidades subletales de los demás insecticidas eran compatibles con el hongo. Los

bioensayos demostraron que en algunos casos la combinación puede tener ventajas sobre el manejo del escarabajo.

Entre otras investigaciones recientes de compatibilidad de hongos entomopatógenos con insecticidas químicos se encuentra la de Li y Holdom (1994), donde realizan una primera prueba de compatibilidad *in vitro* de *M. anisopliae* con tres concentraciones de cinco insecticidas y dos fungicidas usados contra diferentes plagas y patógenos del cultivo de la caña de azúcar, midiendo el crecimiento micelial y la esporulación. En la segunda prueba utilizan dos concentraciones de los mismos productos incluyendo dos fungicidas más y miden la esporulación de manera cualitativa. Los resultados mostraron que *M. anisopliae* se ve afectado en su crecimiento y esporulación al interactuar con fungicidas, tanto a altas como a bajas concentraciones, pero es más tolerante a los insecticidas probados. Ellos encontraron en ambas pruebas, que el hongo fue compatible con carbofuran y aldicarb.

Por último, Mietkiewski y Górski (1995), utilizando una cepa aislada de suelo forestal y otra de suelo agrícola de *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus*, *P. farinosus*, y *B. bassiana* efectúan pruebas de compatibilidad *in vitro* con tres insecticidas: dimetoato, alfa metrina, y pirimicarb, comúnmente utilizados a tres diferentes concentraciones. Utilizaron como parámetros el crecimiento micelial con respecto a un testigo sin insecticida. Los resultados mostraron que los efectos tóxicos de los insecticidas investigados dependía sobre todo de la concentración de estos productos en el medio de cultivo. Por otro lado, observaron diferencias significativas en el tamaño de las colonias; en el caso de *B. bassiana*, las colonias aisladas de suelo forestal fueron siempre más grandes que las obtenidas de suelo cultivable. Por el contrario, las colonias de *M. anisopliae*, *P. farinosus* y *P. fumosoroseus* aisladas de suelo agrícola fueron mayores que las de suelo forestal, aunque las diferencias fueron menores que las observadas con *B. bassiana*. Los autores sugieren que la inhibición sobre el crecimiento de los hongos estudiados puede estar asociada con el hospedero y el hábitat de donde se aisló ya que encontraron diferencias en el crecimiento de acuerdo al hábitat de la cepa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los agricultores tienen la alternativa de utilizar productos de origen biológico dentro de un programa de manejo integrado de plagas, que puede contemplar el uso racional de insecticidas químicos selectivos para abatir la población de insectos nocivos. Esto crea la necesidad de investigar la compatibilidad de estos agentes de control biológico con diferentes insecticidas químicos y productos agrícolas (adherentes/surfactantes, fertilizantes, etc.) utilizados en los agroecosistemas. El uso de plaguicidas químicos (básicamente insecticidas) de manera simultánea o por separado con el agente de control biológico, a la dosis mínima o subdosis de la misma de acuerdo a las especificaciones del producto para su uso en campo, puede constituir un manejo más eficaz de la plaga que se desee controlar, sin ir en contra de la conservación del ambiente.

OBJETIVOS

• Objetivo general

Conocer la compatibilidad *in vitro* de dos hongos entomopatógenos, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* utilizados como insecticidas biológicos, con diversos adherentes, surfactantes, fertilizantes, insecticidas químicos y fungicidas de acuerdo al crecimiento de los hongos en medio de cultivo impregnado con los productos agrícolas.

• Objetivos particulares

- 1.- Evaluar la metodología y condiciones más adecuadas para medir el efecto de los productos agrícolas sobre el crecimiento de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*.
- 2.- Evaluar el crecimiento radial de los dos hongos en medio de cultivo sólido impregnado con:
 - a.- Adherentes y surfactantes.
 - b.- Fertilizantes.
 - c.- Insecticidas químicos.
 - d.- Fungicidas.
 - e.- Testigo sin producto.
3. Obtener el porcentaje de inhibición del crecimiento de cada hongo para los productos estudiados.
4. Analizar la compatibilidad *in vitro* de los productos con los hongos entomopatógenos estudiados por medio de análisis estadístico.

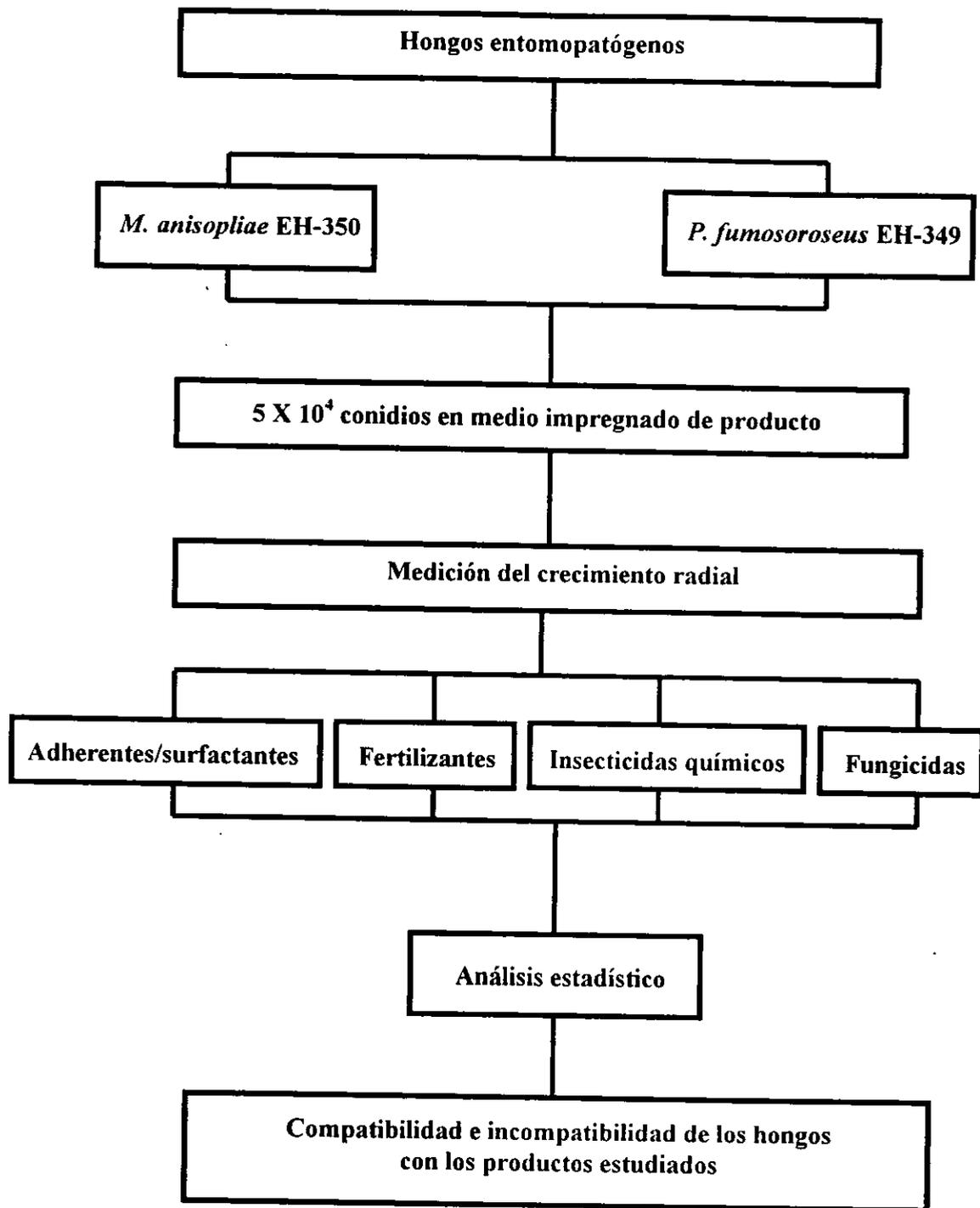


Figura 5. Esquema de trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hongos

Se trabajó con las cepas de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* EH-350 y *Paecilomyces fumosoroseus* EH-349, aisladas de la mosca pinta (Homoptera: Cercopidae) y mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) respectivamente. Estas cepas pertenecen al cepario del laboratorio de Micología Básica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM y son almacenadas en nitrógeno líquido previo a su utilización. Su clasificación de acuerdo a Alexopoulos (1996) es la siguiente:

Reino: Fungi
Phylum: Ascomycota
Ascomycetes asexuales

Parásitos necrotróficos
Eurotiales
Paecilomyces fumosoroseus
(Wize) Brown & Smith

Parásitos necrotróficos
no clasificados
Metarhizium anisopliae
(Metschnikoff) Sorokin

Productos agrícolas ensayados

Los productos agrícolas y plaguicidas químicos empleados para las pruebas de compatibilidad *in vitro* con los hongos entomopatógenos, así como el tipo de producto, ingrediente activo y formulación son descritos a continuación. La dosis a ensayar de acuerdo a las especificaciones de cada producto para su uso en campo se especifican en la Tabla 2.

• Adherentes/surfactantes

Kaytar (Guatemala)
Surfactante no iónico.
Ingrediente activo: desconocido.
Formulación: solución acuosa.

Adhefix ("Arco iris" Fertilizantes foliares, México)
Humectante, penetrante, dispersante.
Ingrediente activo: alquil fenol, éter, piliosietilénico no menos de 30 %, diluyentes no más de 70 %.
Formulación: solución acuosa.

Adhefix 12 (Guatemala)
Adherente, humectante, penetrante, dispersante.
Ingrediente activo: desconocido
Formulación: solución acuosa.

Kinetic^{MR} (Cuproquim, México)

Coadyuvante, extensor, dispersante, penetrante y humectante no iónico.

Ingrediente activo: polidimetilsiloxano y surfactante no iónico (equivalente a 1014.75 g de ingrediente activo (i.a.)/L).

Formulación: solución concentrada soluble en agua.

Penetrator[®] Plus (Ciba-Geigy, México)

Coadyuvante de aspersion de tipo no iónico.

Ingrediente activo: aceites de parafina a base de ésteres de ácidos grasos de tipo poliol. Ésteres polietoxidados - éster etoxilado alquil aril fosfato, no menos de 97 %.

Ingredientes inertes: componentes no activos como coadyuvantes, no más de 3 %.

Formulación: solución acuosa.

Citowett^{MR} Plus (BASF, México)

Humectante, adherente, dispersante agrícola.

Ingrediente activo: éter poliglicólico del isooctil fenol con 7 moles de óxido de etileno (equivalentes a 490 g de i.a./L., no menos de 50 %).

Disolventes no más de 50 %.

Formulación: solución acuosa.

Inex-A[®] (Cosmocel, México)

Surfactante, penetrante.

Ingrediente activo: éter de polietilenglicol, glicol con óxido de etileno y dimetil polisiloxano.

Formulación: solución acuosa.

• **Fertilizantes**

Fertilizante foliar, Arco iris ("Arco Iris" Fertilizantes foliares, México)

Fertilizante foliar.

Ingredientes:

 nitrógeno 20 %

 fósforo 30 %

 potasio 10 %

 Formula básica 20-30-10

Elementos secundarios y menores (12).

Formulación: gránulos humectables.

Musol GRAM X-16 (Foliares líquidos mexicanos, México)

Fertilizante foliar

Ingredientes: elementos mayores (5), elementos menores (16), aditivos (2).

Formulación: suspensión acuosa concentrada.

• **Insecticidas químicos**

Biometa 600 (AGM, México)

Insecticida químico.

Principio activo: metamidofós.

Ingrediente activo: O, S-dimetil fósforo amidotioato (equivalente a 600 g de i.a./L), no menos de 48.30 % en peso.

Ingredientes inertes: solvente, surfactante y compuestos relacionados, no más de 51.70 % en peso.

Formulación: líquido miscible.

Diazinon-Bio 25 (AGM, México)

Insecticida químico.

Principio activo: diazinón.

Ingrediente activo: O, O-dietil O S-(2-isopropil-4-metil-6-pirimidinil) fosforotioato (equivalente a 230 g de i.a./L), no menos de 25 % en peso.

Ingredientes inertes: disolventes, emulsificantes y compuestos relacionados, no más de 75 % en peso.

Formulación: concentrado emulsionable.

Biothion 500 (AGM, México)

Insecticida químico.

Principio activo: malatión.

Ingrediente activo: O, O-dimetil fosforoditioato de dietil mercapto succinato (equivalente a 500 g de i.a./L), no menos de 51 % en peso.

Ingredientes inertes: solventes, emulsificantes y compuestos relacionados, no más de 49 % en peso.

Formulación: concentrado emulsionable.

Corsair^{MR} 340 CE (Rhône-Poulenc, México)

Insecticida químico.

Principio activo: permetrina.

Ingrediente activo: (3-fenoxifenil) metil 3-(2, 2-dicloroetenil)-2, 2-dimetil-ciclopropano carboxilato (equivalente a 340 g de i.a./L), no menos de 31.09 % en peso.

Ingredientes inertes: solventes, emulsificantes y compuestos relacionados, no más de 65.31 % en peso.

Formulación: concentrado emulsionable.

Biosulfan 35 (AGM, México)

Insecticida químico.

Principio activo: endosulfán.

Ingrediente activo: 6, 7, 8, 9, 10, 10-hexacloro-1, 5, 5a, 6, 9, 9a-hexahidro-6, 9-metano-2, 4, 3-benzodioxatíepin-3-óxido (equivalente a 378 g de i.a./L), no menos de 35 % en peso.

Ingredientes inertes: disolventes, emulsificantes, estabilizantes y compuestos relacionados, no más de 65 % en peso.

Formulación: concentrado emulsionable.

Sevin^{MR} 80 PH (Rhône-Poulenc, México)

Insecticida químico.

Principio activo: carbarilo.

Ingrediente activo: 1-naftil N-metil carbamato (equivalente a 800 g de i.a./K), no menos de 80 % en peso.

Ingredientes inertes: diluyente, humectantes, dispersantes, no más de 20 % en peso.

Formulación: polvo humectable.

Dipterex® 80 PS (Bayer México)

Insecticida químico.

Principio activo: triclorfón.

Ingrediente activo: dimetil (2, 2, 2-tricloro-1-hidroxietil)-fosfano (equivalente a 800 g de i.a./K), no menos de 80 % en peso.

Ingredientes inertes: acondicionador de fluidez y compuestos relacionados, no más de 20 % en peso.

Formulación: polvo soluble.

• **Fungicidas**

Benlate® (DU PONT, México)

Fungicida químico.

Principio activo: benomil.

Ingrediente activo: metil 1-(butilcarbamoil)-2-bencimidazol carbamato (equivalente a 500 g de i.a./K), no menos de 50 % en peso.

Ingredientes inertes: diluyente, humectantes, dispersantes, adherentes y compuestos relacionados, no más de 50 % en peso.

Formulación: polvo humectable.

Biocaptan 500 (AGM, México)

Fungicida químico.

Principio activo: captán.

Ingrediente activo: cis-N ((triclorometil) tio)-4 ciclohexen-1, 2-dicarboximida (equivalente a 500 g de i.a./L), no menos de 50 % en peso.

Ingredientes inertes: diluyente, humectantes, dispersantes y compuestos relacionados, no más de 50 % en peso.

Formulación: polvo humectable.

Tabla 2. Tipo y concentración de adherentes/surfactantes, fertilizantes, insecticidas químicos y fungicidas utilizados, y la especie de hongo con la que se efectuaron las pruebas de compatibilidad *in vitro*.

Producto	Tipo	Concentración *		Hongo
		I	II	
Adherentes				
Kaytar	Surfactante no iónico	0.075 % (1)**	0.150 % (1 A)**	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Adhefix	Humectante, penetrante, etc.	0.075 % (2)	0.150 % (2 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Adhefix 12	Humectante, penetrante, etc.	0.075 % (3)	0.150 % (3 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Kinetic	Coadyuvante extensor, etc.	0.125 % (4)	0.250 % (4 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Citowett	Humectante, adherente, etc.	0.125 % (5)	0.250 % (5 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Penetrator-Plus	Coadyuvante de aspersión no iónico	0.5 % (6)	1 % (6A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Inex-A	Surfactante, penetrante	0.200 % (7)	0.400 % (7 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Fertilizantes				
Arco iris	Fertilizante foliar	0.500 % (8)	0.800 % (8 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Musol	Fertilizante foliar	0.750 % (9)	2.500 % (9 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Insecticidas ***				
Biometa 600 (metamidofós)	Insecticida organofosforado	0.5 % (10)	0.75 % (10 A)	<i>P. fumosoroseus</i>
Diazinon-Bio 25 (diazinón)	Insecticida organofosforado	0.5 % (11)	0.75 % (11 A)	<i>M. anisopliae</i>
Biothion 500 (malatión)	Insecticida organofosforado	0.75 % (12)	1 % (12 A)	<i>P. fumosoroseus</i> <i>M. anisopliae</i>
		1 % (13)	1.25 % (13 A)	
Corsair 340 CE (permetrina)	Insecticida piretroide	0.5 % (14)	0.75 % (14 A)	<i>P. fumosoroseus</i> <i>M. anisopliae</i>
		0.170 % (15)	0.295 % (15 A)	
Sevin 80 PH (carbarilo)	Insecticida metilcarbarnato	0.75 % (16)	1 % (16 A)	<i>M. anisopliae</i>
Biosulfán 35 (endosulfán)	Insecticida organoclorado	1 % (17)	1.5 % (17 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Dipterex 80 PS (triclorfón)	Insecticida organofosforado	0.5 % (18)	0.875 % (18 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Fungicidas ***				
Benlate (benomil)	Fungicida benzimidazol	0.05 % (19)	0.5 % (19 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>
Biocaptan 500 (captán)	Fungicida phthalimida	0.25 % (20)	2 % (20 A)	<i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i>

* De acuerdo a las especificaciones del fabricante.

** El número y letra entre paréntesis indica el producto y concentración en las figuras de resultados.

*** Tipo según Worthing y Hance, 1991.

Métodos de ensayos preliminares

• Evaluación del método de Li & Holdom (1994) para observar el crecimiento fúngico

Ensayo efectuado siguiendo la metodología de Li y Holdom (1994) modificada para evaluar el crecimiento colonial y esporulación de los hongos *M. anisopliae* EH-350 y *P. fumosoroseus* EH-349, en medio no impregnado con agroquímicos.

