

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA SOBRE EL DESARROLLO DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

EFFECT OF TEMPERATURE AND RELATIVE HUMIDITY ON ENTOMOPATHOGENIC FUNGI DEVELOPMENT

Ortiz-Catón M¹; Alatorre-Rosas R²; Valdivia-Bernal R¹;
Ortiz-Catón A³; Medina-Torres R, Alejo-Santiago G¹

¹ Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit. Km 9 carretera Tepic-Compostela,

² Colegio de Postgraduados, ³ Universidad Tecnológica de la Costa.

Resumen

La humedad relativa (HR) y la temperatura son factores importantes en el desarrollo de los hongos entomopatógenos *Verticillium lecanii* (V2 y V3), *Paecilomyces fumosoroseus* (P1, P2, P3, PF y PG), *P. farinosus* (PN) y *Beauveria bassiana* (Bb1 y Bb17). La actividad biológica de la cepa de las tres especies de hongos fue mayor cuando la humedad relativa estuvo en un rango de 81-92%. Las ninfas fueron más susceptibles que los huevecillos. El tiempo de germinación de las conidias varió entre las cepas de los hongos y entre las temperaturas. A temperaturas menores de 16.3°C las conidias tardaron más tiempo para germinar (más de un día); mientras que en temperatura superiores a 28.5°C el tiempo fue menor (menos de un día). A 15°C, las cepas que lograron formar conidias fueron P1, PF, Bb1, Bb17, V2 y V3, y las que no formaron fueron P2 y P3. En la temperatura de 31.7°C todas las cepas produjeron conidias, excepto PF. La temperatura base de las especies y cepas de los hongos entomopatógenos fue de 10°C como la más baja y de 13°C como la más alta. Las cepas PG, PF, Bb1, P2 y V2 requirieron similar cantidad de Grados-día de desarrollo, para formar conidias en medio artificial y sobre N4 de *Trialeurodes vaporariorum*, Por otro lado, V3 logró la mayor tasa de desarrollo por día (0.64) y PG la menor (0.30) en la temperatura de 30.4°C.

Palabras clave: *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana*, *Trialeurodes vaporariorum*.

Abstract

The relative humidity (HR) and temperature are important factors for the development of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* (V2 and V3), *Paecilomyces fumosoroseus* (P1, P2, P3, PF and PG), *P. farinosus* (PN) and *Beauveria bassiana* (Bb1 and Bb17). The biological activity of each strain increased when the relative humidity was between 81 and 92 %. Nymph stage was more susceptible than egg stage. The time of germination of conidia was different among fungi layers and among temperatures. At lower temperatures (16.3°C), conidia delayed more than a day to germinate. In contrast, at higher temperatures, more than 28.5°C, the delayed time was less than one day. At 15°C, strains that achieved conidia were P1, PF, Bb1, Bb17, V2 and V3. However, strains that did not form conidia were P2 and P3. At 31.7°C, all the strains produced conidia, except PF. The base temperature of the species and strains of the entomopathogenic fungi was between 10 and 13°C. The strains PG, PF, Bb1, P2 and V2 needed a similar amount of day-degree, to form conidia in an artificial medium and

Autor Corresponsal:

Ortiz Catón, M. Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit. Km 9 Carretera Tepic-Compostela. Tel. (311)211 1163, 211 0128. Correo Electrónico: margaritooc1@hotmail.com

on N4 of *T. vaporariorum*. On the other hand, V3 achieved greater rate of development per day, 0.64, than PG strain (0.30) at 30.4°C.

Key words: *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana*, *Trialeurodes vaporariorum*.

Introducción

Los factores que más influyen en el desarrollo y la patogenicidad de los hongos entomopatógenos, así como en el desarrollo de la enfermedad a nivel epizootico son la temperatura y la humedad relativa (Hall, 1993). Es importante remarcar que dichos factores, en la mayoría de los casos, difieren de los que requieren para el desarrollo sus hospedantes (Ferron, 1978; Fuxa, 1987; Fransen, 1990). Por lo que es importante considerar la influencia de la temperatura sobre el hospedante y la duración de la etapa biológica del insecto en que ocurre la penetración y desarrollo de los hongos entomopatógenos (Ferron, 1978). También las condiciones óptimas de germinación, desarrollo, esporulación e infección de los hongos entomopatógenos difieren de una especie a otra (Yendol, 1968; Walstad *et al.*, 1970; Newman y Carner, 1975; Zimmerman, 1982; Hajek *et al.*, 1990).

Se estima que existen en la naturaleza más de 700 especies (incluyendo subespecies, patotipos y cepas) de hongos como agentes de control de plagas insectiles (Bielikova *et al.*, 2002). Las especies más estudiadas y utilizadas como agentes de control biológico en el mundo son *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith, *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (López y Hans, 2001; Bielikova *et al.*, 2002).

Las cepas de las especies de hongos *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* en general presentan mayor mortalidad sobre el estado ninfal y el efecto es menor o casi nulo contra huevecillos y adultos de las mosquitas blancas (Gindin *et al.*, 2000); mientras que en otra información, se

menciona que algunas cepas de *Paecilomyces fumosoroseus* afectan a todos los estados biológicos (Mark S. Hoddle-<http://www.biocontrol.ucr.edu/bemisias.html>).