- 1.- Previo a la realización de los experimentos se sembró cada una de las cepas de *M. anisopliae* EH-350 y *P. fumosoroseus* EH-349 por sextuplicado en tubos de ensayo con agar de Sabouraud con antibióticos (SA): 10 g de digerido papaínico de soya, 10 g de dextrosa, 15.5 g de agar, 0.4 g de cicloheximida, 0.05 g cloranfenicol por litro de agua estéril (Becton Dickinson de México); y en medio de agar de papa y dextrosa (APD): 300 g de papa en agua hervida, filtrar y agregar 20 g de dextrosa, 15 g de agar-agar, aforar a 1 litro de agua y esterilizar. Los cultivos se incubaron a 28°C durante una semana.
- 2.- A partir de los cultivos anteriores se sembró cada cepa por triplicado en cajas de Petri de 15 x 100 mm con 20 ml de medio SA y APD, y se incubaron a 28°C por una semana.
- 3.- Se esterilizaron pipetas Pasteur recortadas por el extremo del bulbo, para cumplir la función de sacabocados, en un frasco de vidrio a 121°C durante 15 minutos.
- 4.- Se examinaron las cepas sembradas previamente en agar SA y APD, para determinar cuáles eran las de mejor crecimiento. Una vez hecha la elección, se procedió a realizar discos de micelio con las pipetas Pasteur de ambas cepas, colocando los discos en el centro de cajas de Petri de 15 x 50 mm con 15 ml de APD.
- 5.- Se incubaron a 28°C y se tomaron 2 mediciones diarias de cada colonia previo trazo de un plano cartesiano. Las mediciones se tomaron hasta los 15 días después de la siembra.

• Método de Li & Holdom (1994) modificado para la cuantificación de la suspensión conidial más adecuada para las pruebas de compatibilidad

Se evaluaron tres concentraciones de conidios a depositar en un pozo central practicado en el centro de una caja Petri.

- 1.- Se efectuó el experimento en cajas de Petri de 15 x 100 mm con medio APD por triplicado.
- 2.- Se prepararon varias suspensiones conidiales con la cepa *M. anisopliae* ajustándolas a:
 1×10^7 conidios/ml ----- 50 μ l ----- 5×10^5 en el pozo.

1×10^6 conidios/ml ----- 50 μ l ----- 5×10^4 en el pozo.

5×10^6 conidios/ml ----- 50 μ l ----- 25×10^4 en el pozo.

3.- En las cajas de Petri con medio sólido se realizó un pozo central, y se agregaron 50 μ l de cada una de las suspensiones de cada concentración de conidios, por duplicado.

4.- Se incubaron a 28°C y se tomaron 2 mediciones diarias de un plano cartesiano previamente trazado en el reverso de la caja Petri. Las mediciones se tomaron hasta los 17 días después de la siembra.

• Evaluación del medio óptimo para las prueba de compatibilidad

Ensayo efectuado según la metodología de discos de micelio mencionada con anterioridad, para seleccionar el medio óptimo a utilizar para el crecimiento del hongo *P. fumosoroseus*.

1.- Se prepararon cajas de Petri de 15 x 100 mm con los medios de cultivo: APD, extracto de levadura/peptona/glucosa YPG (20 g de glucosa, 10 g de extracto de levadura, 20 g de peptona, 15 g de agar, por litro) y extracto de levadura/glucosa YG (20 g de glucosa, 20 g de extracto de levadura, 15 g de agar, por litro). Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

2.- Se procedió a sembrar los discos de micelio de *P. fumosoroseus*, colocando el disco de la cepa en el centro de las cajas de Petri con los diferentes medios, por triplicado, y se incubaron a 28°C, tomando 2 mediciones diarias de un plano cartesiano previamente trazado en el reverso de la caja Petri. Las mediciones se realizaron hasta los 13 días después de la siembra.

• Evaluación de la temperatura óptima para las pruebas de compatibilidad

Ensayo con la metodología del pozo central, descrita anteriormente, para evaluar el crecimiento micelial de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* a diferentes temperaturas.

1.- Se efectuó el experimento en cajas de Petri de 15 x 100 mm con medio APD, por triplicado.

2.- Se prepararon suspensiones de 1×10^6 conidios/ml de cada cepa.

3.- Se agregaron 50 μ l de la suspensión de cada hongo en el pozo central del medio, realizado por duplicado para cada temperatura a ensayar.

4.- Se incubaron a temperatura ambiente, a 28°C, 35°C, 37°C y se tomaron 2 mediciones diarias de un plano cartesiano previamente trazado en el reverso de la caja de Petri. Las mediciones se realizaron hasta los 10 días para *M. anisopliae* y hasta los 7 días con *P. fumosoroseus* después de la siembra.

• Evaluación del efecto del tween 20 y 80 sobre el crecimiento de los hongos

Ensayo con la metodología del pozo central, descrita anteriormente, para evaluar el crecimiento de *P. fumosoroseus* a diferentes concentraciones de tween 20 y 80 (utilizadas en la preparación de la suspensión conidial).

- 1.- El experimento se efectuó en cajas de Petri de 15 x 100 mm con medio APD, por triplicado.
- 2.- Se preparó una suspensión conidial de 1×10^6 conidios/ml de *P. fumosoroseus* con dos concentraciones de tween 20 (0.05 %, 0.5 %) y tween 80 (0.05 %, 0.5 %), y un testigo con agua destilada estéril.
- 3.- Se agregaron 50 μ l de la suspensión conidial de cada concentración de tween empleada, y del testigo en el pozo central de la caja, por duplicado. Se incubaron a 28°C y se tomaron 2 mediciones diarias de un plano cartesiano previamente trazado en el reverso de la caja de Petri. Las mediciones se efectuaron hasta los 8 días después de la siembra.

Método de crecimiento radial en medio impregnado con plaguicidas químicos y productos agrícolas utilizados

Método modificado a partir de la metodología de Li y Holdom (1994) para medir el crecimiento de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* en medio de cultivo impregnado con plaguicidas químicos y productos agrícolas.

- 1.- Se sembró cada una de las cepas de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* por sextuplicado en tubos de ensayo con agar SA inclinado y se incubaron a 28°C durante una semana.
- 2.- Se prepararon los productos agrícolas a ensayar, esterilizándolos en autoclave, con luz UV, o por filtración dependiendo de sus características físicas, y se realizaron soluciones stock de cada producto de acuerdo a las concentraciones descritas en las tablas 3, 4, 5 y 6. Dada las características de algunos productos, éstos se usaron sin esterilizar, pero preparados con agua, recipientes y materiales estériles.
- 3.- Se esterilizó medio APD y al enfriarlo a 45-50°C, se le adicionó 1 ml del stock de las concentraciones del producto a probar, o su equivalente en ml del producto concentrado, o, gramos de polvo por cada 100 ml de medio, para ajustar a cada una de las concentraciones del plaguicida y producto químico a experimentar (Tablas 3, 4, 5 y 6). Las concentraciones probadas están fundamentadas de acuerdo a las especificaciones de los fabricantes para su uso en campo (Tabla 2).
- 4.- El medio APD conteniendo el producto, se agitó circularmente con el fin de que su distribución fuera lo más homogénea posible. Posteriormente se vertió en cajas de Petri de 15 x 50 mm. Siempre se

Tabla 3. Concentraciones y métodos de esterilización de los adherentes/surfactantes utilizados en las pruebas de compatibilidad *in vitro*.

Producto	Concentración I *	Concentración II *	Esterilización
Kaytar	0.75 ml de producto, en 10 ml de agua (0.075 %) **	1.50 ml de producto, en 10 ml de agua (0.150 %) **	Filtración por membrana de 0.20 µm
Adhefix	0.75 ml de producto, en 10 ml de agua (0.075 %) **	1.50 ml de producto, en 10 ml de agua (0.150 %) **	Filtración por membrana de 0.20 µm
Adhefix 12	0.75 ml de producto, en 10 ml de agua (0.075 %) **	1.50 ml de producto, en 10 ml de agua (0.150 %) **	Filtración por membrana de 0.20 µm
Kinetic	1.25 ml de producto, en 10 ml de agua (0.125 %) ***	2.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.250 %) ***	Filtración por membrana de 0.20 µm
Citowett	1.25 ml de producto, en 10 ml de agua (0.125 %) ***	2.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.250 %) ***	Autoclave a 121 °C, 15 min, o membrana de 0.20 µm
Inex-A	2 ml de producto, en 10 ml de agua (0.2 %) ****	4 ml de producto, en 10 ml de agua (0.4 %) ****	Filtración por membrana de 0.20 µm
Penetrator-Plus	5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) ***	1 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1 %) ***	Autoclave a 121 °C, 15 min, o membrana de 0.20 µm

* El porcentaje en el paréntesis indica la concentración final del producto en el medio de cultivo sólido.

** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 200 l de agua.

*** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 100 l de agua.

**** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 1 l de agua.

Tabla 4. Concentraciones y métodos de esterilización de los fertilizantes utilizados en las pruebas de compatibilidad *in vitro*.

Producto	Concentración I *	Concentración II *	Esterilización
Fertilizante Arco iris	5 g de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) **	8 g de producto, en 10 ml de agua (0.8 %) **	24 hrs luz UV
Musol	7.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.75 %) **	2.5 ml de producto, por cada 100 ml de medio (2.5 %) **	24 hrs luz UV

* El porcentaje en el paréntesis indica la concentración final del producto en el medio de cultivo sólido.

** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 100 l de agua.

Tabla 5. Concentraciones y métodos de esterilización de los insecticidas químicos utilizados en las pruebas de compatibilidad *in vitro*.

Producto	Concentración I *	Concentración II *	Esterilización
Biometa 600	5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) **	7.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.75 %) **	Ninguna, se preparó el stock en recipientes y agua estéril
Diazinon-Bio 25	5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) ** 7.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.75%) **	7.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.75 %) ** 1 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1 %) **	Ninguna, se preparó el stock en recipientes y agua estéril
Biothion 500	1 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1 %) ** 5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) **	1.25 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1.25 %) ** 7.5 ml de producto, en 10 ml de agua (0.75 %) **	Ninguna, se preparó el stock en recipientes y agua estéril
Corsair 340 CE	1.7 ml de producto, en 10 ml de agua (0.170 %) **	2.95 ml de producto, en 10 ml de agua (0.295 %) **	Ninguna, se preparó el stock en recipientes y agua estéril
Biosulfan 35	1 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1 %) **	1.5 ml de producto, por cada 100 ml de medio (1.5 %) **	Ninguna, se preparó el stock en recipientes y agua estéril
Sevin 80 PH	7.5 g de producto, en 10 ml de agua (0.75 %) **	1 g de producto, en 100 ml de medio (1 %) **	24 hrs luz UV. En la concentración de 1 % se agregó el polvo al medio a 45 -50°C
Dipterex 80 PS	5 g de producto, en 10 ml de agua (0.5 %) **	8.75 g de producto, en 10 ml de agua (0.875 %) **	24 hrs luz UV

* El porcentaje en el paréntesis indica la concentración final del producto en el medio de cultivo sólido.

** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 200 l de agua.

Tabla 6. Concentraciones y métodos de esterilización de los fungicidas utilizados en las pruebas de compatibilidad *in vitro*.

Producto	Concentración I *	Concentración II *	Esterilización
Benlate	0.5 g de producto, en 10 ml de agua (0.05 %) **	0.5 g de producto, en 100 ml de medio (0.5 %) **	24 hrs luz UV. En la concentración al 0.5 % se agregó el polvo al medio a 45 - 50°C
Biocaptan 500	2.5 g de producto, en 10 ml de agua (0.25 %) **	2 g de producto, en 100 ml de medio (2 %) **	24 hrs luz UV. En la concentración al 2.0 % se agregó el polvo al medio a 45 - 50°C

* El porcentaje en el paréntesis indica la concentración final del producto en el medio de cultivo sólido.

** Dosis usada en campo para aplicación terrestre, en un volumen de 100 l de agua.

utilizó un testigo sin producto en cajas de Petri con medio APD adicionado de agua (1 ml por 100 ml de medio).

5.- Se efectuó un pozo en el centro de la caja de Petri con el agar impregnado con el producto a ensayar. Una vez hecho el pozo se colocaron 50 μ l de la suspensión de 1×10^6 conidios/ml de cada hongo, la suspensión de los hongos fue aplicada individualmente en cada concentración de los productos estudiados. Se hizo de manera similar para las cajas testigo con agua estéril, y todas fueron incubadas a 28°C. Los diferentes tratamientos y el testigo siempre se realizaron por triplicado.

7.- El diámetro de las colonias fue medido diariamente en mm (trazando un plano cartesiano por debajo de las cajas de Petri, y tomando un valor por cada eje), a lo largo de 10 días posteriores a la siembra del hongo, momento en que el testigo llegaba aproximadamente al borde de la caja.

8.- Con base en el crecimiento del hongo en los medios se calculó el porcentaje de inhibición para cada concentración, con respecto al testigo, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición (\% I)} = 100 \times \frac{[\text{Diámetro colonial testigo} - \text{Diámetro colonial problema}]}{\text{Diámetro colonial testigo}}$$

9.- Todos los experimentos se repitieron un mínimo de tres veces.

10.- Los datos en porcentaje de inhibición se sometieron a análisis estadístico.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico para cómputo de diseños experimentales FAUANL (Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León), versión 2.1. Se sometieron los datos a un análisis de varianza factorial (A x B) con un diseño completamente al azar para detectar diferencias significativas entre los tratamientos. Al existir diferencias entre los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey. Se utilizaron para ello los valores del crecimiento colonial de 3 experimentos con 3 repeticiones. Los datos se trabajaron en porcentaje de inhibición al día 10 de cada grupo de productos y concentraciones, así como los valores del testigo. Mediante este modelo a un nivel de significancia de 0.05 se analizaron por separado los datos de los adherentes/surfactantes, fertilizantes, insecticidas y fungicidas, según el hongo con su respectivo grupo de valores testigo.

Morfología

Además del crecimiento colonial de cada hongo en cada tratamiento se observaron tanto la morfología macroscópica colonial de los hongos, como la morfología microscópica de hifas y conidios con respecto al testigo. La observación al microscopio se hizo a partir de preparaciones teñidas con azul de algodón. Además se realizó la resiembra de los hongos en medio libre de productos, una vez concluidos los experimentos de compatibilidad.

RESULTADOS

Los productos agrícolas ensayados se escogieron tomando en cuenta diferentes factores. Primero, el uso de agentes microbianos para el control biológico necesita una óptima dispersión de éstos sobre el cultivo de aplicación donde se encuentra el insecto plaga a combatir. Por lo cual se ensayaron adherentes y surfactantes con los hongos estudiados para establecer su compatibilidad con estos productos, que contienen ingredientes activos lubricantes, humectantes y dispersantes. Segundo, un grupo más de agroquímicos comúnmente usados por el agricultor es el de los fertilizantes químicos, que son una fuente de elementos inorgánicos importantes para obtener una mejor calidad y rendimiento de sus cultivos. A la fecha no existen reportes del efecto de estos productos sobre los entomopatógenos estudiados, por lo cual se buscó establecer su compatibilidad con éstos. Tercero, los insecticidas químicos ensayados son utilizados actualmente en el control químico de las plagas de la mosca pinta y mosquita blanca. Se busca con este tipo de pruebas la compatibilidad de estos hongos entomopatógenos con las formulaciones comerciales utilizadas en el campo, sobre todo con aquellos insecticidas de menor toxicidad para el hombre y de menor contaminación del ambiente. Finalmente, también se ensayaron fungicidas ya que son otro grupo de agroquímicos utilizados ampliamente en el campo contra hongos fitopatógenos que atacan diversos cultivos. La presente investigación concierne a hongos entomopatógenos como agentes microbianos y por lo tanto se evaluó *in vitro* el daño de estos productos sobre éstos.

Previo a la realización de los experimentos para observar la compatibilidad de los hongos estudiados con los productos agrícolas se hicieron diferentes ensayos para probar el mejor método a utilizar así como el medio, temperatura y agente dispersante óptimos para llevarlos a cabo.

Se ensayó el método de utilizar discos de crecimiento micelial de ambos hongos puestos sobre el medio de cultivo (Li y Holdom, 1994; Silva-Romero y Mier 1996), sin embargo, *M. anisopliae* presentó problemas al colocar los discos de micelio al centro del agar de las cajas Petri, ya que los conidios se espolvoreaban en el medio de cultivo, tapizando así el medio con una infinidad de colonias. *P. fumosoroseus* no presentó este problema creciendo la colonia a partir de un disco de micelio al centro de la caja Petri. Además, con este método no se logra una cuantificación de la siembra inicial, y por lo tanto se ensayó con suspensiones de conidios de concentración conocida en un pozo central previamente hecho en el medio de cultivo de la caja, lo que impidió que los conidios de *Metarhizium* se

esparcieran y se pudiera medir el diámetro colonial con exactitud. Se hizo lo mismo con *P. fumosoroseus* para igualar las condiciones experimentales.

Para probar el medio óptimo a utilizar en los diferentes experimentos posteriores, se probaron los medios YG, YPG y APD, observando un crecimiento micelial adecuado en los tres medios de cultivo. Sin embargo, por facilidad de preparación, una buena esporulación y un buen crecimiento micelial con ambos hongos, se decidió utilizar el medio de cultivo APD para todas las pruebas de compatibilidad.

Con respecto a la temperatura de incubación se ensayó el crecimiento de los hongos a 26-28°C, 35 y 37°C. Se aplicaron los resultados obtenidos en los ensayos anteriores, como el uso del medio APD, practicando un pozo central en el agar y se sembraron 50 µl de una suspensión de 1×10^6 conidios/ml en las cajas de Petri de 15 x 50 mm. Se observó un buen crecimiento de ambos hongos a 28°C. *P. fumosoroseus* no creció a 35°C mientras que *M. anisopliae* si mostró crecimiento pero con una morfología colonial en roseta. Ninguno de los dos hongos creció a 37°C. Por lo tanto, se incubaron los cultivos a 28°C para todos los ensayos.

Para evaluar si el tween 20 y 80, utilizados como agentes dispersantes en las suspensiones, tenían un efecto adverso o no sobre el hongo, se ensayaron en las mismas condiciones descritas con anterioridad, usando como testigo una suspensión de los hongos con agua destilada. No se encontraron diferencias entre el tamaño del diámetro colonial testigo de agua destilada y las demás suspensiones elaboradas a diferentes concentraciones de tween. A partir de este ensayo se utilizó tween 80 al 0.05% para la elaboración de las suspensiones de los hongos entomopatógenos, en todos los experimentos posteriores.

De acuerdo al análisis de resultados de los ensayos preliminares, todos los experimentos posteriores se realizaron en cajas de Petri desechables de 15 x 50 mm de diámetro con medio APD, y un pozo central sembrado con 50 µl de una suspensión de conidios de 1×10^6 /ml de cada hongo. Los cultivos se incubaron a 28°C durante 10-12 días.

Con respecto a las pruebas de compatibilidad entre adherentes/surfactantes y *M. anisopliae*, los resultados mostraron los menores % I con los coadyuvantes Kinetic a ambas concentraciones (0.125 y 0.250 %), 22.6 y 23.8 %, y Penetrator (0.5 y 1 %), con 18.3 y 27.7 % respectivamente. El mayor % I se observó con el humectante Citowett a ambas concentraciones (0.125 y 0.250 %) con % I de 60.2 y 61.7 % respectivamente. Con el resto de los adherentes/surfactantes el hongo presentó porcentajes de inhibición intermedios del 28.6 al 52.6 % (Tabla 7, Figura 6). El análisis de varianza aplicado a los

Tabla 7. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *M. anisopliae* obtenido con diversos adherentes/surfactantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

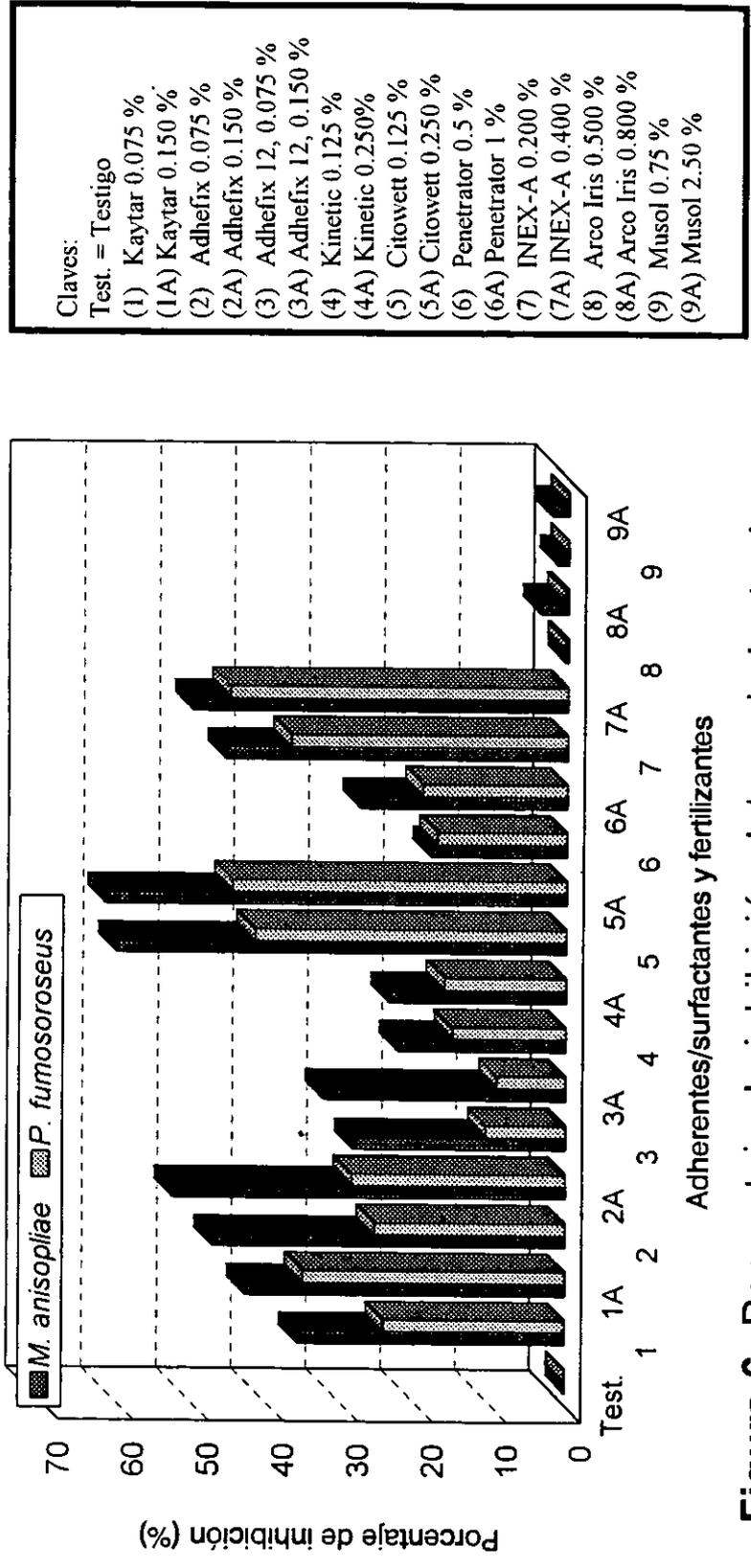
Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
Citowett 0.125 %	60.2 A	Citowett 0.250 %	61.7 A
Adhefix. 0.075 %	47.3 B	Adhefix 0.150 %	52.6 B
Inex-A 0.200 %	45.8 B	Inex-A 0.400 %	50.2 B
Kaytar 0.075 %	35.9 C	Kaytar 0.150 %	42.9 C
Adhefix 12 0.075 %	28.6 D	Adhefix 12 0.150 %	32.5 D
Kinetic 0.125 %	22.6 DE	Penetrator 1 %	27.7 DE
Penetrator 0.5 %	18.3 E	Kinetic 0.250 %	23.8 E
Testigo	0 F	Testigo	0 F

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Tabla 8. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *P. fumosoroseus* obtenido con diversos adherentes/surfactantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
Citowett 0.125 %	41.8 A	Inex-A 0.400 %	45.2 A
Inex-A 0.200 %	37.1 A	Citowett 0.250 %	44.8 A
Adhefix. 0.075 %	25.6 B	Kaytar 0.150 %	35.2 B
Kaytar 0.075 %	24.3 BC	Adhefix 0.150 %	28.7 B
Penetrator 0.5 %	17.4 CD	Penetrator 1 %	19.4 C
Kinetic 0.125 %	15.3 D	Kinetic 0.250 %	16.4 CD
Adhefix 12 0.075 %	10.7 D	Adhefix 12 0.150 %	9.3 D
Testigo	0 E	Testigo	0 E

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).



- Claves:
 Test. = Testigo
 (1) Kaytar 0.075 %
 (1A) Kaytar 0.150 %
 (2) Adhefix 0.075 %
 (2A) Adhefix 0.150 %
 (3) Adhefix 12, 0.075 %
 (3A) Adhefix 12, 0.150 %
 (4) Kinetic 0.125 %
 (4A) Kinetic 0.250%
 (5) Citowett 0.125 %
 (5A) Citowett 0.250 %
 (6) Penetrator 0.5 %
 (6A) Penetrator 1 %
 (7) INEX-A 0.200 %
 (7A) INEX-A 0.400 %
 (8) Arco Iris 0.500 %
 (8A) Arco Iris 0.800 %
 (9) Musol 0.75 %
 (9A) Musol 2.50 %

Figura 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* con adherentes/surfactantes y fertilizantes.

datos en % I del crecimiento de *M. anisopliae* con adherentes/surfactantes, muestra diferencias entre ellos (Apéndice: Tabla 13). Se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0.05$) que mostró diferencias significativas entre los productos (Tabla 7). Kinetic y Penetrator (a ambas concentraciones) son los dos adherentes/surfactantes que presentan el efecto menos perjudicial, mientras que Citowett fue el más inhibitorio sobre el crecimiento del hongo. No se observaron diferencias entre ambas concentraciones empleadas.

De manera similar, *P. fumosoroseus* mostró los menores % I, con el humectante Adhefix 12 a ambas concentraciones (0.075 y 0.150 %) 10.7 y 9.3 % respectivamente, con el coadyuvante Kinetic a ambas concentraciones (0.125 y 0.250 %), 15.3 y 16.4 % respectivamente, y con el coadyuvante Penetrator a las dos concentraciones (0.5 y 1 %), 17.4 y 19.4 %. La mayor inhibición del crecimiento de *P. fumosoroseus* la mostraron Citowett a ambas concentraciones (0.125 y 0.250 %), 41.8 y 44.8 %, al igual que el surfactante Inex-A con % I de 45.2 y 37.1 %. Con el resto de los adherentes/surfactantes el hongo presentó porcentajes de inhibición intermedios de 24.3 a 37.1 % (Figura 6). El análisis de varianza indicó diferencias (Apéndice: Tabla 14), por lo cual se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0.05$) que mostró diferencias significativas entre los productos (Tabla 8). Los productos que presentaron el efecto menos perjudicial sobre el crecimiento del hongo fueron Adhefix 12, Kinetic, y Penetrator en ambas concentraciones, en tanto que Citowett e Inex-A fueron los más inhibitorios sobre el crecimiento del hongo.

El aspecto morfológico de las colonias durante el experimento fue diversa. *M. anisopliae* con el coadyuvante Kinetic (0.125 %) que presentó el menor % I, mostró una morfología colonial similar a la del testigo (Figura 7). Con el resto de los productos el hongo presentó diversas alteraciones morfológicas. El más evidente fue al utilizar el surfactante Inex-A a la concentración del 0.4 % (50.1 % I), donde la colonia presenta el menor crecimiento, el hongo creció de manera aterciopelada y abombada, sin producción de pigmento en la superficie (Figura 8); al observar al microscopio se observaron conidios solamente en el centro de la parte inferior de la colonia. Con el humectante Citowett que presentó el mayor % I (63.7) a la concentración de 0.25 %, la colonia de poco crecimiento, mostró una colonia de bordes sinuosos, poco pigmento central y abundante micelio aéreo (Figura 9). *P. fumosoroseus* no presentó mayores alteraciones morfológicas de las colonias, no importando el grado de inhibición, excepto cuando se utilizó Penetrator (0.5 y 1 %) con un % I de 15.7 y 16.7 respectivamente donde la colonia mostró una forma cerebriforme aplanada (Figura 10). Con respecto al estudio de las características microscópicas de hifas y conidios, *M. anisopliae* exhibió una

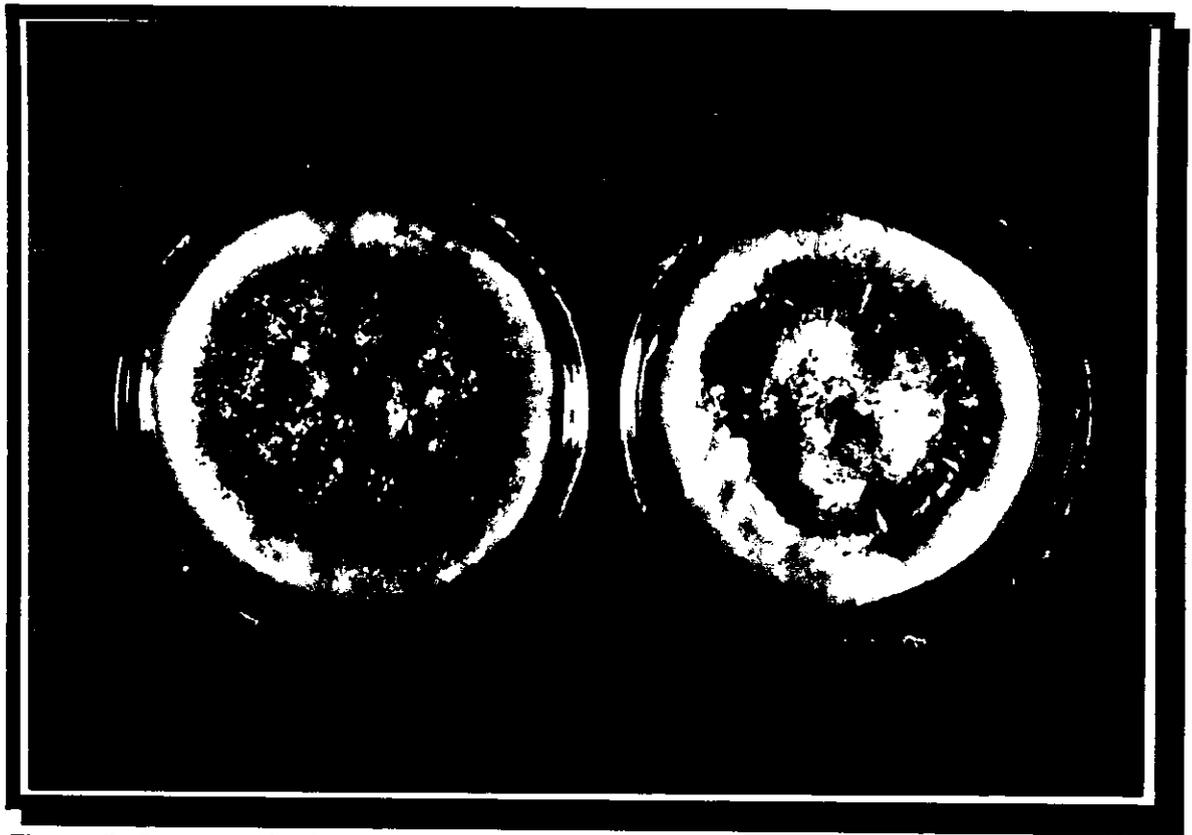


Figura 7. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el coadyuvante Kinetic 0.125 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

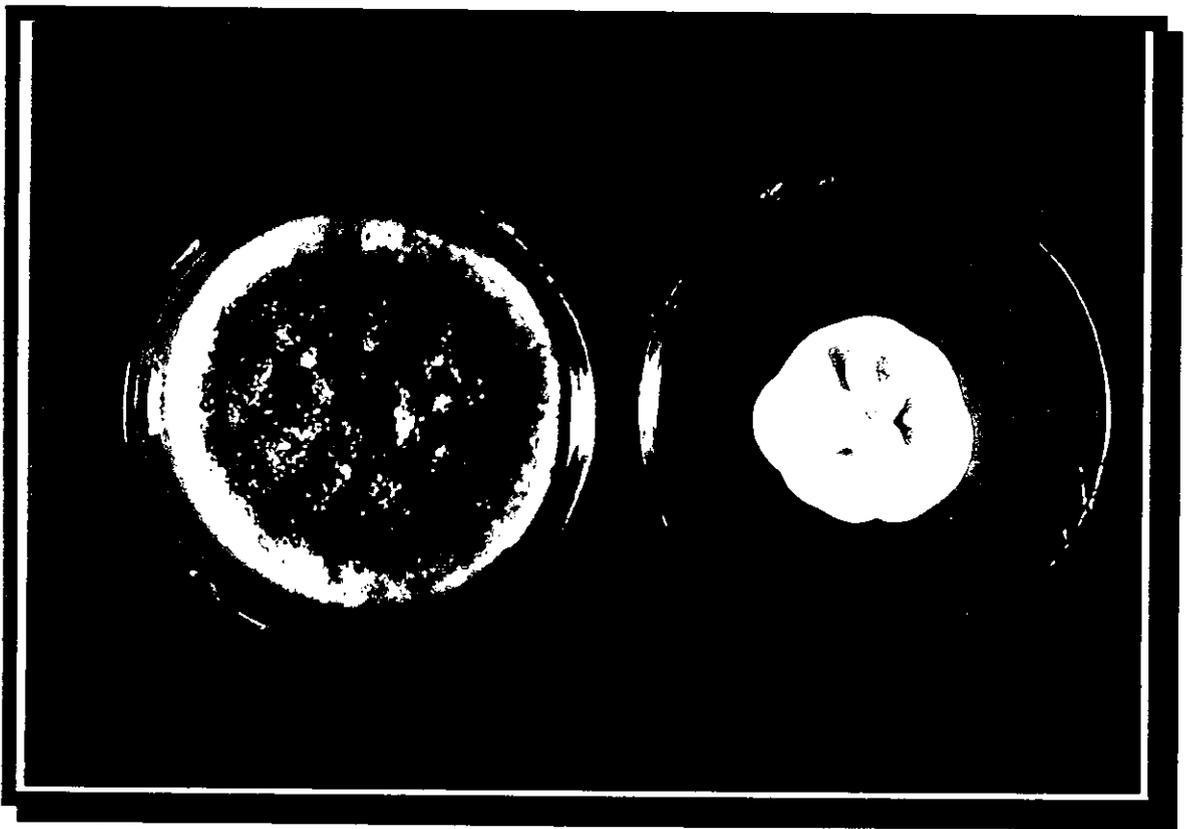


Figura 8. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia aterciopelada, abombada, sin pigmento en medio impregnado con el surfactante Inex-A 0.4 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

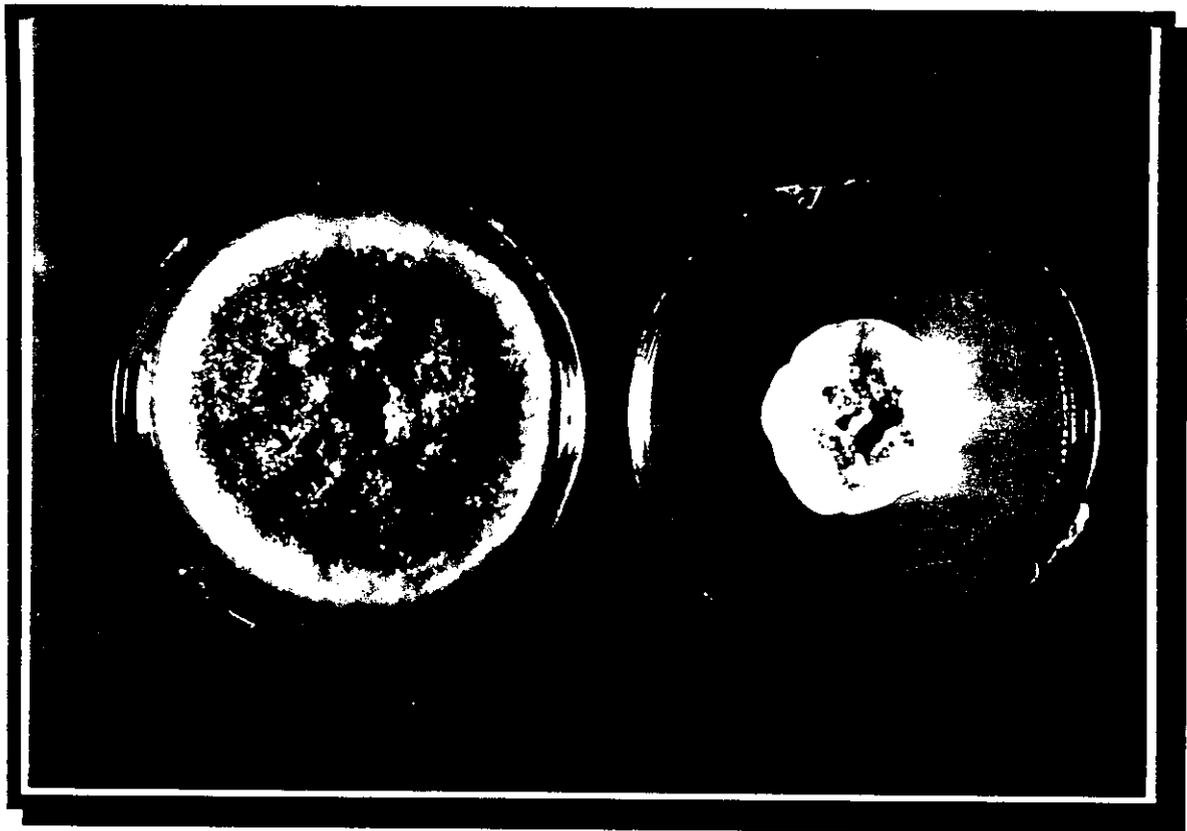


Figura 9. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia de bordes sinuosos, poco pigmentada, y micelio aéreo en medio impregnado con el humectante Citowett 0.250 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