En condiciones ambientales adecuadas, la aparición de hifas de *A. aleyrodís* sobre el cuerpo del insecto puede variar de cuatro a seis días después de la inoculación y las esporas de siete a nueve días después de la aparición de las hifas (Osborne y Landa, 1992). Para este hongo, la humedad relativa es el factor más importante que influye en la germinación, penetración y colonización dentro del insecto (Fransen, 1987).

Los hongos patógenos de insectos asociados a todas las especies de mosquitas blancas son *Paecilomyces* spp, *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* (Hall, 1993; Riley y Sparks Jr., 1994; Wraight *et al.*, 1995), que se han encontrado en varias partes del mundo causando epizootias, tanto en condiciones de invernadero (Hall, 1993), como de campo (Hall, 1993; Hernández *et al.*, 1995; Mendoza y Quijije, 1995). Aislamientos de *Paecilomyces* spp. a 27°C y humedad relativa de 70 a 100% causaron del 70 al 90% de mortalidad en ninfas y 60 a 70% en adultos de mosquitas (Hernández *et al.*, 1995). *V. lecanii* formulado en producto comercial (Vertalec), después de varias aplicaciones produjo epizootias, sobre *Myzus persicae* en crisantemo dentro de invernadero, en un lapso de 36 horas con 100% de HR y en 96 horas con 94.5% de HR (Milner y Lutton, 1986).

V. lecanii y *P. fumosoroseus* tuvieron un desarrollo óptimo entre 23° a 25°C, y sus límites de desarrollo se ubican entre 15° y 30°C y cesan a 32°C. En el caso especial de *V. lecanii* el desarrollo cesa debajo de 11°C (Fransen, 1990, Osborne y Landa, 1992). Estos hongos pueden germinar, producir micelio y esporular entre 15° y 35°C a 92.5% de HR, pero la germinación óptima se produce de 25° a 30°C y 100% de HR, en un lapso de 24 h (Hall, 1993). La tasa de desarrollo más alta de este hongo se obtuvo a 24°C (0.24 cm/semana) (Studdert y Kaya, 1990) y las esporas permanecieron viables 0.5 meses a 21°C (Walstad *et al.*, 1970).

En el presente trabajo se determinó el desarrollo de algunos aislamientos de hongos a diferentes temperaturas y humedad relativa, con el propósito de hacer un uso óptimo de los hongos entomopatógenos como agentes de control de plagas.

Materiales y Métodos

Insectos y hongos

El insecto y hongos entomopatógenos seleccionados fueron *Trialeurodes vaporariorum* y cinco aislamientos de *Paecilomyces fumosoroseus* (P1, P2, P3, PF y PG), uno de *P. farinosus* (PN), dos de *Beauveria bassiana* (Bb1 y Bb17) y *V. lecanii* (V2 y V3) respectivamente.

Infectividad de los hongos en dos rangos de humedad relativa

Se probó la capacidad infectiva de diez aislamientos de hongos entomopatógenos (P1, P2, P3, PF, PG, PN, Bb1, Bb17, V2 y V3), en dos rangos de humedad relativa (HR) 65 a 75% y de 81 a 92%, a $27.8 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura y fotoperíodo de 12 horas.

Se realizaron experimentos, uno por cada rango de HR y también para cada etapa biológica de mosquitas, los tratamientos fueron cada uno de los aislamientos cepas de los hongos y la concentración fue 1×10^8 conidias por mililitro de agua, como unidad experimental se consideró una planta infestada con 25 individuos y se usaron tres repeticiones, la aplicación de los hongos se realizó con un atomizador manual de gota fina. En cada uno de los experimentos (humedades y para cada etapa biológica huevo, N1, N2, N3, N4 y adulto), se planteó un diseño completamente al azar. El efecto de los hongos se midió registrando el número de insectos micosados por etapa biológica a las 96 horas después de la aplicación. Se consideró como individuo micosado aquel que mostraba la presencia de micelio. El porcentaje de infección se estimó con base al total de individuos (25 de cada etapa) por repetición de cada etapa biológica.

Posteriormente el porcentaje, se transformó a grados angulares (usando arco seno), y así se realizó el análisis de varianza y pruebas de medias, para evaluar la susceptibilidad de cada una de las etapas de desarrollo de la mosquita y la efectividad de cada una de las cepas de hongos en ambas humedades (Martínez, 1988).