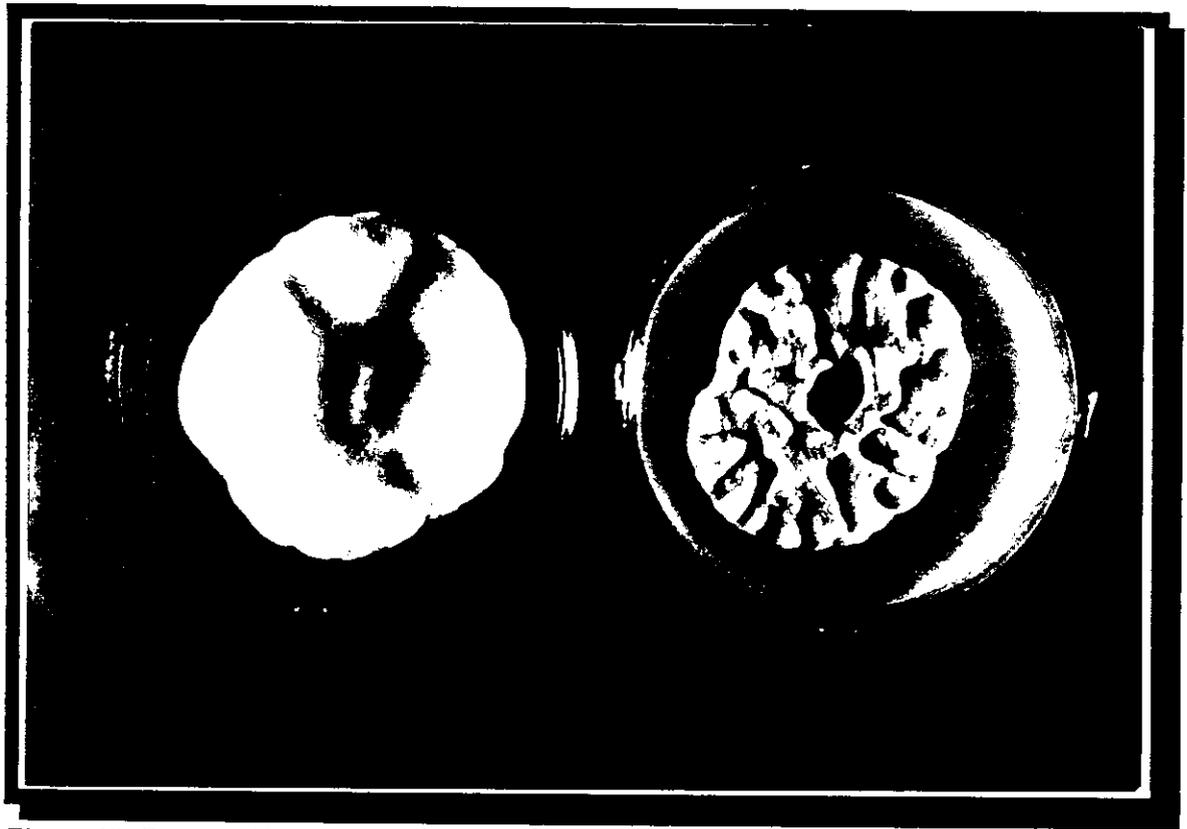


Figura 10. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y la colonia cerebriforme aplanada en medio impregnado con el coadyuvante Penetrator 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

morfología normal típica con respecto al testigo excepto en el caso del surfactante Inex-A al 0.2 y 0.4 % (45-50 % I) donde se observó abundancia de micelio con respecto a la cantidad de conidios lo que sugiere una menor esporulación. *P. fumosoroseus* mostró un aspecto morfológico de apariencia normal con respecto al testigo, aunque en las muestras al microscopio se observaron cantidades variables de conidios. Por ejemplo, con el coadyuvante Kinetic al 0.250 % (12.1 % I), se observaron grandes acúmulos de conidios al compararlo con el control (Figuras 11 y 12).

Al finalizar los experimentos al día 10-13, todas las colonias de cada hongo provenientes de los medios impregnados con los surfactantes/adherentes probados se sembraron en APD. Los resultados mostraron una recuperación de las características morfológicas macroscópicas de aquellos que habían mostrado alteraciones, así como el ritmo normal de crecimiento colonial al compararlas con los testigos.

Con respecto a las pruebas realizadas con los fertilizantes foliares, ambos hongos resultaron ser compatibles con los productos, ya que exhibieron un % de inhibición de 0 al 3.7 (Figura 6). Tomando en consideración el 100 % de crecimiento del testigo al día 10, la colonia del hongo crecida en el medio con Musol a ambas concentraciones mostró un crecimiento del 103 % para *M. anisopliae*, y del 116 % para *P. fumosoroseus* a ambas concentraciones; el fertilizante Arco iris mostró un 122 % de crecimiento para este mismo hongo a ambas concentraciones, lo que sugiere un efecto benéfico positivo de estos fertilizantes sobre el crecimiento del hongo. El análisis de varianza aplicado para *M. anisopliae* con fertilizantes, indicó la existencia de diferencias mínimas (Apéndice: Tabla 15). Al aplicar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) está mostró diferencias significativas, solamente para la mayor concentración del fertilizante Arco iris (Tabla 9). Con *P. fumosoroseus*, la prueba de Tukey ($P > 0.05$) no mostró diferencias significativas entre los productos, y el testigo (Tabla 10). En general los fertilizantes exhibieron un comportamiento de crecimiento muy similar a los testigos de ambos hongos.

El aspecto morfológico colonial de ambos hongos con los fertilizantes permaneció inalterable, exhibiendo la misma morfología que la de los testigos (Figuras 13 y 14); así como también la morfología microscópica. La colonia de *P. fumosoroseus* presentó una coloración ligeramente amarilla con el fertilizante foliar Musol a ambas concentraciones (0.750 y 2.500 %).

Los resultados de las pruebas con los insecticidas químicos mostraron diversos valores en los porcentajes de inhibición del crecimiento fúngico en los medios de cultivo impregnados según el producto probado. La tabla 2 presenta los datos de estos químicos que solamente se recomiendan para una u otra plaga, ya sea la mosca pinta (cuyo control biológico se efectúa con *M. anisopliae*) ó la

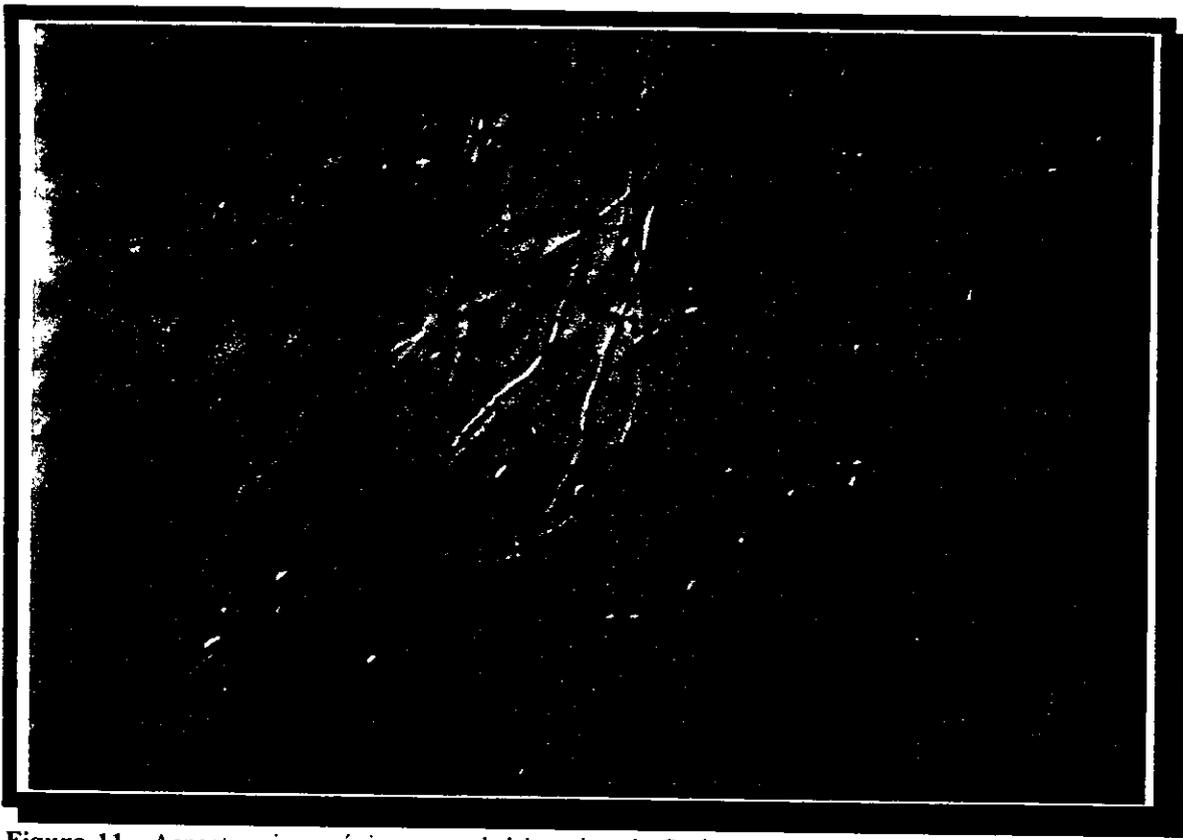


Figura 11. Aspecto microscópico normal del testigo de *P. fumosoroseus*. Se observan hifas y conidios (375X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

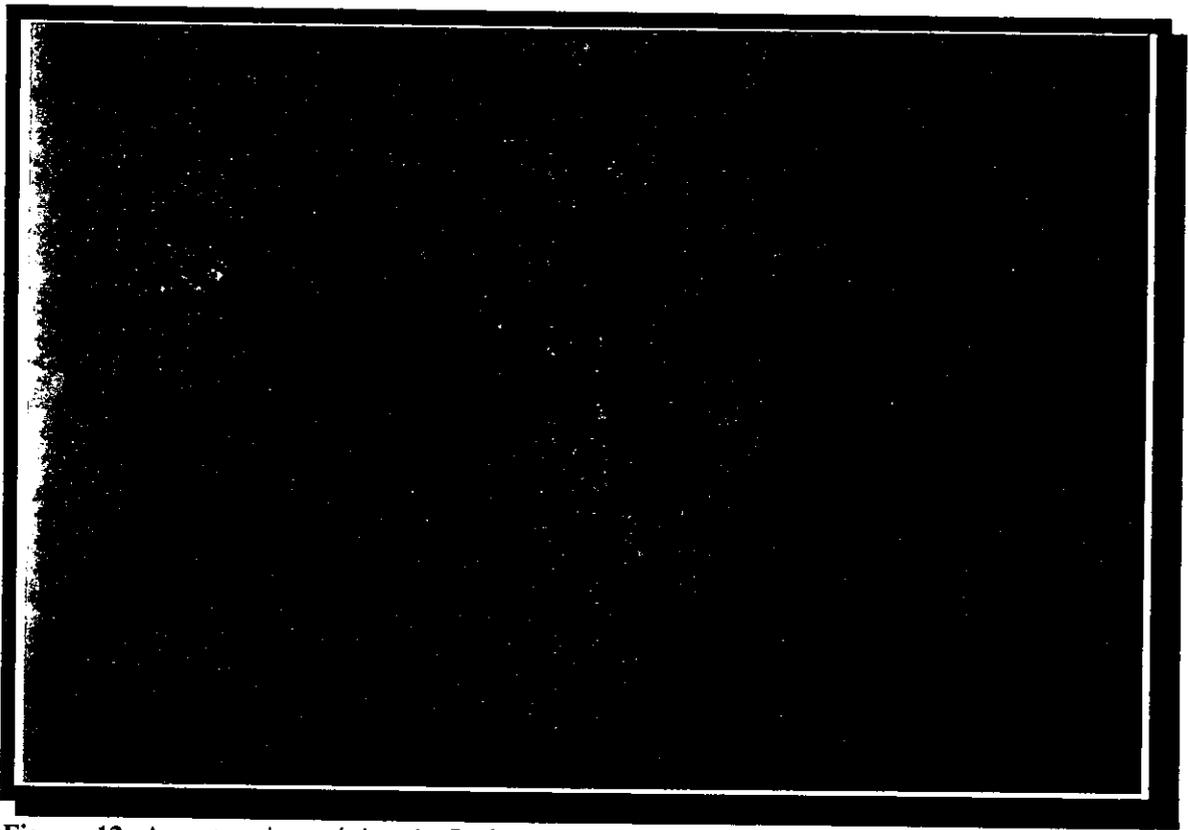


Figura 12. Aspecto microscópico de *P. fumosoroseus* en medio impregnado del coadyuvante Kinetic 0.250 %, con acúmulos de conidios (250X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

Tabla 9. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *M. anisopliae* obtenido con diversos fertilizantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
Musol 0.75 %	1.4 A	F.F.A. 0.800 %	3.7 A
F.F.A 0.500 %	0.2 A	Musol 2.5 %	2.2 B
Testigo	0 A	Testigo	0 B

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Tabla 10. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *P. fumosoroseus* obtenido con diversos fertilizantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
F.F.A 0.500 %	0.3 A	F.F.A. 0.800 %	0.4 A
Musol 0.75 %	0.0 A	Musol 2.5 %	0.0 A
Testigo	0 A	Testigo	0 A

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).

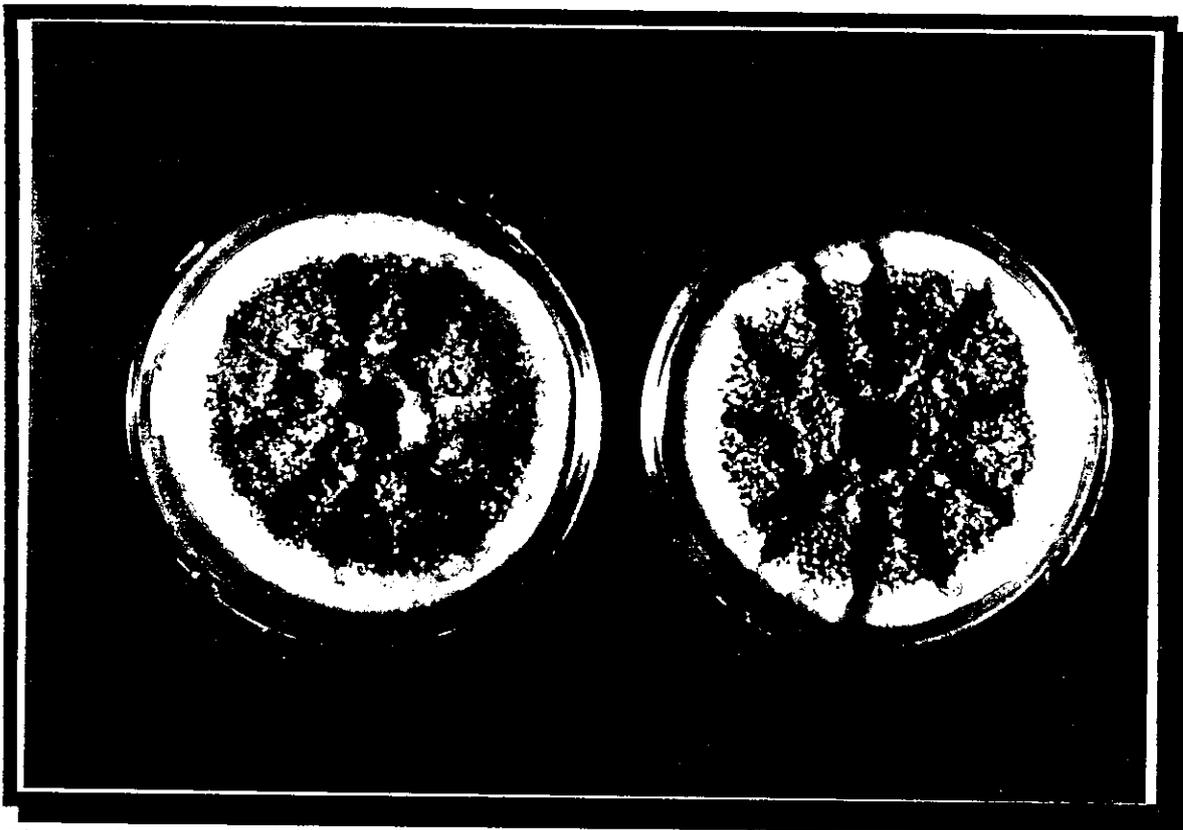


Figura 13. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el fertilizante foliar Arco iris 0.8 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.



Figura 14. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el fertilizante foliar Musol 0.75 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

mosquita blanca (que se controla biológicamente con *P. fumosoroseus*). Además se indican las concentraciones de los productos según las especificaciones del fabricante para cada una de las plagas mencionadas anteriormente.

Los ensayos efectuados con *M. anisopliae* e insecticidas químicos (Tabla 11) mostraron los menores % I con el organofosforado Dipterex a ambas concentraciones (0.5 y 0.875 %) con un % I del 27.2 y 40.7 respectivamente y el insecticida piretroide Corsair (0.170 y 0.295 %) con % I de 42.1 y 52.4 respectivamente. Los mayores porcentajes de inhibición con este mismo hongo ocurrieron con el insecticida organofosforado Biothion a ambas concentraciones (1 y 1.25 %) con un valor respectivo de 94.7 y 100 % y la concentración más alta del insecticida organofosforado Diazinon (0.75 %) con un % I de 84.7. El resto de los productos generó % I del 52.1 al 84.7 (Figura 15). El análisis de varianza aplicado para los datos en % I de crecimiento de *M. anisopliae* con insecticidas químicos, indica la existencia de diferencias entre ellos (Apéndice: Tabla 17). Se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0.05$) que mostró las diferencias entre los productos (Tabla 11). Los insecticidas que presentaron efecto menos perjudicial sobre el crecimiento del hongo fueron Dipterex y Corsair; mientras que los más inhibitorios y perjudiciales sobre el crecimiento del hongo fueron Biothion y Diazinon. No se encontraron diferencias entre la menor y mayores concentraciones utilizadas en el estudio.

P. fumosoroseus presentó los menores porcentajes de inhibición con el insecticida organofosforado Biometa a ambas concentraciones (0.5 y 0.75 %) con un % I de 10.5 y 16.4 respectivamente; con las dos del organoclorado Biosulfan (1 y 1.5 %) con un valor respectivo de inhibición del 31.7 y 37.2 %. Los mayores % I de este hongo fueron mostrados con los dos insecticidas organofosforados Biothion (0.5 y 0.75 %), con valores de inhibición respectivos de 100 % para ambos; Diazinon (0.75 y 1 %), con valores de inhibición respectivos de 84.0 y 100 %; los porcentajes de inhibición del 100 % indican que el hongo no exhibió ningún tipo de crecimiento, o sea, que fue totalmente inhibido por las dos concentraciones de Biothion utilizadas, así como con la mayor concentración de Diazinon (Tabla 12). Los restantes insecticidas químicos generaron para este hongo porcentajes de inhibición de 38.0 a 69.6 % (Figura 15). El análisis de varianza aplicado indicó la existencia de diferencias (Apéndice: Tabla 18), por lo cual se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0.05$) que mostró diferencias significativas entre los productos estudiados (Tabla 12). Biometa no mostró diferencias significativas con respecto al control con la menor concentración. Los insecticidas que presentaron el efecto menos perjudicial sobre el crecimiento del hongo fueron Biosulfan y Biometa;

Tabla 11. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *M. anisopliae* obtenido con diversos insecticidas a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

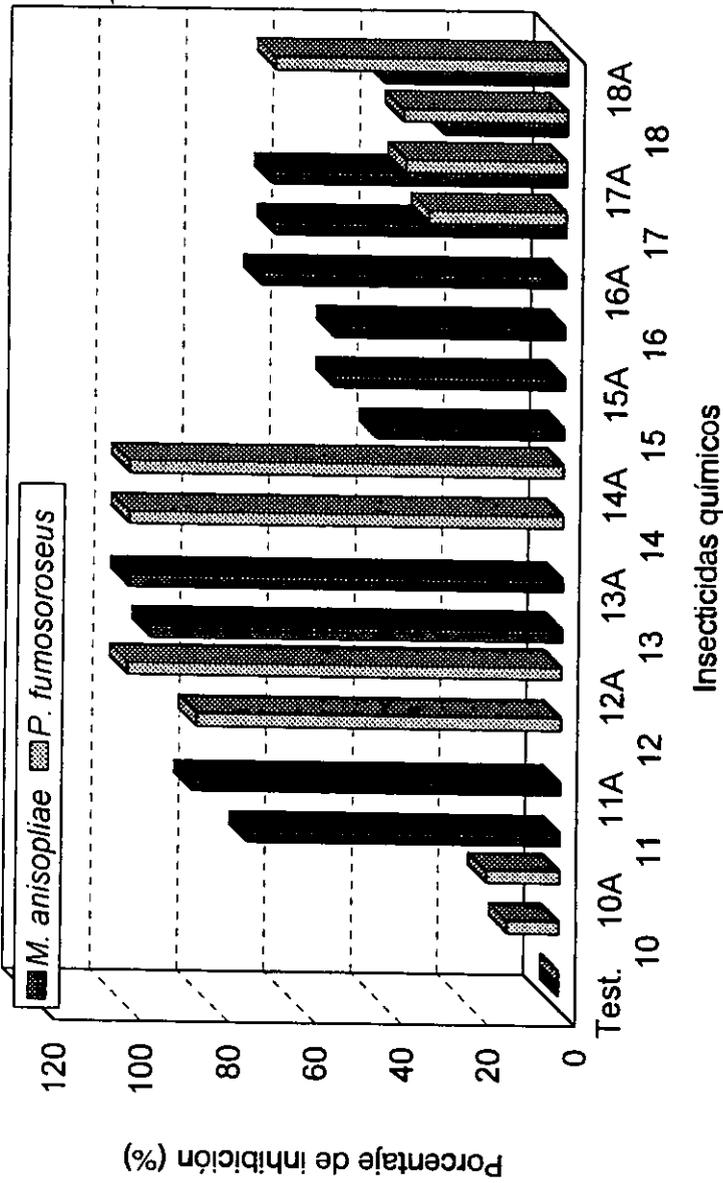
Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
Biothion 1 %	94.7 A	Biothion 1.25 %	100.0 A
Diazinon 0.5 %	71.7 B	Diazinon 0.75 %	84.7 B
Biosulfan 1 %	66.1 B	Biosulfan 1.5 %	67.5 C
Sevin 0.75 %	52.1 C	Sevin 1 %	66.6 C
Corsair 0.170%	42.1 D	Corsair 0.295 %	52.4 D
Dipterex 0.5 %	27.2 E	Dipterex 0.875%	40.7 E
Testigo	0 F	Testigo	0 F

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Tabla 12. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de *P. fumosoroseus* obtenido con diversos insecticidas a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.

Medias del porcentaje de inhibición (% I)*			
Concentración menor	% I	Concentración mayor	% I
Biothion 0.5 %	100.0 A	Biothion 0.75	100.0 A
Diazinon 0.75 %	83.9 B	Diazinon 1 %	100.0 A
Dipterex 0.5 %	38.0 C	Dipterex 0.875%	69.6 B
Biosulfan 1 %	31.7 C	Biosulfan 1.5 %	37.2 C
Biometa 0.5 %	10.5 D	Biometa 0.75 %	16.4 D
Testigo	0 D	Testigo	0 E

*Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$).



- Claves:
- Test. = Testigo
- (10) Biometa 0.5 %
- (10A) Biometa 0.75 %
- (11) Diazinon 0.5 %
- (11A) Diazinon 0.75 %
- (12) Diazinon 0.75 %
- (12A) Diazinon 1 %
- (13) Biothion 1 %
- (13A) Biothion 1.25 %
- (14) Biothion 0.5 %
- (14A) Biothion 0.75 %
- (15) Corsair 0.170 %
- (15A) Corsair 0.295 %
- (16) Sevin 0.75 %
- (16A) Sevin 1 %
- (17) Biosulfan 1 %
- (17A) Biosulfan 1.5 %
- (18) Dipterex 0.5 %
- (18A) Dipterex 0.875 %

Figura 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* con insecticidas químicos.

mientras que los más inhibitorios y perjudiciales sobre el crecimiento del hongo fueron Biothion y Diazinon. Además se observaron diferencias significativas entre las concentraciones baja y alta de Diazinon y Dipterex.

El aspecto morfológico de las colonias a lo largo de este experimento fue variable. El hongo *M. anisopliae* con el piretroide Corsair a la concentración de 0.17 % (43.2 % I) y el organofosforado Dipterex a la más baja concentración 0.5 % (28.4 % I), presentaron morfología y tamaño colonial distintos con respecto al testigo, mostrando el primero una colonia de menor crecimiento con micelio aéreo abundante (Figura 16) y con el segundo, una colonia totalmente aplanada extendida y sin pigmentación (Figura 17). Con el resto de los productos el hongo presentó alteraciones morfológicas variables. Otro ejemplo de alteraciones morfológicas evidentes es con el insecticida metilcarbamato Sevin al 1 % (70.1 % I) y con el organoclorado Biosulfan al 1% (67.2 % I). El primero de estos presentó una colonia de menor crecimiento con aspecto aterciopelado abombado, sin producción de pigmento superficial, y las capas internas del micelio presentaron cierto grado de pigmentación por la presencia de conidios (Figura 18). El organoclorado Biosulfan generó una colonia pequeña con bordes irregulares, con pigmentación irregular y con esferas de micelio blanco superficial (Figura 19). Al utilizar el organofosforado Biothion al 1% (95.0 % I), que presentó el mayor % I en *M. anisopliae*, la colonia fue pequeña, no pigmentada y de color blanco (Figura 20). Por otro lado *P. fumosoroseus* no presentó mayores alteraciones coloniales, salvo el menor tamaño de la colonia con respecto al testigo (Figura 21). Con respecto al estudio de las características morfológicas microscópicas de hifas y conidios, *M. anisopliae* exhibió una morfología normal típica con respecto al testigo excepto en el caso del piretroide Corsair a ambas concentraciones 0.170 y 0.295 % (43.2 y 53.4 % I respectivamente) donde se observaron hifas onduladas con respecto a las hifas del testigo (Figura 22 y 23). El hongo *P. fumosoroseus* mostró un aspecto morfológico de apariencia normal tanto de conidios como de hifas, aunque en las muestras del organoclorado Biosulfan a ambas concentraciones 1 y 1.5 % (31.8 y 37.3 % I, respectivamente) se apreció una menor cantidad de conidios.

Al concluir el experimento al día 10-13 se tomó una muestra de las colonias de ambos hongos crecidas en cada plaguicida y concentración y se sembraron en APD. Las características morfológicas macroscópicas alteradas mostraron una total recuperación a su característica normal, así como el ritmo de crecimiento colonial. Con la excepción de *M. anisopliae*, cuya resiembra en APD del organofosforado Dipterex a ambas concentraciones 0.5 y 0.875 % (28.4 y 42.4 % I respectivamente),

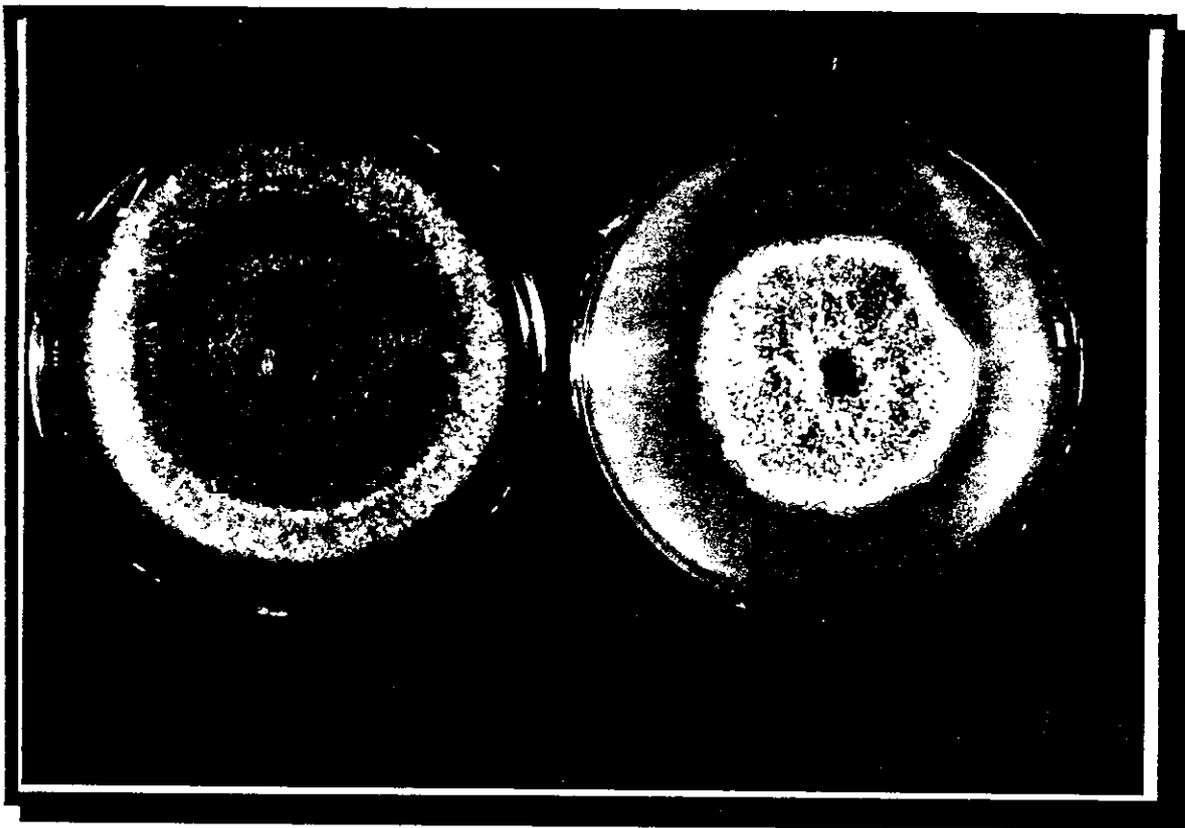


Figura 16. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia con abundante micelio aéreo en medio impregnado del piretroide Corsair 0.170 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

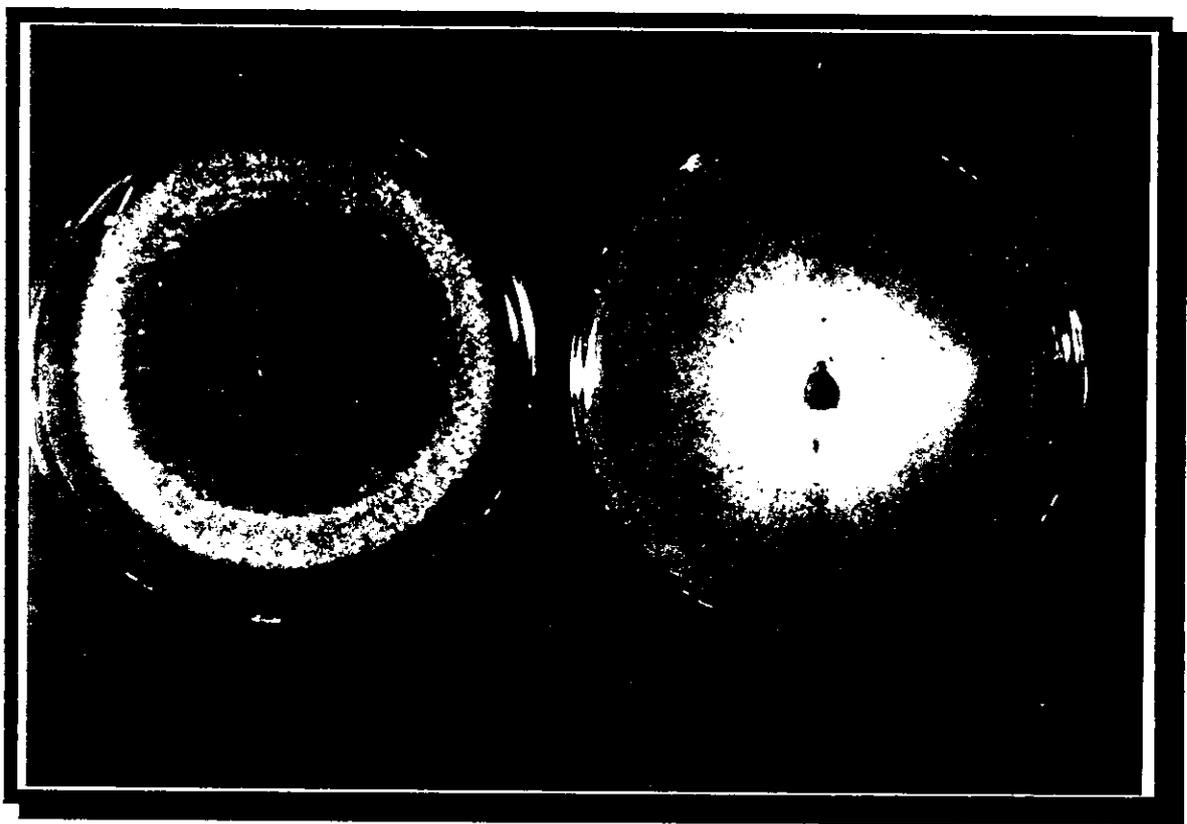


Figura 17. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia aplanada sin pigmento en medio impregnado del organofosforado Dipterex 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

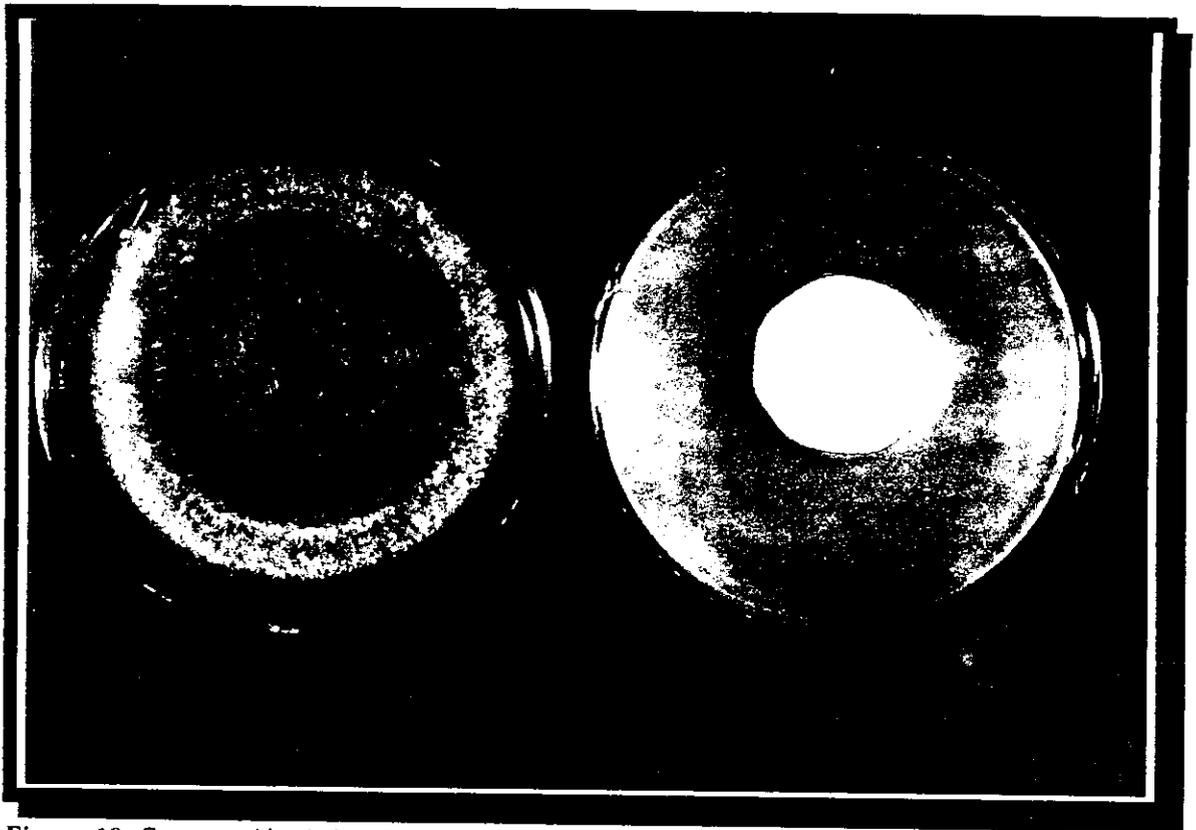


Figura 18. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia aterciopelada, abombada, sin pigmento superficial en medio impregnado del metilcarbamato Sevin 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