Temperatura de germinación de conidias

Se midió la germinación de conidias de los aislamientos P1, P2, P3, PF, PG, PN, V2, V3, Bb1, Bb17, V2 y V3, de estos se tomaron conidias de cultivos de 15 días de edad, las cuales se sembraron en el medio de cultivo Sabouraud (SDA), una placa por cepa, las placas se mantuvieron en cámaras incubadoras a diferentes temperatura de $16.3 \pm 1^\circ$, $26.9 \pm 1^\circ$, $28.5 \pm 1^\circ$ y $31.7 \pm 1^\circ\text{C}$ y fotoperíodo de 12 horas luz. En cada temperatura se usó el diseño completamente al azar y se efectuaron cada hora, contando 100 conidias en un cm^2 de medio que se tomó de las placas de cultivo mantenidas en cada temperatura. Se consideró como tiempo de germinación el transcurrido para obtener el 50% de conidias germinadas. Se realizaron análisis de varianza y pruebas de medias (Martínez, 1988).

Temperatura en la formación de conidias

Para determinar el efecto de la temperatura sobre la formación de conidias, se usaron cuatro temperaturas constantes, ($16.3 \pm 1^\circ$, $26.9 \pm 1^\circ$, $28.5 \pm 1^\circ$ y $31.7 \pm 1^\circ\text{C}$). Cinco aislamientos P1, P2, P3, PF, PG, PN, V2, V3, Bb1 y Bb17 y placas de medio SDA como sustrato.

Se usaron conidias de cultivos de 15 días de edad, para preparar una suspensión de 1×10^8 conidias por mL de agua de la cual se tomó una gota que fue depositada y distribuida sobre una placa de SDA. Estas placas se introdujeron a las cámaras con las temperaturas constantes respectivas. Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Las cepas después de la germinación se revisaron cada hora para determinar el inicio de la formación de conidias,

para lo cual se extrajo de la placa un cm^2 con conidias para observarse al microscopio compuesto. Las lecturas se suspendieron al encontrar las primeras conidias formadas.

Temperatura base de los hongos

La temperatura base (T_b) y los Grados-día de desarrollo (GDD) para la germinación y el inicio de formación de conidias de las cepas P1, P2, P3, PF, PG, PN, Bb1, Bb17, V2 y V3 en condiciones *in Vitro*. Se utilizó una cámara bioclimática que se programó a temperaturas constantes de $16.3 \pm 1^\circ$, $24.4 \pm 1^\circ$, $30.4 \pm 1^\circ$ y $31.7 \pm 1^\circ \text{C}$, un fotoperíodo de 12 horas luz y una humedad relativa de 95-98%.

Conidias procedentes de cultivos de 15 días de edad de cada una de las cepas mencionadas, se sembraron en SDA y se incubaron en las temperaturas mencionadas. La siembra consistió en depositar una gota de suspensión de 1×10^8 conidias por mL de agua sobre una placa de SDA, que se distribuyó con una asa de vidrio en forma de L, las lecturas se realizaron cada hora. Para ello de cada cultivo se tomó un cm^2 , ésta se colocó en un portaobjeto, se seleccionaron 100 conidias al azar mediante la ayuda de un microscopio compuesto y se determinó el porcentaje de germinación y el periodo de desarrollo de los hongos hasta el momento en que se presentó el inicio de la formación de conidias. Para obtener la T_b y los GDD, primero se seleccionaron varias T_b (las necesarias), se tomó como referencia media a 10° (Libera, 1978). Posteriormente con estas T_b y los valores obtenidos de tiempo de germinación o de formación de conidias de las cepas en cada temperatura y usando la fórmula $\text{GDD}/\text{día} = \text{Temperatura constante} - T_b$ (seleccionada) se procedió a obtener una matriz de valores de GDD, luego en cada serie de datos de GDD para cada T_b seleccionada se obtuvo la media, el coeficiente (CV) y la desviación estándar (DS). La T_b que resultó con el valor más bajo en estos parámetros se consideró como la mejor T_b de germinación de conidias o de formación de conidias de cada aislamiento correspondiente.

Los GDD requeridos para que las conidias germinaran o los aislamientos de los

hongos formaran conidias, se calcularon diariamente, para lo cual, se restó a la temperatura constante donde el aislamiento germinó o esporuló la T_b . La forma de calcular los GDD anteriores se derivó de la ecuación siguiente: $\text{GDD} = ((T_m + T_b)/2) - T_b$ (Libera, 1978), donde la T_m es la temperatura máxima y la T_b la temperatura mínima que se registraron durante el día.

Desarrollo de los hongos *in Vitro* e *in Vivo*

Para realizar esta prueba se seleccionaron los aislamientos P2, PF, PG, Bb1, Bb17 y V3, que produjeron de 40 a 71.5% de mortalidad en ninfas de *T. vaporariorum* en la humedad relativa de 65 a 75%. Para evaluar el desarrollo *in Vitro* se usaron cultivos de 15 días de edad de cada aislamiento, se preparó una suspensión de 1×10^8 conidias por mL, de la cual se tomaron 10 μL (1000,000 conidias) de la suspensión y se depositaron en placas de SDA; se distribuyó con una asa de vidrio de forma L y luego las placas se incubaron a las temperaturas constante. Para la prueba *In Vivo* se utilizó la misma suspensión de conidias anterior y se aplicaron topicalmente 2 μL (200,000 conidias) sobre el dorso del cuerpo del cuarto instar ninfal (N4) de *T. vaporariorum* con una microjeringa. Se trataron 20 N4 por repetición y aislamiento. En ambos casos se usó un diseño completamente al azar y tres repeticiones. Las placas de los aislamientos y las ninfas inoculadas (N4 tratadas), se incubaron a 27.8°C . En ambos casos se realizaron lecturas cada doce horas, con la ayuda de un microscopio compuesto. La toma de datos se realizó tan pronto se inició la formación de conidias.