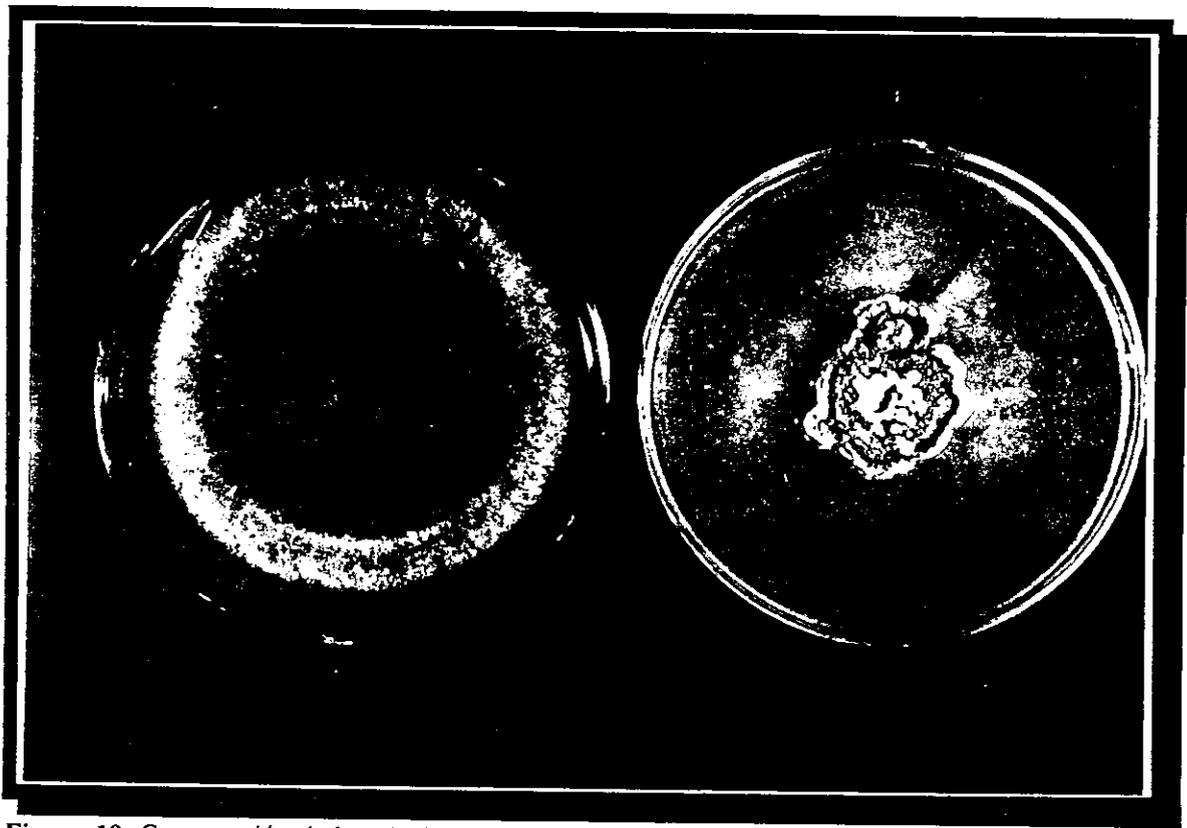


Figura 19. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia con bordes y pigmento irregular, esferas de micelio blanco superficial, en medio impregnado del organoclorado Biosulfan 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

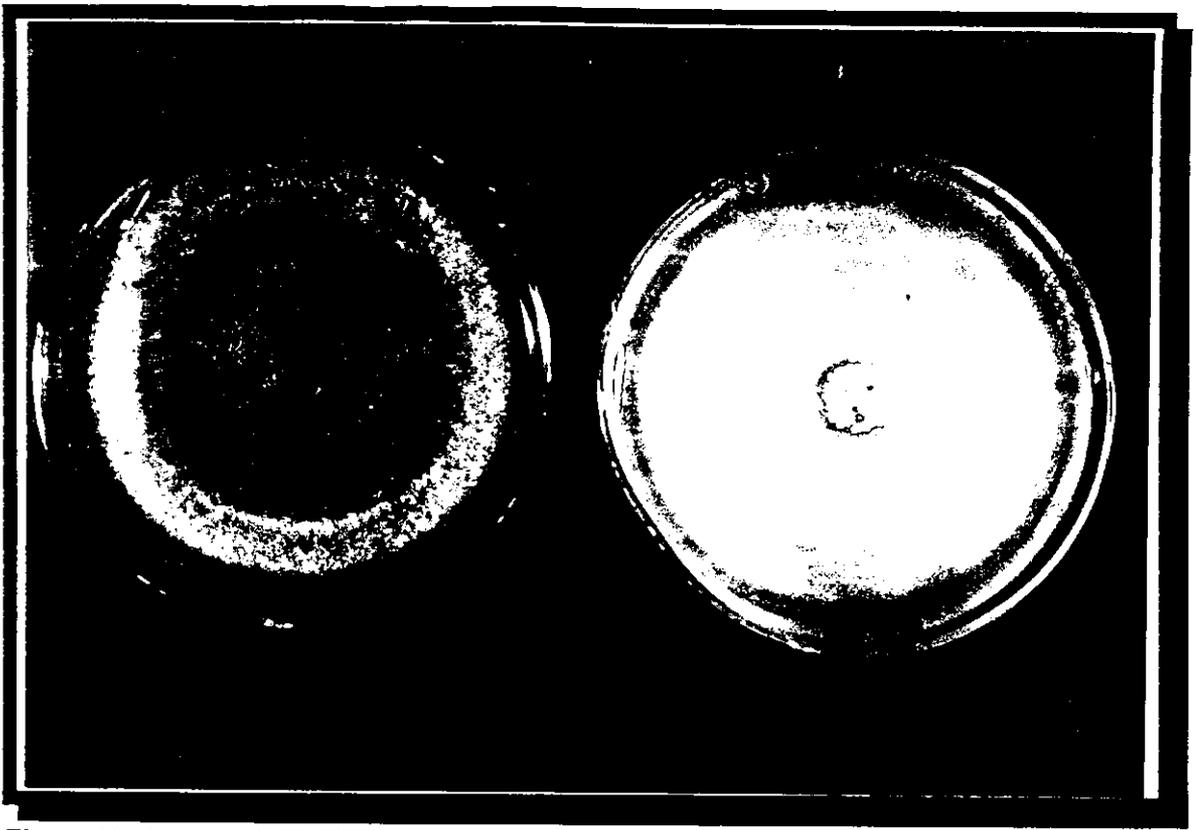


Figura 20. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia pequeña y sin pigmento en medio impregnado del organofosforado Biothion 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.



Figura 21. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y la colonia pequeña en medio impregnado del organofosforado Diazinon 0.75 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.



Figura 22. Aspecto microscópico normal del testigo de *M. anisopliae* (1250X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.



Figura 23. Aspecto microscópico de *M. anisopliae* (1281X) en medio impregnado con el organofosforado Corsair 0.170 %. Se observaron hifas onduladas durante el tiempo de exposición. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

dio origen a colonias de aspecto normal con una pigmentación más tenue de la coloración característica del testigo.

En lo concerniente a las pruebas realizadas con los fungicidas, ambos hongos resultaron ser totalmente incompatibles con los productos, ya que exhibieron un % I de 100 (Figura 24). Se observó una ausencia de crecimiento colonial con todos los fungicidas y concentraciones utilizadas para ambos hongos (Figuras 25 y 26).

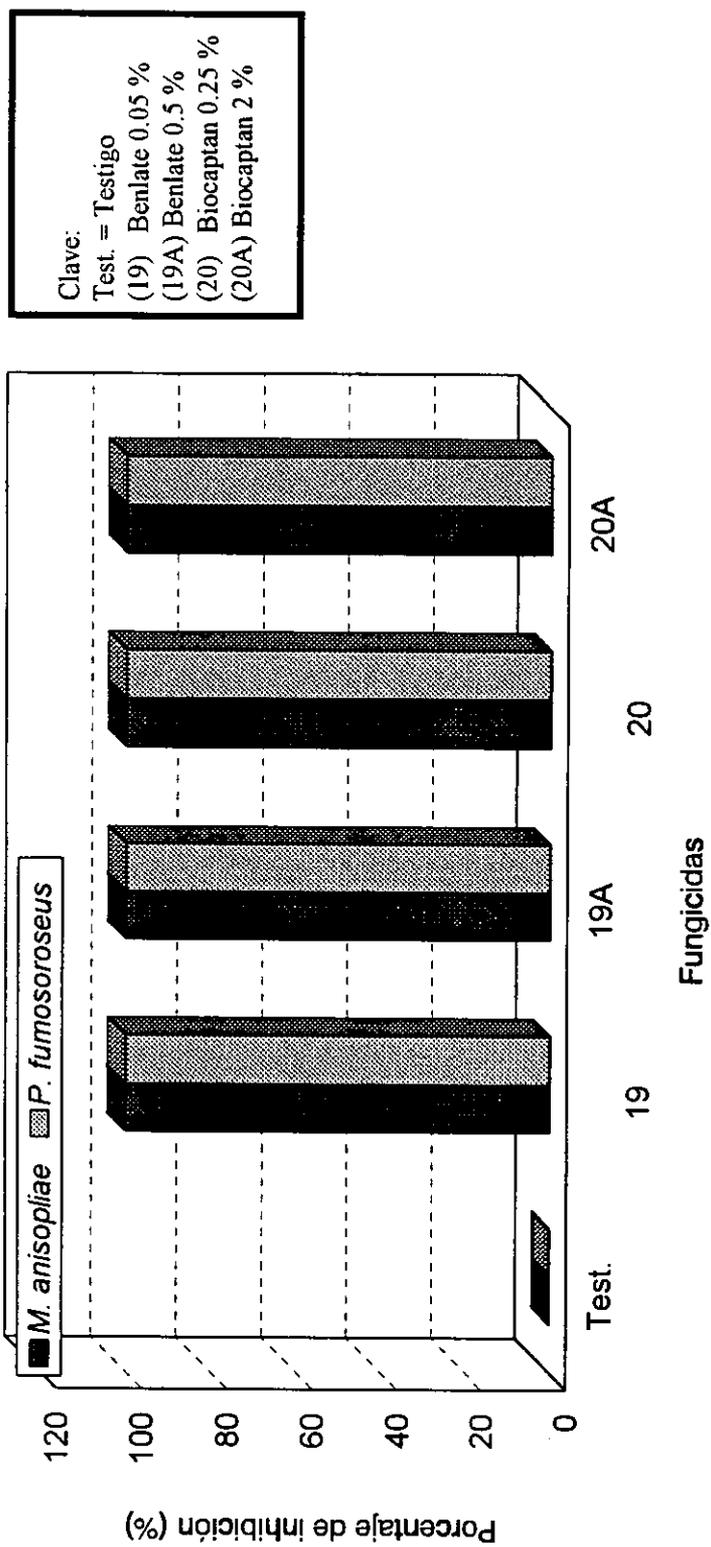


Figura 24 . Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* con fungicidas.

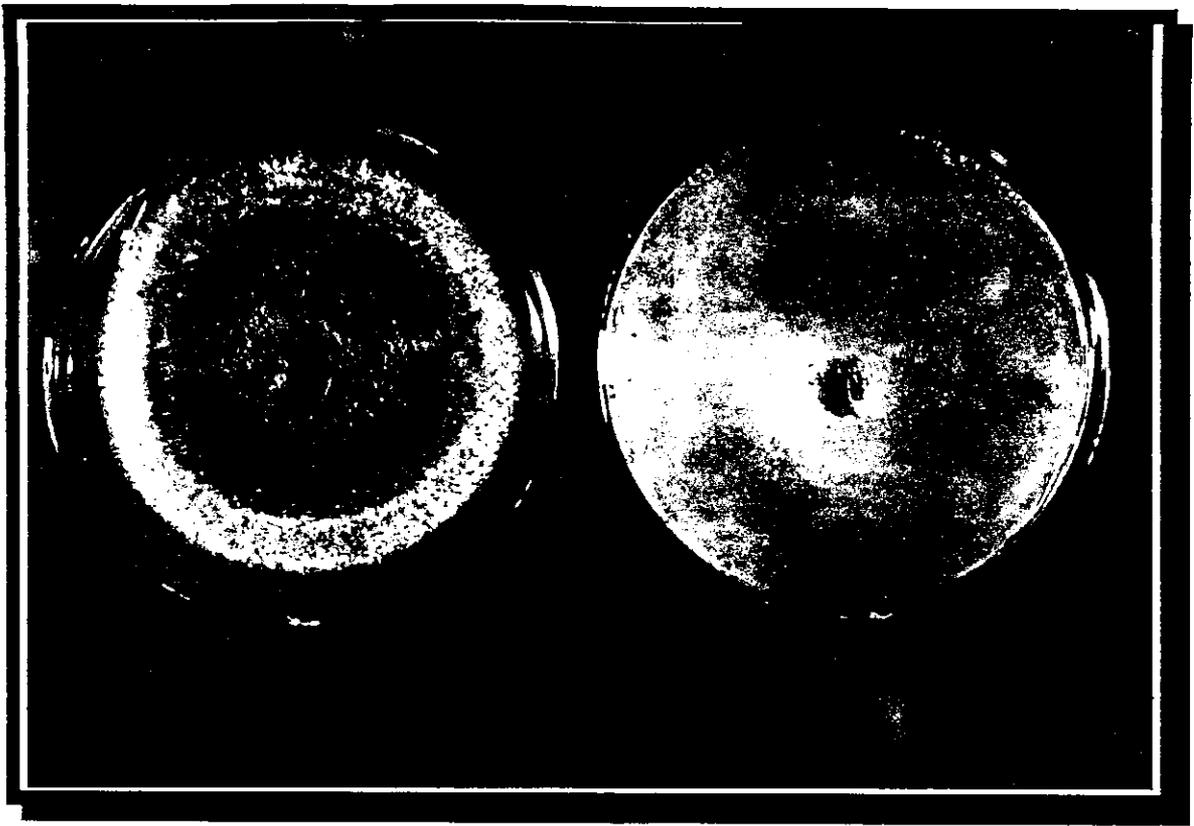


Figura 25. Comparación de la colonia del testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y ningún crecimiento del hongo en medio impregnado con el fungicida Benlate 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

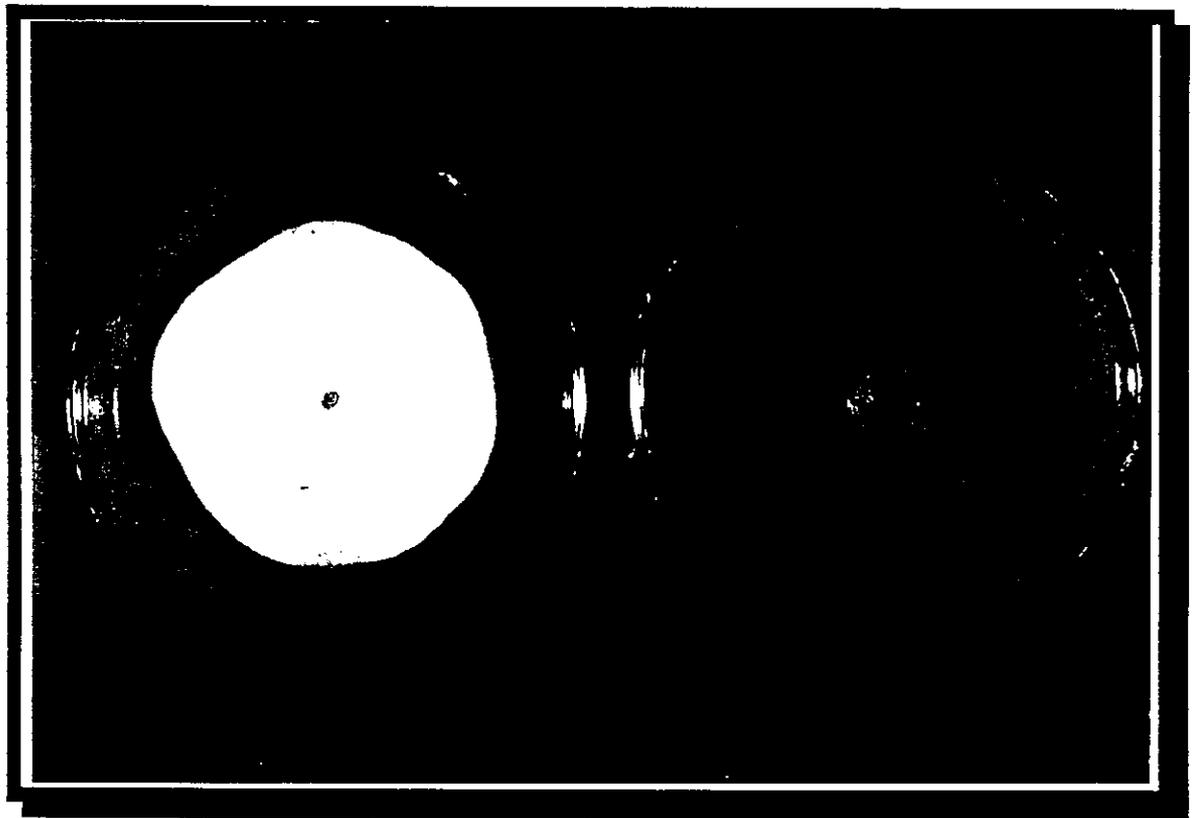


Figura 26. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y ningún crecimiento del hongo en medio impregnado del fungicida Biocaptan 2 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

DISCUSIÓN

El objetivo principal de las pruebas de compatibilidad con los hongos entomopatógenos y las formulaciones comerciales utilizadas en el campo, es poder seleccionar la más apropiada en cuanto a su compatibilidad con el micoinsecticida. La suma de efectos sobre la población plaga, tanto del agente biológico como de agentes químicos selectivos de baja toxicidad, redundará en el control de la población de insectos plaga por debajo de lo que pudiera considerarse de importancia económica.

En los ensayos preliminares se llevaron a cabo una serie de pruebas para encontrar el mejor método para conducir los experimentos de manera óptima. Con respecto a los métodos empleados por otros autores (Soper *et al.*, 1974; Sosa *et al.*, 1984; Carrión *et al.*, 1990; Martínez-Ferrer *et al.*, 1991; Li & Holdom, 1994; Mietkiewski y Górski, 1995 y Silva-Romero y Mier, 1996) que llevaron a cabo pruebas similares *in vitro* con hongos entomopatógenos y agroquímicos reportan, entre otros factores, el uso del medio agar de Sabouraud y/o el medio APD. En el presente trabajo se efectuó una selección del medio óptimo a utilizar en los diferentes experimentos, y se decidió utilizar el medio de cultivo APD para todas las pruebas de compatibilidad por facilidad de preparación, y la observación de una buena esporulación y crecimiento micelial con ambos hongos, además de no presentar problemas al mezclarlo con los diferentes productos ensayados. Por otro lado, los mismos autores, sembraron el hongo, en la mayoría de los casos, con un disco micelial de 5 mm o un cuadrado de micelio de la misma magnitud, otros reportan el empleo de suspensiones de conidios agregadas directamente al medio sin el uso de un pozo central. Estos métodos no permiten tener una suspensión fúngica inicial exacta uniforme. Entre las referencias no se encontró ningún trabajo que emplee un pozo central en el agar para la siembra de una suspensión de conidios con una cuantificación inicial, tal como se efectuó en la presente investigación.

La temperatura de incubación más comúnmente citada para los experimentos *in vitro* varía entre los 22 y 28°C según la especie. En las pruebas preliminares de elección de la temperatura de incubación realizadas en el presente trabajo, se observó un buen crecimiento de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* a 28°C. Sin embargo a 35°C, *P. fumosoroseus* no creció mientras que *M. anisopliae* presentó poco crecimiento; y a 37°C ninguno de los hongos mostró crecimiento, aunque McCammon y Rath (1994) reportan haber encontrado cepas de *M. anisopliae* que germinan a esta temperatura. Los resultados del presente trabajo coinciden con otros autores que indican, en general, que la germinación

de las esporas de los hongos entomopatógenos está comprendida entre los 5 - 35°C, con un óptimo para la germinación, crecimiento micelial y esporulación entre los 25 - 30°C (Samson *et al.*, 1988).

Otra de las pruebas preliminares realizadas en la presente investigación fue el efecto del tween 20 y 80 en el crecimiento de los hongos, al ser usados como agentes dispersantes en las suspensiones. Silva-Romero y Mier (1996) encontraron que el tween 80 al 0.5 % tenía un efecto negativo sobre la viabilidad de los conidios de *V. lecanii* en suspensión, por lo que todas las suspensiones de sus experimentos las efectuaron con agua. En el ensayo de este trabajo no se encontraron diferencias, entre el tamaño del diámetro colonial testigo de agua destilada y las demás cajas donde se inoculó con las suspensiones elaboradas a diferentes concentraciones de tween, por lo que se siguió empleando el tween como agente dispersante, que produce una suspensión homogénea de conidios.

De acuerdo con el análisis estadístico tanto *M. anisopliae* como *P. fumosoroseus* mostraron compatibilidad variable con varios de los adherentes/surfactantes estudiados. *M. anisopliae* podría utilizarse con Penetrator y Kinetic, que aunque presentaron un efecto significativo con respecto al testigo ($P < 0.05$), son los que exhibieron los menores porcentajes de inhibición sobre el crecimiento del hongo. La recomendación sería emplear las dosis mínimas, y probablemente dosis menores a las concentraciones mínimas utilizadas en este estudio para mejorar la compatibilidad del hongo con estos productos. Se deben evitar las mezclas del hongo con los humectantes Citowett, Adhefix y el surfactante Inex-A ya que estos productos generaron las mayores inhibiciones sobre el hongo a las dosis utilizadas. *P. fumosoroseus* podría utilizarse con Kaytar a la dosis mínima, Penetrator, Kinetic y Adhefix 12 a ambas concentraciones que aunque todos estos productos tuvieron un efecto significativo con respecto al testigo ($P < 0.05$) son los que presentaron los menores porcentajes de inhibición sobre el crecimiento del hongo. La recomendación principal sería el empleo de ambas concentraciones ensayadas en el presente trabajo o dosis intermedias de la concentración menor y mayor. Este hongo mostró también la mayor inhibición del crecimiento con el humectante Citowett.

Con base en los resultados con adherentes/surfactantes, el hongo *M. anisopliae* siempre mostró más susceptibilidad a estos productos, al comparar sus porcentajes de inhibición con los de *P. fumosoroseus*. Alves (1986) menciona los resultados de la compatibilidad del hongo *M. anisopliae* a adherentes, indicando que el hongo es moderadamente compatible con los adherentes Extravon 200 L (alquil-fenol-poliglicol éter), Colombina L (éter poliglicólico de nonilfenol), Esapon L (sulfonatos de sodio de ésteres de ácidos grasos y alcoholes de cadena larga y abietato de dietileno glicol), Sandovit L (éter poliglicólico aromático) e Iharaguen L (polietileno 2 fenil-éter); los tres primeros a las dosis

mediana y mínima; y con los dos productos restantes, con base a las dosis mínimas, recomendadas por el fabricante. Sugiere entonces, la mezcla entre este hongo con el 50 % de la dosis mínima. Estos resultados coinciden con algunos de los adherentes/surfactantes ensayados con la misma especie de hongo en el presente trabajo.

Ambos hongos estudiados fueron totalmente compatibles con los fertilizantes utilizados por lo que se recomienda su uso, a las dosis estudiadas en este trabajo. En algunos casos, la colonia del hongo superó el tamaño de la del testigo al décimo día de crecimiento, lo que sugiere que los fertilizantes proporcionan elementos inorgánicos que favorecen el mejor crecimiento de los hongos ensayados.

La compatibilidad de diferentes hongos entomopatógenos con insecticidas químicos en medio impregnado ha sido llevada a cabo por diversos autores. Soper *et al.* (1974) trabajaron insecticidas químicos con *Entomophthora* spp. y con el fitopatógeno *Alternaria solani*; ambos resultaron ser compatibles con el demeton (organofosforado). Sosa-Gómez *et al.* (1984) con *Hirsutella thompsonii* encontraron que el hongo fue compatible con el carbofenotión (organofosforado, discontinuado) ya que fue el que menos afectó el crecimiento colonial de las tres variedades del hongo a las dos concentraciones que usaron; por el contrario no recomendaron el dicofol-tetradifón (organoclorado, discontinuado), el clorobencilato (benzilato) y metidación (organofosforado) por los efectos negativos observados sobre el crecimiento colonial de las cepas a las dos concentraciones ensayadas y por el daño al ambiente de estos químicos. Además, indican que el metidación es letal para las cepas a las dosis ensayadas. Li & Holdom (1994) que trabajaron con el hongo *M. anisopliae* reportan compatibilidad con carbofurán (carbamato) y aldicarb (carbamoiloxima) a todas las dosis ensayadas; y variaciones en la compatibilidad con clorpirifos (organofosforado), etoprofos (organofosforado), fenamifos (organofosforado), al usar la concentración mayor en el medio de cultivo. Mietkiewski y Górski (1995) obtuvieron que los hongos *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* y *P. farinosus* son compatibles con la alfa metrina (piretroide), pirimicarb (dimetilcarbamato), y dimetoato (organofosforado), todos ellos a las dosis más baja y de uso en campo; los dos últimos productos son letales para el hongo a la concentración 10 veces más alta a la de uso común en el campo. Silva-Romero *et al.* (1996) con *Verticillium lecanii* indican que este hongo es compatible con los tres productos ensayados (a dos diferentes dosis), los productos fueron la permetrina (piretroide), el metamidofós (organofosforado), y la λ cialotrina (piretroide), aunque recomiendan para el campo, la mezcla entre la permetrina y el hongo *V. lecanii* por ser la de menor efecto dañino para el hongo, así como para el hombre y el ambiente.

En el presente trabajo, en los experimentos del hongo *M. anisopliae* con insecticidas químicos, el mejor crecimiento radial se observó con la menor concentración del triclorfón (organofosforado) seguido de la mayor del mismo y la concentración más baja de la permetrina (piretroide). La recomendación sería utilizar subdosis de la menor concentración de triclorfón e inclusive probar subdosis de la menor concentración de la permetrina. Estos productos son dos de los que Alves (1996) recomienda utilizar en subdosis con *M. anisopliae* para el control de cercopídeos en gramíneas, por ser la permetrina compatible y el triclorfón moderadamente compatible en el estudio realizado por él.

El mejor crecimiento radial de *P. fumosoroseus* se observó con las dos concentraciones del metamidofós (organofosforado), seguido de las dos del endosulfán (organoclorado), y la concentración más baja del triclorfón (organofosforado). Se recomienda el empleo de metamidofós a las concentraciones estudiadas en el presente trabajo o subdosis de ambas concentraciones dada su similitud en porcentaje de inhibición. Con endosulfán se recomiendan subdosis de ambas concentraciones ya que son muy similares los porcentajes de inhibición y triclorfón en subdosis de la mínima. *P. fumosoroseus* al igual que *M. anisopliae* fueron incompatibles con diazinón y malatión, ambos organofosforados, y dañinos al ambiente.

Los datos anteriores muestran que la compatibilidad e incompatibilidad *in vitro* de los hongos entomopatógenos con insecticidas químicos es variable, ya que puede abarcar diferentes ingredientes activos de grupos toxicológicos diversos, sin sugerir que un determinado grupo afecte de manera particular este grupo de hongos; en el presente trabajo, los organofosforados Biothion y Diazinon fueron los que generaron los mayores porcentajes de inhibición sobre ambos hongos. Un factor destacado por Anderson y Roberts (1983) con *B. bassiana* y Li & Holdom (1994) con *M. anisopliae* es la formulación de los productos comerciales, ya que mencionan que la inhibición de los hongos por estos productos se puede deber en gran medida a la formulación más que por el ingrediente activo. En el presente trabajo se utilizaron los insecticidas químicos formulados, atendiendo las indicaciones tal como se emplean en el campo.

La compatibilidad e incompatibilidad de los hongos imperfectos y hongos entomopatógenos a estos productos químicos parece estar en función de las concentraciones utilizadas como sugieren Soper *et al.* (1974), Li & Holdom (1994), Mietkiewski y Górski (1995), y Silva-Romero *et al.* (1996). Estos autores coinciden en indicar que la tolerancia de estas especies en medio impregnado con insecticidas químicos está en función de la concentración pues a menor porcentaje de ingrediente activo o concentración del producto la tolerancia es mayor y viceversa. Este comportamiento fue observado en

la mayoría de los casos del presente trabajo, aún en productos que fueron considerados incompatibles para los hongos pero que presentaron crecimiento colonial.

Entre los resultados observados en este trabajo, destaca el organofosforado malatión a las dosis ensayadas que abatió totalmente el crecimiento micelial de los dos hongos estudiados comportándose de manera similar a un fungicida; el organofosforado metidatión con el hongo *H. thompsonii* tuvo igualmente un efecto totalmente inhibitorio a las dos concentraciones ensayadas según Sosa-Gómez *et al* (1984). Sin embargo, es importante mencionar que Yendol y Hamlin (1973), citados por Clark *et al.* (1982), observaron que la inhibición provocada en campo por los plaguicidas es claramente menor que la provocada por las mismas dosis en estudios de laboratorio.

Anderson y Roberts (1983) observaron en estudios de invernadero que la aplicación del hongo y del insecticida por separado, aminora los efectos inhibitorios sobre el hongo, por lo que recomiendan utilizarlos de esta manera. Li & Holdom (1994), Mietkiewski y Górski (1995) y Sosa-Gómez *et al* (1984) con diferentes hongos, así como con diferentes cepas del mismo, observaron la influencia tanto intraespecífica como interespecífica que puede presentar un mismo insecticida. Mietkiewski y Górski (1995) en el mismo trabajo, plantean que la velocidad de crecimiento de los hongos entomopatógenos en medio de cultivo impregnado con insecticidas químicos puede estar asociada con el hospedero y el hábitat de donde se aisló el microorganismo, ya que encontró diferencias en las compatibilidades de acuerdo al hábitat de la cepa (agrícola y forestal). Li & Holdom (1994) observaron que *M. anisopliae* es más tolerante a insecticidas que a fungicidas, lo cual es similar para el presente estudio como en otros relacionados.

Los estudios de compatibilidad *in vitro* de hongos entomopatógenos con insecticidas químicos han marcado la pauta para establecer si existe o no un efecto sinérgico entre estos hongos y los productos químicos en campo para el combate de una determinada plaga. Un ejemplo de sinergismo hongo/insecticida químico, es la compatibilidad del hongo *Paecilomyces fumosoroseus* con el organoclorado endosulfán, con un efecto sinérgico entre el hongo y este ingrediente activo en el control de la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) en el campo (Torres-Sánchez y Cárdenas-Cota, 1996). Otro ejemplo es el que encontraron Kaakeh *et al.* (1996) con imidacloprid y el hongo *M. anisopliae*, donde observaron un efecto sinérgico sobre la cucaracha alemana *Blatella germanica*. Sin embargo, aún no se tiene la formulación y método de aspersion más adecuado para la aplicación conjunta del hongo e ingrediente activo en el manejo de esta importante plaga; estos estudios se llevaron a cabo tanto en el laboratorio como en el campo.

Con respecto al grupo de fungicidas, existen diversos trabajos que muestran la incompatibilidad de estos productos con los hongos entomopatógenos. Estos productos son ampliamente utilizados en el campo, ya que los hongos fitopatógenos son una verdadera plaga durante la estación lluviosa. Silva-Romero *et al.* (1996) encontraron que el fungicida benomil fue incompatible para *V. lecanii*, impidiendo el crecimiento micelial aún a concentraciones inferiores a las especificaciones del producto para su uso en campo (0.05 mg/l). Li & Holdom (1994) obtuvieron similares resultados con *M. anisopliae*, el cual fue incompatible con los fungicidas ensayados propiconazol, procloraz, flusilazol (del grupo de los conazoles) y carbendazim (benzimidazol) que fueron tóxicos para el crecimiento del hongo aún a la más baja concentración de i.a. (0.0001 %). Soper *et al.* (1974) encontraron que benomil (benzimidazol), hidróxido de cobre (cobre), maneb (ditiocarbamato), metirán (ditiocarbamato) a las dosis usadas en el campo inhiben todas las especies de *Entomophthora* spp. En el presente trabajo se ensayaron dos fungicidas, benomil al 0.05% (benzimidazol) y captán 0.25 % (phthalimida), ambos porcentajes corresponden a las concentraciones más bajas ensayadas y al igual que los otros autores anteriores, se observó una inhibición total del crecimiento micelial de ambos hongos. Cabe mencionar que no siempre el efecto de un fungicida es totalmente inhibitorio al crecimiento micelial, pues Martínez-Ferrer *et al.* (1991) encontraron que el control *in vitro* con los fungicidas para el hongo fitopatógeno *Acremonium* spp. fue nulo o no efectivo con el cobre, carbamatos, derivados del ácido ftálico, derivados de benceno, antifúngicos clásicos, carboxinas, fenilamidas, antifomicetos del suelo y productos específicos anti-rhizoctonia. Soper *et al.* (1974) encontraron que el clorotalonil (clorofenil), a las dosis usadas para el campo es compatible con *Entomophthora* spp. En este mismo ensayo el fitopatógeno *Alternaria solani* no se vio afectado por el benomil el cual inhibió su crecimiento micelial un bajo porcentaje con respecto al control. Carrión *et al.* (1990) con *V. lecanii* encontraron que la densidad micelial del hongo se ve afectada a concentraciones mayores de los fungicidas triadimefón (conazol) y oxiclورو de cobre (cobre) más que a las menores, aunque su ensayo fue sólo cualitativo. Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los de Li & Holdom (1994), Silva-Romero *et al.* (1996) y Martínez-Ferrer *et al.* (1991) por lo cual también se recomienda, no utilizar hongos entomopatógenos al mismo tiempo que fungicidas ya que abaten totalmente el crecimiento micelial aún a las concentraciones más bajas.

Las alteraciones morfológicas de las colonias observadas sobre todo en *M. anisopliae* con insecticidas químicos son también mencionadas por Silva-Romero y Mier (1996) con *V. lecanii* en presencia de los insecticidas químicos: permetrina, metamidofós, y la λ cialotrina. Sin embargo, al

resembrar los hongos estudiados en medios libres de agroquímicos, las colonias recuperaron la morfología colonial característica. Este comportamiento fue observado asimismo por Silva-Romero y Mier (1996), Carrión *et al.* (1990) con *V. lecanii* y Soper *et al.* (1974) con *Entomophthora* spp.

El análisis de los datos encontrados sugiere que los hongos *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* pueden ser usados en combinación con la mayoría de los adherentes/surfactantes y todos los fertilizantes, ya que ambos mostraron crecimiento normal al incluir estos productos en el medio de cultivo. Con los insecticidas químicos se observó una inhibición del crecimiento, por lo que las combinaciones que se hagan con estos productos deben ser realizadas cuidadosamente, usando para ello concentraciones menores a las especificadas por los productos, y solamente en casos necesarios.

Tomando en cuenta la toxicología de los insecticidas químicos utilizados expuesta en Worthing y Hance (1991), con base en la DL_{50} oral aguda para ratas y el porcentaje de inhibición de estos productos en el presente trabajo, se sugiere subdosis de permetrina (piretroide) para la aplicación en campo cuando también se vaya a utilizar el hongo *M. anisopliae* como un control microbiano. Este producto representa un menor riesgo para la salud humana y vertebrados. Aunque estadísticamente el triclorfon a dosis mínima resultó ser menos inhibitorio para el hongo, este producto es un riesgo para la salud humana de acuerdo a su toxicología. Al utilizar *P. fumosoroseus* como control microbiano, los resultados sugieren aplicaciones alternativas con endosulfán (organoclorado) a las subdosis de la concentración mayor y mínima, pues los porcentajes de inhibición de ambas concentraciones resultaron ser bastante similares. Este producto representa un menor riesgo para la salud humana y vertebrados, Hernández y Berlanga (1995), (citados por Torres-Sánchez y Cárdenas-Cota, 1996) encontraron un efecto sinérgico con el hongo en el control de la mosquita blanca en campo. Aunque las concentraciones estudiadas de metamidofós en el presente trabajo resultaron tener un menor efecto inhibitorio sobre el hongo, que con el biosulfán, es un producto que representa un alto riesgo para la salud humana.

Por último, no se recomiendan realizar mezclas de estos hongos con los fungicidas (benomil y captán) ya que los efectos de estos sobre su crecimiento mostró una elevada inhibición aún a bajas concentraciones.

Estudios posteriores en campo podrán establecer si existe o no un efecto sinérgico entre los hongos estudiados y los productos químicos compatibles encontrados.

CONCLUSIONES

1. *Metarhizium anisopliae* presentó una mayor susceptibilidad que *P. fumosoroseus* a los insecticidas químicos.

- Las mejores compatibilidades de acuerdo a los % I del crecimiento observados fueron:

Adherentes /surfactantes: Penetrator, Kinetic.

Fertilizantes: Fertilizante foliar Arco iris y Musol.

Insecticidas: Dipterex (organofosforado) y Corsair (piretroide).

Fungicidas: Ninguno.

- La morfología colonial se observó alterada con algunos adherentes/surfactantes e insecticidas químicos.

2. *Paecilomyces fumosoroseus* presentó una mayor resistencia a los insecticidas químicos que *M. anisopliae*.

- Las mejores compatibilidades de acuerdo a los % I del crecimiento observados fueron:

Adherentes /surfactantes: Adhefix 12, Kinetic, Penetrator y Kaytar.

Fertilizantes: Fertilizante foliar Arco iris y Musol.