En *In Vitro* e *In Vivo*, se midieron los GDD, tomando como temperatura base (T_b) las siguientes: 10° (V2), 11° (Bb1), 12° (P2 y PG) 13°C (PF), que son las que se obtuvieron en la formación de conidias (for) y la ecuación que se usó para medir los GDD fue:

$$\text{GDD} = T_c - T_{b\text{for}}$$

GDD indica Grados-día de Desarrollo

T_c indica temperatura constante

$T_{b\text{for}}$ indica temperatura base para la formación de conidias

Tasa de desarrollo (Td) de los hongos

Para medir la tasa de desarrollo (Td) de las cepas de hongos entomopatógenos, se seleccionaron las P2, P3, PF, PG, V3 y Bb1. Las conidias de 15 días de edad se sembraron sobre placas de SDA y se hicieron tres repeticiones por cada aislamiento, las cuales se incubaron a $16.3 \pm 1^\circ$, $20 \pm 1^\circ$, $24.4 \pm 1^\circ$, $28 \pm 1^\circ$ y $30.4 \pm 1^\circ$ C y un fotoperíodo de 12 horas luz. La toma de datos se realizó cada hora después de haber ocurrido la germinación de las conidias y se suspendió cuando se inició la formación de las nuevas conidias; para obtener dichos datos, cada hora se cortaba un centímetro cuadrado de la placa SDA con conidias y se observaba al microscopio compuesto para determinar el momento de inicio de la formación de conidias. Con los datos de tiempo (horas o días) que cada aislamiento de hongo requirió para la germinación e inicio de la producción de nuevas conidias en cada temperatura, se obtuvo la tasa de desarrollo o envejecimiento producido por unidad de tiempo (día u hora) y se calculó matemáticamente mediante el inverso del número de días que tardaron las cepas desde siembra de conidias hasta producir nuevas conidias (1/días).

Resultados y Discusión

Infectividad de los hongos en diferente humedad relativa

Estos resultados confirman lo dicho por Zimmerman, 1982; Walstad *et al*, 1970; Agudelo y Falcon, 1983, en el sentido de que la HR es importante en el proceso infectivo de los hongos entomopatógenos. Al comparar la susceptibili-

dad de los estados biológicos de *T. vaporarium* a cada una de los aislamientos de hongos en la humedad baja, se observa que N1 fue la más afectada por la mayoría de los hongos; excepto PG que dañó más a N2 y N3 (Cuadro 1).

Los análisis de varianza de los datos de infectividad de cada uno de los hongos sobre cada una de las etapas biológicas de mosquitos en la humedad relativa baja (HR), mostraron diferencias estadísticas, los aislamientos produjeron mortalidad diferencial en cada una de las etapas biológicas de *T. vaporarium* ($p < 0.05$). El aislamiento P1 produjo mayor infectividad a huevecillos y la diferencia con el resto de aislamientos fue significativa, lo mismo sucedió con V2 y PG sobre N1, N2, N3 y N4, además PN en adultos (Cuadro 1).

En la humedad relativa alta también se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) en todos los aislamientos, todos ellos tuvieron más del 80% de efectividad en cada una de los instares ninfales. También, igual que en la humedad baja, los aislamientos P1 y PN presentaron diferencias en la infectividad de mosquitos (Cuadro 2).

Cabe mencionar que la mayor mortalidad de mosquita producida por los aislamientos de hongos, se obtuvo en la HR alta, lo que hace suponer que la humedad juega un papel importante en la acción de los hongos. En cuestión de especies de hongos, los aislamientos de *P. fumosoroseus* presentaron mayor variación de acción sobre las mosquitos en comparación con el resto de especies de hongos.

Cuadro 1.

Mortalidad causada por diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos a las diferentes etapas biológicas de *T. vaporarium* a 65-76% de humedad y 27.8°C

Etapa	P1	P2	P3	PF	PN	PG	Bb1	Bb17	V2	V3
Hvo	25 ^b	3 ^d	2 ^d	0 ^d	2 ^d	0 ^c	0 ^c	0 ^c	1 ^d	2 ^c
N1	45 ^a	66 ^a	64 ^a	70 ^a	53 ^a	48 ^b	68 ^a	70 ^a	78 ^a	70 ^a
N2	35 ^a ^b	48 ^b	45 ^b	40 ^b	38 ^b	93 ^a	36 ^b	32 ^b	65 ^b	68 ^a
N3	11 ^c	31 ^c	23 ^c	31 ^{bc}	15 ^c	90 ^a	30 ^b	33 ^b	65 ^b	70 ^a
N4	2 ^{cd}	24 ^c	24 ^c	22 ^c	3 ^d	56 ^b	28 ^b	25 ^b	30 ^c	29 ^b
Adto	0 ^d	2 ^d	0 ^d	0 ^d	36 ^b	2 ^c	2 ^c	0 ^c	1 ^d	2 ^c
Media	19.6	29	26.3	23.3	24.5	48.0	23.3	26.6	40.0	38.5

Letras diferentes indican diferencias estadísticas, Tukey $p \leq 0.05$

En la alta humedad, la susceptibilidad de las etapas biológicas de *T. vaporariorum* a cada uno de los hongos fue mayor, en este caso N1, N2 y N3 fueron las etapas más susceptibles a todos los

hongos probados, excepto PN que afectó más a N1 y adultos (Cuadro 2). En ambas humedades se observa que los primeros tres instares de la mosquita fueron más afectados, que el resto de etapas.

Cuadro 2.
Mortalidad causada por diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos sobre las diferentes etapas biológicas de *T. vaporariorum* a 81-92% de humedad y 27.8°C

Etapa	P1	P2	P3	PF	PN	PG	Bb1	Bb17	V2	V3
Hvo	82 ^a	34 ^c	27 ^b	35 ^b	25 ^c	79 ^a	13 ^b	15 ^c	15 ^c	14 ^c
N1	92 ^a	98 ^a	95 ^a	82 ^a	76 ^a	90 ^a	86 ^a	82 ^{ab}	93 ^a	94 ^a
N2	90 ^a	98 ^a	93 ^a	93 ^a	56 ^b	93 ^a	89 ^a	90 ^a	95 ^a	96 ^a
N3	80 ^a	93 ^a	95 ^a	93 ^a	56 ^b	87 ^a	87 ^a	85 ^a	95 ^a	92 ^a
N4	34 ^b	84 ^b	88 ^a	85 ^a	48 ^b	81 ^a	75 ^a	73 ^b	73 ^b	70 ^b
Adto	2 ^c	15 ^d	18 ^b	14 ^c	65 ^b	5 ^b	8 ^b	7 ^c	7 ^c	8 ^c
Media	63.5	70.3	69.3	67.0	54.3	72.5	59.7	58.7	63.0	63.3

Letras diferentes indican diferencias estadísticas, Tukey $p \leq 0.05$

Germinación de conidias

La prontitud de la germinación de las esporas de los hongos patógenos de insectos es fundamental para el uso en el manejo integrado de plagas, ya que es una etapa crítica en el desarrollo de estos hongos y en este aspecto la temperatura juega un papel importante. En el presente trabajo en la temperatura de 16.3°C, V3 y V2 las conidias empezaron a germinar más rápido (1.20 y 1.30 días, respectivamente), pero entre ambos aislamientos no hubo diferencia estadística, sin embargo, entre los aislamientos de

P. fumosoroseus sí hubo, PG requirió más tiempo (2.7 días) que P2, P3 y PF (1.7 días promedio).

El análisis de varianza de la germinación de las conidias en cada una de las temperaturas mostró diferencias significativas entre los aislamientos ($p < 0.05$). A 16.3°C los aislamientos V3 y V2 fueron más rápidos en germinar (1.25 días), mientras que PG tardó mayor tiempo (2.7 días). La diferencias de germinación fue más marcada en las temperaturas menores (Cuadro 3), mientras que a 31.7°C no hubo diferencias en el tiempo de germinación entre los aislamientos.

Cuadro 3.
Tiempo promedio (días) de germinación de conidias de aislamientos de hongos en cuatro temperaturas constantes *In Vitro*.

Aislamientos (Cepas)	Temperatura °C			
	16.3°	26.9°	28.5°	31.7°
V2	1.30 ^{cd}	0.48 ^d	0.46 ^b	0.45 ^b
PF	1.65 ^{bcd}	0.59 ^{cd}	0.50 ^{ab}	0.45 ^b
Bb17	1.65 ^{bcd}	0.65 ^{ab}	0.49 ^{ab}	0.46 ^b
P3	1.65 ^{bcd}	0.65 ^{ab}	0.47 ^b	0.45 ^b
V3	1.20 ^d	0.49 ^{cd}	0.49 ^{ab}	0.45 ^b
P1	1.60 ^{bcd}	0.50 ^{cd}	0.49 ^{ab}	0.46 ^b
Bb1	1.70 ^c	0.50 ^{cd}	0.48 ^b	0.45 ^b
P2	1.80 ^b	0.50 ^{cd}	0.49 ^{ab}	0.45 ^b
PN	1.70 ^{bc}	0.50 ^{cd}	0.49 ^{ab}	0.45 ^b
PG	2.70 ^a	0.70 ^a	0.60 ^a	0.50 ^a

Letras diferentes indican diferencias estadísticas, Tukey $p \leq 0.05$

Temperatura para la formación de conidias

Al igual que la germinación, la formación de esporas (conidias), son importantes para que los hongos se establezcan en un lugar y así propiciar una epizootia, aunque esto depende de varios factores, la temperatura juega un papel prioritario. En este experimento donde se probaron varias temperaturas, se registraron diferencias en los análisis de varianza entre los aislamientos de los hongos ($p < 0.05$). La formación de conidias está estrechamente relacionado con la tem-

peratura, entre más baja la temperatura mayor el tiempo para que ocurra la formación de conidias (Cuadro 4). En todas las temperaturas PG y P1 tardaron más tiempo en iniciar la formación de conidias; mientras que Bb1 y V2 requirieron menos tiempo. A 31.7°C todas los aislamientos produjeron conidias excepto PF que sólo desarrolló micelio. En general, se observó que los hongos, que tardaron menor tiempo en formar conidias fueron los de *B. bassiana* y *V. lecanii*.