Insecticidas: Biometa (organofosforado) y Biosulfan (organoclorado).

Fungicidas: Ninguno.

- La morfología colonial no se observó alterada con la mayoría de productos estudiados con la excepción del surfactante/adherente Penetrator.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. 1996. Introductory Mycology. John Wiley & Sons, New York.
- Alves SB. 1986. Controle microbiano de insetos. Manole, Brasil.
- Anderson TE, Roberts DW. 1983. Compatibility of *Beauveria bassiana* isolates with insecticide formulations used in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) control. J. Econ. Entomol. 76: 1437-1441.
- Anderson TE, Hajek AE, Roberts DW, Priestler HK, Robertson JL. 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. J. Econ. Entomol. 82: 83-89.
- Azañón EV. 1996. Evaluación de nueve cepas de *Metarhizium anisopliae* en el control de cuatro plagas insectiles de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* a nivel de laboratorio. Tesis de licenciatura en Ciencias Agrícolas, Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Guatemala.
- Boucias GD, Pendland CJ. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticle. The initial event of mycoses in arthropod hosts. In: Cole TG, Hoch CH. (Eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press, New York & London.
- Carrion G, Ruiz-Belin F, Alarcón-Mora R. 1990. Efecto del triadimefón y del oxiclóruo de cobre en el crecimiento *in vitro* de *Verticillium lecanii*. Rev. Mex. Mic. 6: 85-90.
- Chamley AK, St. Leger RJ. 1991. The role of cuticle-degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. In: Cole TG, Hoch CH. (Eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press, New York and London.
- Clark RA, Casagrande RA, Wallace DB. 1982. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle. Env. Entomol. 11: 77-70.
- Coronado PR. 1978. Memoria de la campaña contra la mosca pinta. Dirección Gral. de Sanidad Vegetal. SARH, Talleres gráficos de la Nación, México D.F.
- Deacon JW. 1988. Introducción a la micología moderna. Limusa, México D.F.
- DeBach P. 1987. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. CECOSA, México D.F.

- García SC, Byerly KF. 1995. Manejo integrado de plagas. En: SAGAR. Fitófilo. Desafíos fitosanitarios: Mosquita blanca. 48 (88): 71-88.
- Glare TR, Jackson AJ. 1992. Use of pathogens in scarab pest management. Intercept, Andover, England, pp. 63-77.
- Goettel MS, St. Leger RJ, Rizzo NW, Staples RC, Roberts DW. 1989. Ultrastructural localization of a cuticle-degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. J. Gen. Microbiol. 135: 2233-2239.
- Goettel MS, St. Leger RJ, Bhaifi S, Jung MK, Oakley BR, Roberts DW, Staples RC. 1990. Pathogenicity and growth of *Metarhizium anisopliae* stably transformed to benomyl resistance. Curr. Genet. 17: 129-132.
- Guía de plaguicidas autorizados de uso agrícola. 1994. Subsecretaría de Agricultura. Dirección General de Sanidad Vegetal, SARH, México.
- Ferron P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980, Burges HD, (Ed.) Academic Press, London, pp. 465-482.
- Hajek AE, St. Leger RJ. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annu. Rev. Entomol. 39: 293-322.
- Hall RA, Papierok B. 1982. Fungi as biological control agents of arthropods pests. Parasitol. 84: 205-240.
- Hilje, L. 1994. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. En: Biología y Manejo del complejo mosca blanca-virosis. Mata M, Dardón AD, Salguero NVE (Eds.). Memorias del III taller Centroamericano y del Caribe sobre mosca blanca, Antigua Guatemala, 19-23 septiembre, p. 53.
- Ignoffo CM. 1973a. Effects of entomopathogens on vertebrates. Ann. N.Y. Acad. Sci., 217: 141.
- Ignoffo CM. 1973b. Vertebrates and entomopathogens, Ann. N.Y. Acad. Sci., 217: 165.
- Ignoffo CM, Hostetter DL, García C, Pinell RE. 1975. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemical pesticides used on soybeans. Env. Entomol. 4: 765-768.
- Irmiahu O, Kenneth RG. 1974. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Env. Entomol. 3: 33-38.
- Kaakeh W, Reid BL, Bohnert TJ, Bennett GW. 1997. Toxicity of imidacloprid in the german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae), and the synergism between imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect fungi: Hyphomycetes). J. Econ. Entomol. 90: 73-482.

- Krantz GW. 1978. A manual of acarology. 2nd. Edition, Oregon State University.
- Lagunes TA, Rodríguez M J, Mota SD. 1994. Combate Químico de Plagas Agrícolas en México. Colegio de Postgraduados, Consejo Nacional Consultivo y Fitosanitario. SARH. Montecillo, México.
- Laird M, Lacey LA, Davidson EW. 1990. Safety of microbial insecticides. C. R. C. Press, Boca Raton Florida. E. U. A.
- Li DP, Holdom DG. 1994. Effects of pesticides on growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). J. Invertbr. Pathol. 63: 209-211.
- Lorence QA. 1996. Cuadernos de vigilancia tecnológica: 1. Biopesticidas. CamBioTec. México D. F.
- Manual de Agroquímicos, Químico-Farmacéuticos, Alimenticios y Biológicos Sanitarios. 1988. (Vol. I: Plaguicidas). SARH, México.
- Martínez-Ferrer G, Alfaro A, García-Jimenez J. 1991. Eficacia de diversos fungicidas frente a *Acremonium* sp., agente causal de la muerte súbita del melón. Invest. Agr. Prod. Veg. 6: 388-409.
- McCammon SA, Rath AC. 1994. Separation of *Metarhizium anisopliae* strains by temperature dependent germination rates. Mycol. Res. 98: 1253-1257.
- Mier T, Pérez J, Carrillo-Farga J, Toriello C. 1989. Study on the innocuity of *Hirsutella thompsonii*. I. Infectivity in mice and guinea pigs. Entomophaga. 34: 105-110.
- Mier T, Rivera F, Bermúdez JC, Domínguez Y, Ulloa M. 1991. Primer reporte en México del aislamiento de *Verticillium lecanii* a partir de la mosquita blanca y pruebas de patogenicidad *in vitro* sobre este insecto. Rev. Mex. Mic. 7: 149-156.
- Mier T, Toriello C. 1994. Hongos Microscópicos para el Control de Plagas Agrícolas. Ciencia y Desarrollo. 19 (114): 64-71.
- Mier T, Rivera F, Rodríguez-Ponce MP, Carrillo-Farga J, Toriello C. 1994. Infectividad del Hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* en ratones y cobayos. Rev. Lat.-Amer. Microbiol. 36: 107-111.
- Mietkiewski R., Górski R. 1995. Growth of selected entomopathogenic fungi and isolates on media containing insecticides. Acta Mycol. 30 (1): 27-33.
- Ortega ALD, Rodríguez JMC. 1995. Manejo integrado de plagas. En: SAGAR. Fitófilo. Desafíos fitosanitarios: Mosquita blanca. 48 (88): 71-88.
- Ramírez VJ. 1996. Manejo integrado de la mosquita blanca de la hoja plateada. Universidad Autónoma de Sinaloa, Fac. de Agronomía, Culiacán Rosales, Sin., México.

- Remaudière G y Latgé JP. 1985. Importancia de los hongos patógenos de insectos (especialmente Aphididae y Cercopidae) en México y perspectivas de uso. Bol. Serv. Plagas. 11: 217-225.
- Riess HCM, Flores CS. 1996. Catálogo de plagas de la caña de azúcar en México. Comisión nacional de la industria azucarera. Instituto para el mejoramiento de la producción de azúcar. México.
- Roberts DW. 1989. World picture of biological control of insects by fungi. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 84 (3): 89-100.
- Romero MA. 1995. Aspectos básicos de la mosquita blanca. En: SAGAR. Fitófilo. Desafíos fitosanitarios: Mosquita blanca. 48 (88): 71-88.
- Samson RA. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Stud. Mycol. 6: 1-117.
- Samson RA, Evans HC. 1982. Two new *Beauveria* spp. from South America. J. Invertbr. Pathol. 39: 93-97.
- Samson RA, Evans HC, Latgé JP. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, Netherlands.
- Siegel JP, Shaddock JA. 1990. Safety of microbial insecticides to vertebrates-humans. In: Safety of Microbial Insecticides. Laird M, Lacey LA, Davidson EW (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 101-132.
- Silva-Romero CV, Mier TG. 1996. Estudio *in vitro* de cuatro plaguicidas químicos sobre el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. Servicio Social, UAM-X, México, D.F.
- Soper RS, Holbrook FR, Gordon CC. 1974. Comparative pesticides effects on *Entomophthora* and the phytopathogen *Alternaria solani*. Env. Entomol. 3: 560-562.
- Sosa-Gómez DR, Manzur J, Naasca AJ. 1984. Efecto del clorobencilato, dicofol-tertidifon, carbofenotion y metidation sobre tres variedades de *Hirsutella thompsonii*. CIPRON-Revista de Investigación. 2 (3-4): 115-126.
- St Leger RJ, Charnley AK, Cooper RM. 1991. Kinetics of the digestion of insects cuticles by a protease (Pr1) from *Metarhizium anisopliae*. J. Invertbr. Pathol. 57: 146-147.
- St Leger RJ, Frank DC, Roberts DW, Staples RC. 1992. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Eur. J. Biochem. 204: 991-1001.
- St Leger RJ, Joshi L, Bidochka MJ, Roberts DW. 1995a. Protein synthesis in *Metarhizium anisopliae* growing on host cuticle. Mycol. Res. 99: 1034-1040.

- St Leger RJ. 1995b. The role of cuticle-degrading proteases in fungal pathogenesis of insects. *Can. J. Bot.* 73 (Supl. I): S1119-S1125.
- Tedders WL. 1981. *In vitro* inhibition of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* by six fungicides used in pecan culture. *Env. Entomol.* 10: 346-349.
- Toriello C. Mier T. 1985. Panorama general de los hongos entomofitoforos en el control de la mosca pinta en México. *Rev. Mex. Mic.* 1: 37-50.
- Toriello C. 1997. Los hongos y el control biológico. Simposio: Aplicaciones tecnológicas de los hongos. En: Memorias del XI Congreso Centroamericano y V Nacional de Microbiología. Guatemala, Centro América. Noviembre 24-28, pp. I 39-I 40.
- Torres-Sánchez E, Cárdenas-Cota H. 1996. *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith en el control microbiano de la mosca blanca *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae). En: Memorias Simposium de Control Biológico de Mosca Blanca, XIX Congreso Nacional de Control Biológico, Culiacán, Sinaloa, Noviembre, pp. 34-36.
- Worthing RC, Hance JR. 1991. The pesticide manual. A world compendium. Ninth ed., British Crop Protection Council (BCPC), London.

APÉNDICE

Tabla 13. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *M. anisopliae* con adherentes/surfactantes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	7	47097.984375	6728.283691	334.5905	0.000
FACTOR B	1	605.468750	605.468750	30.1093	0.000
INTERACCION	7	318.125000	45.446430	2.2600	0.033
ERROR	128	2573.953125	20.109009		
TOTAL	143	50595.531250			

* Existe diferencia entre tratamientos (P < 0.05)

Tabla 14. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *P. fumosoroseus* con adherentes/surfactantes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	7	28397.3320313	4056.760010	133.5814	0.000
FACTOR B	1	397.929688	397.929688	13.1031	0.001
INTERACCION	7	539.960938	77.137276	2.5400	0.017
ERROR	128	3887.257813	30.369202		
TOTAL	143	33222.468750			

* Existe diferencia entre tratamientos (P < 0.05)

Tabla 15. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *M. anisopliae* con fertilizantes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	2	43.449409	21.724705	3.1160	0.052
FACTOR B	1	27.806679	27.806679	3.9884	0.049
INTERACCION	2	29.863411	14.931705	2.1417	0.127
ERROR	48	334.653198	6.971941		
TOTAL	53	435.772697			

* No existen diferencias entre tratamientos.

Tabla 16. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *P. fumosoroseus* con fertilizantes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	2	1.920000	0.960000	3.1714	0.049
FACTOR B	1	0.001667	0.001667	0.0055	0.939
INTERACCION	2	0.033333	0.001667	0.0055	0.995
ERROR	48	14.530001	0.302708		
TOTAL	53	16.455001			

* No existen diferencias entre tratamientos ($P < 0.5$).

Tabla 17. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *M. anisopliae* con insecticidas químicos.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	6	108392.25000	18065.375000	641.6561	0.000
FACTOR B	1	2156.281250	2156.281250	76.5880	0.000
INTERACCION	6	980.875000	163.479172	5.8065	0.000
ERROR	112	3153.281250	28.154297		
TOTAL	125	114682.687500			

* Existe diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$)

Tabla 18. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de *P. fumosoroseus* con insecticidas químicos.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F *
FACTOR A	5	150159.531230	30031.906250	641.6561	0.000
FACTOR B	1	2623.578125	2623.578125	76.5880	0.000
INTERACCION	5	3336.984375	667.396851	5.8065	0.000
ERROR	96	6477.156250	67.470375	9.8917	0.000
TOTAL	107	162597.250000			

* Existe diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$)

ÍNDICE DE TABLAS

	Pags.
Tabla 1. Ingredientes activos utilizados en México para el control químico de la mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) y salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en cultivos de importancia económica.	11
Tabla 2. Tipo y concentración de adherentes/surfactantes, fertilizantes, insecticidas químicos y fungicidas utilizados, y la especie de hongo con la que se efectuaron las pruebas de compatibilidad <i>in vitro</i> .	23
Tabla 3. Concentraciones y métodos de esterilización de los adherentes/surfactantes utilizados en las pruebas de compatibilidad <i>in vitro</i> .	27
Tabla 4. Concentraciones y métodos de esterilización de los fertilizantes utilizados en las pruebas de compatibilidad <i>in vitro</i> .	27
Tabla 5. Concentraciones y métodos de esterilización de los insecticidas químicos utilizados en las pruebas de compatibilidad <i>in vitro</i> .	28
Tabla 6. Concentraciones y métodos de esterilización de los fungicidas utilizados en las pruebas de compatibilidad <i>in vitro</i> .	28
Tabla 7. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>M. anisopliae</i> obtenido con diversos adherentes/surfactantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	33
Tabla 8. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>P. fumosoroseus</i> obtenido con diversos adherentes/surfactantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	33
Tabla 9. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>M. anisopliae</i> obtenido con diversos fertilizantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	40
Tabla 10. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>P. fumosoroseus</i> obtenido con diversos fertilizantes a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	40
Tabla 11. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>M. anisopliae</i> obtenido con diversos insecticidas a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	43
Tabla 12. Porcentaje de inhibición sobre el crecimiento micelial de <i>P. fumosoroseus</i> obtenido con diversos insecticidas a las dos concentraciones (menor y mayor) de acuerdo a las especificaciones del fabricante para su uso en campo.	43
	68

Tabla 13. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>M. anisopliae</i> con adherentes/surfactantes.	66
Tabla 14. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>P. fumosoroseus</i> con adherentes/surfactantes.	66
Tabla 15. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>M. anisopliae</i> con fertilizantes.	66
Tabla 16. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>P. fumosoroseus</i> con fertilizantes.	67
Tabla 17. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>M. anisopliae</i> con insecticidas químicos.	67
Tabla 18. Análisis de varianza factorial con las medias de los porcentajes de inhibición de <i>P. fumosoroseus</i> con insecticidas químicos.	67

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pags.
Figura 1. Estructura de la cutícula del insecto.	5
Figura 2. Esquema general del mecanismo de penetración cuticular de los hongos entomopatógenos.	6
Figura 3. Esquema de las estructuras de infección de <i>Metarhizium anisopliae</i> y las barreras de resistencia del insecto.	7
Figura 4. Representación esquemática de las relaciones patógeno-hospedero (<i>M. anisopliae</i> mosca pinta).	8
Figura 5. Esquema de trabajo.	18
Figura 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i> con adherentes/surfactantes y fertilizantes.	34
Figura 7. Comparación de la colonia testigo de <i>M. anisopliae</i> a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el coadyuvante Kinetic 0.125 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	36
Figura 8. Comparación de la colonia testigo de <i>M. anisopliae</i> a la izquierda y la colonia aterciopelada, abombada, sin pigmento en medio impregnado con el surfactante Inex-A 0.4 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	36
Figura 9. Comparación de la colonia testigo de <i>M. anisopliae</i> a la izquierda y la colonia de bordes sinuosos, poco pigmentada, y micelio aéreo en medio impregnado con el humectante Citowett 0.250 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	37
Figura 10. Comparación de la colonia testigo de <i>P. fumosoroseus</i> a la izquierda y la colonia cerebriforme aplanada en medio impregnado con el coadyuvante Penetrator 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	37
Figura 11. Aspecto microscópico normal del testigo de <i>P. fumosoroseus</i> . Se observan hifas y conidios (375X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	39
Figura 12. Aspecto microscópico de <i>P. fumosoroseus</i> en medio impregnado del coadyuvante Kinetic 0.250 %, con acúmulos de conidios (250X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	39
Figura 13. Comparación de la colonia testigo de <i>M. anisopliae</i> a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el fertilizante foliar Arco iris 0.8 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.	41

Figura 14. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y la colonia similar en medio impregnado con el fertilizante foliar Musol 0.75 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

41

Figura 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* con insecticidas químicos.

44

Figura 16. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia con abundante micelio aéreo en medio impregnado del piretroide Corsair 0.170 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

46

Figura 17. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia aplanada sin pigmento en medio impregnado del organofosforado Diptrex 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

46

Figura 18. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia aterciopelada, abombada, sin pigmento superficial en medio impregnado del metilcarbamato Sevin 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

47

Figura 19. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia con bordes y pigmento irregular, esferas de micelio blanco superficial, en medio impregnado del organoclorado Biosulfan 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

47

Figura 20. Comparación de la colonia testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y la colonia pequeña y sin pigmento en medio impregnado del organofosforado Biothion 1 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

48

Figura 21. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y la colonia pequeña en medio impregnado del organofosforado Diazinon 0.75 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

48

Figura 22. Aspecto microscópico normal del testigo de *M. anisopliae* (1250X). A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

49

Figura 23. Aspecto microscópico de *M. anisopliae* (1281X) en medio impregnado con el organofosforado Corsair 0.170 %. Se observaron hifas onduladas durante el tiempo de exposición. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

49

Figura 24. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* con fungicidas.

51

Figura 25. Comparación de la colonia del testigo de *M. anisopliae* a la izquierda y ningún crecimiento del hongo en medio impregnado con el fungicida Benlate 0.5 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.

52

Figura 26. Comparación de la colonia testigo de *P. fumosoroseus* a la izquierda y ningún crecimiento del hongo en medio impregnado del fungicida Biocaptan 2 % a la derecha. A los 10 días de crecimiento, a 28°C.