Cuadro 4.
Tiempo promedio (días) de germinación de conidias de nueve aislamientos de hongos en cuatro temperaturas constantes, sobre cultivo artificial

Aislamientos (Cepas)	Temperatura °C			
	16.3°C	26.9°C	28.5°C	31.7°C
V2	4.0 ^c	1.6 ^d	1.6 ^a	1.5 ^a
PF	7.0 ^b	2.0 ^{cd}	1.3 ^d	0
Bb17	4.0 ^c	1.8 ^{cd}	1.2 ^{de}	1.2 ^{bc}
P3	7.7 ^b	2.2 ^{cd}	1.5 ^{cd}	1.4 ^b
V3	4.0 ^c	2.1 ^{cd}	2.0 ^{ab}	1.5 ^b
P1	6.5 ^b	3.0 ^b	2.1 ^{ab}	2.0 ^a
Bb1	3.8 ^c	1.5 ^d	1.1 ^e	1.0 ^c
P2	7.5 ^b	2.5 ^{bc}	1.8 ^{bc}	1.4 ^b
PN	7.5 ^b	2.0 ^{cd}	1.4 ^{cd}	1.4 ^b
PG	13.0 ^a	2.35 ^a	2.3 ^a	2.0 ^a

Letras diferentes indican diferencias estadísticas, Tukey $p \leq 0.05$

Temperatura base de los hongos entomopatógenos

La temperatura base (Tb) para la germinación de las conidias (Tbger) de los hongos, se muestra en el Cuadro 5. Los aislamientos de *V. lecanii* y *B. bassiana* tuvieron igual Tb (10°C); mientras que las cepas de *P. fumosoroseus* fue variable y hubo desde 11° en P1, P2, 12° en P3 y PF, hasta 13°C en PG.

La Tb de los aislamientos, para el inicio de la formación de conidias (Tbfor) se muestra en el Cuadro 5. Las cepas de *V. lecanii* tuvieron 10°C, las de *B. bassiana* 11°C y las de *P. fumosoroseus* algunas 11°, otras 12° y 13°C. Al igual que para germinación, la formación de conidias se sigue observando mayor variabilidad de Tb en los aislamientos de *P. fumosoroseus*.

Cuadro 5.
Temperaturas base de germinación de conidias (Tbger) e inicio de formación de las mismas (Tbfor) de los aislamientos de hongos entomopatógenos

Aislamientos (Cepas)	Tbger (°C)	Tbfor (°C)
P1	11	11
P2	11	12
PN	12	13
P3	12	13
PF	12	13
PG	13	12
V2	10	10
V3	10	10
Bb1	10	11
Bb17	10	11

Desarrollo de los hongos *In Vitro* e *In Vivo*

El sustrato como fuente de alimento es importante tanto en la velocidad de desarrollo como en la virulencia de los hongos. En esta investigación la comparación del desarrollo en condiciones *In Vitro* e *In Vivo* en los análisis de varianza mostraron diferencias estadísticas en los resultados ($p < 0.05$) de tiempo para la formación de conidias. Los aislamientos V3, PF, PG, Bb1 y P2 mostraron diferencias estadísticas en requerimiento de energía (GDD). En medio artificial (SDA), PG requirió mayor energía (37.13 GDD) y Bb1 menor (25.36 GDD), comparado con el resto de aislamientos. En *In Vivo* (N4 de *T. vaporariorum*), también los aislamientos presentaron diferencias estadísticas

($p < 0.05$), siendo PG que requirió mayor cantidad de GDD (46.29) y V3 menor (27.59) comparado con el resto de aislamientos (Cuadro 6). Estos resultados coinciden con los de algunos investigadores, en el sentido de que las condiciones ambientales son un factor determinante para la producción de conidias, aunque esto se menciona para aislamientos de otras especies de hongos entomopatógenos (Harcourt *et al.*, 1990; McDonald y Nolan, 1995).

Al comparar el desarrollo de los aislamientos sobre N4 con el desarrollo sobre medio artificial (SDA) en términos de GDD, no se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$); sin embargo los aislamientos dentro de cada sustrato si presentaron diferencias entre ellos.

Cuadro 6.
Tiempo y GDD necesarios para la esporulación en varios aislamientos de hongos entomopatógenos sobre N4 y medio artificial

Aislamientos (Cepas)	<i>T. vaporariorum</i> (N4)		Medio Artificial (SDA)	
	27.8°C		27.8°C	
	Días	CDD	Días	CDD
PG	2.93	46.29 ^a	2.35	37.13 ^a
PF	2.00	29.60 ^{bc}	2.00	29.60 ^c
Bb1	1.95	32.76 ^b	1.52	25.36 ^c
P2	2.00	31.16 ^b	2.10	33.18 ^c
V3	1.55	27.59 ^c	1.90	33.82 ^c

Letras diferentes indican diferencias estadísticas Tukey ($p \leq 0.05$)

Tasa de desarrollo (Td) de los hongos

La tasa de desarrollo (Td) de los aislamientos seleccionados se muestran en la Figura 1. El desarrollo más rápido se presentó en la temperatura 30.4°C y el más lento en 16.3°C.

Bajo esta situación, la cepa V3 (*V. lecanii*) presentó mayor velocidad de desarrollo o envejecimiento, seguida por Bb1 (*B. bassiana*), PF, P2, P3 y PG.

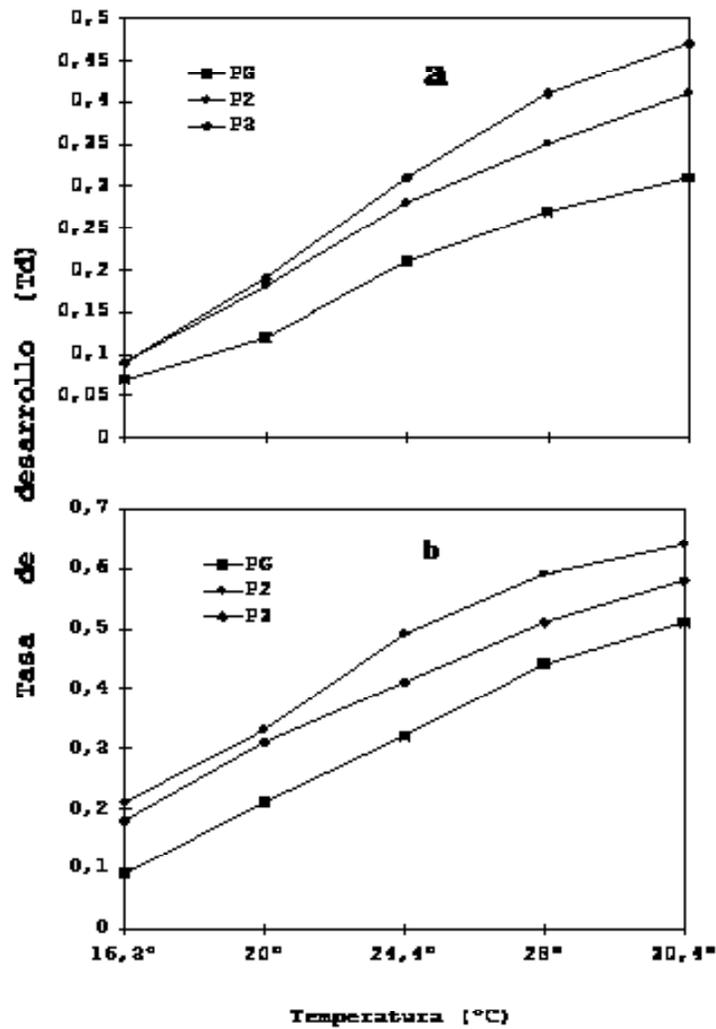


Fig 1. Tasa de desarrollo (Td) de las cepas a) PG, P2 y P3 y b) PF, V3 y Bb1 sobre medio de Sabouraud a diferente temperatura.

Al comparar la Td de los aislamientos V3 y PG, se observa una diferencia de 0.35 de velocidad de desarrollo, dicha diferencia tiene importancia práctica, ya que en condiciones de campo, se tiene que considerar en el manejo integrado de las mosquitas blancas.

En general la mayor velocidad de desarrollo de las cepas se obtuvo entre las temperaturas de 20° a 28°C. Es notorio que la Td está muy relacionada con la temperatura, ya que a medida que se incrementa ésta, la Td también se incrementa, pero hasta cierto límite.

Los resultados de este trabajo son importantes porque muestran mucha variedad de comportamiento a la temperatura por parte de los aislamientos dentro de la misma especie de hongos, lo cual nos ayuda realizar un manejo más adecuado de los hongos entomopatógenos, para el control de plagas.

Conclusiones

En la humedad relativa alta, se tuvieron más mosquitas (*T. vaporariorum*) afectadas

(64.06%) por los hongos entomopatógenos, que en la humedad baja (30.69%). En ambas condiciones P1 afectó más a huevecillos (82 y 25%), PN a los adultos (65 y 36%) y el resto de los aislamientos a ninfas, sin embargo PF en humedad alta y V2 en la humedad baja fueron las más efectivas.

Los aislamientos de *Verticillium lecanii* (V) y *Beauveria bassiana* (Bb) fueron los más rápidos en iniciar la germinación y formación de conidias en todas las temperaturas.

Los aislamientos V3, Bb1 y P1 tuvieron la temperatura base (Tb) más baja (10° y 11°C) en la germinación y para el inicio de formación de conidias. En condiciones *In Vitro* e *In Vivo* para iniciar la formación de conidias, PG requirió mayor número de GDD (37.13 y 46.29, respectivamente) y V3 requirió menos (33.82 y 27.59 GDD, respectivamente). En relación con los GDD y Td, los aislamientos de *P. fumosoroseus* presentaron mayor diferencia entre ellos, comparado con los aislamientos de *V. lecanii* y *B. bassiana*.

Literatura citada

- Agudelo F, Falcón LA. Mass production, infectivity, and field application studies with the entomopogenous fungus *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 1983; 42: 124-132.
- Bielikova L, Landa Z, Osborne L, Curn V. Characterization and identification of entomopathogenic and mycosporasitic fungi using RAPD-PCR technique. *Plant Protection Science* 2002; 38:1-12.
- Ferron P. Biological control of insect pests by entomopogenous fungi. *Annual Review of Entomology* 1978; 23: 409-442.
- Fransen JJ. Natural enemies of whitefly: fungi. *In: Whiteflies: Their bionomics, pest status and management.* (D. Gerling Ed.). . Tel Aviv, Israel: Tel Aviv University, 1990. 137-225.
- Fransen JJ. *Aschersonia aleyrodis* as a microbial control agent of greenhouse whitefly. (Doctor Thesis), Netherlands: University Wageningen, 1987.
- Fuxa JR. Ecological considerations for the use of entomophatogens in IMP. *Annual Review of Entomology* 1987; 32: 225-251.

- Gindin G, Geschtovt NU, Raccah B, Barash I. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to Different Developmental Stages of the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica* 2000; 28:1-11.
- Hajek AE, Carruthers RI, Soper RS. Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Limntriidae). *Environmental Entomology* 1990; 19: 85-90.
- Hall RA. The use of pathogens to control whiteflies in Europe and the Tropics: Possibilities for integrated control. En: II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. 1993. 35-56. Managua, Nicaragua.
- Harcourt DG, Guppy JC, Tyrrell D. Phenology of the fungal pathogen *Zoophthora phytonomi* in Southern Ontario Populations of the Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Pathology* 1990; 19: 612-617.
- Hernández VM, Garza E, Berlanga AM. Control microbial de mosquitas blancas con *Paecilomyces* spp. En: Simposio sobre control biológico de mosquita blanca. 1995; 29-36. Tapachula, Michoacán, México.
- Livera MM. Adaptación y adaptabilidad de genotipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench) tolerantes al frío (Tesis Maestría en Ciencias). Chapingo México: Colegio de Postgraduados, 1978.
- López LV, Hans Börje J. Biodiversidad del suelo: control biológico de nemátodos fitopatógenos por hongos nematófagos. *Cuaderno de Biodiversidad* 2001; 6: 12-15.
- Martínez GA. Diseños experimentales, métodos y elementos de teoría. México, D.F. Editorial TRILLAS, 1988. 756.
- Mcdonald DM, Nolan RA. Effects of relative humidity and temperature on *Entomophaga aulicae* conidium discharge from infected eastern hemlock Looper Larvae and subsequent conidium development. *Journal of Invertebrate Pathology* 1995; 65: 83-90.
- Mendoza J, Quijije R. Observaciones preliminares sobre la mosca blanca (*Bemisia argentifolii*) en soya, en la zona central del litoral ecuatoriano. *Ceiba* 1995; 36: 89.
- Milner RJ, Lutton GC. Dependence of *Verticillium lecanii* (Fungi: Hyphomycetes) on high humidity for infection and sporulation using *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) as hosts. *Environmental Entomology* 1986; 15: 380-382.
- Newman GG, Carner GR. Environmental factors affecting conidial sporulation and germination of *Entomophthora gammae*. *Environmental Entomology* 1975. 4: 615-618.
- Osborne LS, Landa L. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist* 1992. 75: 456-471.
- Riley DG, Sparks JR. Managing the sweetpotato whitefly in the Rio Grande Valley of Texas. Texas Agricultural Extension Service. Texas: The Texas A & M University System, College Station, 1994. 1-11.

Studdert JP, Kaya HK. Water potential, temperature, and soil type on the formation of *Beauveria bassiana* soil colonies. . Journal of Invertebrate Pathology 1990; 56: 380-386.

Walstad JD, Anderson RF, Stambauch WJ. Effects of environmental conditions on two species of Muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). Journal of Invertebrate Pathology 1970; 16: 221-226.

Wraight SP, Carruthers RI, Jaronski ST, Bradley CA. Development of entomopathogenic fungi for biological control of whiteflies in row crops in the Rio Grande Valley of Texas: Progress and Prospects. En: Simposio sobre control biológico de mosquita blanca 1995. 26-28. Tapachula, Chiapas.

Yendol WG. Factors affecting germination of *Entomophthora* conidia. Journal of Invertebrate Pathology 1968; 10: 116-121.

Zimmerman G. Effect of high temperatures and artificial sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 1982;40: 36-40.