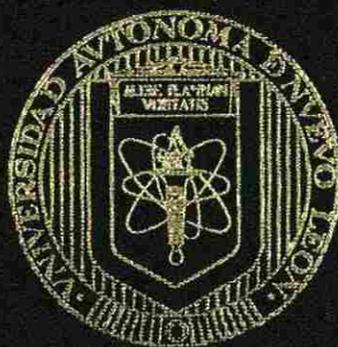


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Producción de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown
& Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra
Bemisia argentifolii Bellows & Perring en cultivo de
Algodón *Gossypium hirsutum* L.

Por

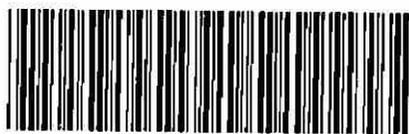
Q.B.P. MONICA GUADALUPE LOZANO CONTRERAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN BIOTECNOLOGIA

SEPTIEMBRE, 2007

TD
Z5 320
FCB
2007
• L625

Q.B.P. MONICA GUADALUPE LOZANO CONTRERAS



1020160688



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



U A N L

Producción de *Paeclomyces tumosoroensis* Brown
& Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra
Bemisia argentifolii Bellows & Perring en cultivo de

Algodón *Gossypium hirsutum* L.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Por

Q.B.P. MONICA GUADALUPE LOZANO CONTRERAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN BIOTECNOLOGÍA

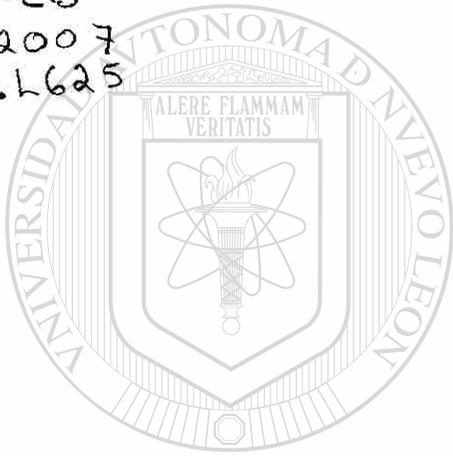
SEPTIEMBRE, 2007

1045959



FONDO
TESIS

TD
Z5320
FCB
2007
.L625



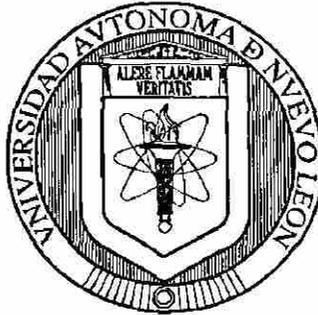
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



Producción de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring en cultivo de Algodón *Gossypium hirsutum* L.

Por

UANL

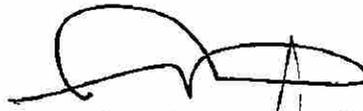
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Q.B.P. MÓNICA GUADALUPE LOZANO CONTRERAS ®
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTORADO EN CIENCIAS con Especialidad en Biotecnología

SEPTIEMBRE, 2007

Producción de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring en cultivo de Algodón *Gossypium hirsutum* L.

Comité de Tesis



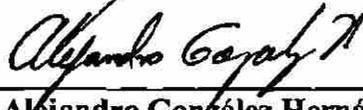
Dr. Luis J. Galán Wong
Director de la tesis



Dra. Myriam Elías Santos
Secretario



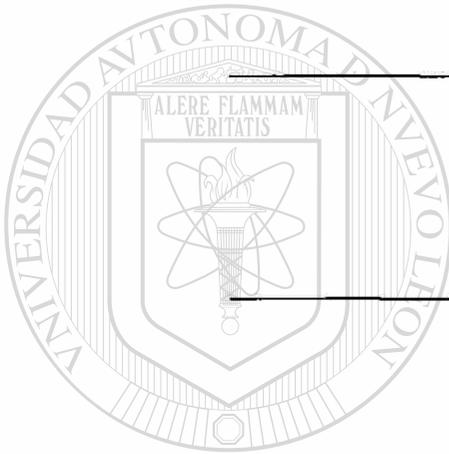
Dra. Catalina Rivas Morales
Vocal



Dr. Alejandro González Hernández
Vocal



Dr. Hugo A. Luna Olvera
Vocal



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

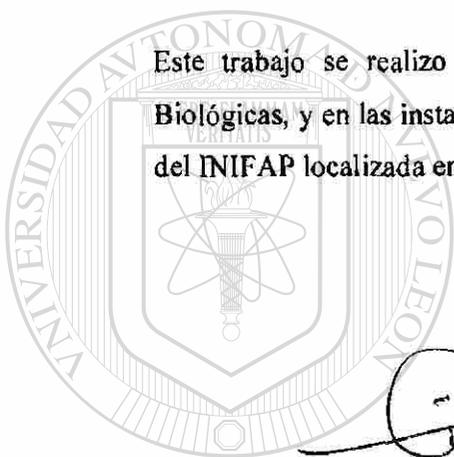


Producción de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring en cultivo de Algodón *Gossypium hirsutum* L.

Presenta

Q.B.P. Mónica Gpe Lozano Contreras

Este trabajo se realizó en Unidad de Bioprocesos de la Facultad de Ciencias Biológicas, y en las instalaciones del Campo Experimental de la Laguna (CELALA), del INIFAP localizada en el municipio de Matamoros, Coahuila, México.



UANL

Dr. Luis J. Galán Wong
Director interno

Dr. Urbano Nava Camberos
Director externo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

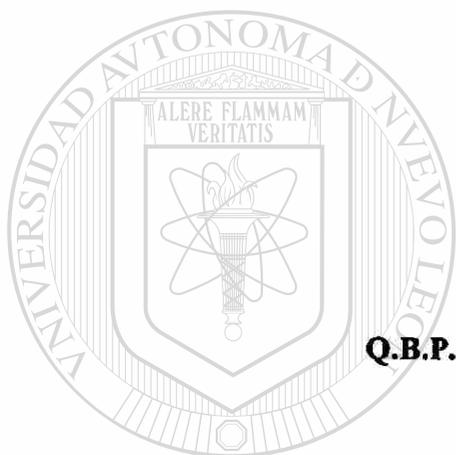
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



SEPTIEMBRE, 2007

Producción de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith y Evaluación de su efectividad biológica contra *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring en cultivo de Algodón *Gossypium hirsutum* L.

Presenta



Q.B.P. Mónica Guadalupe Lozano Contreras

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

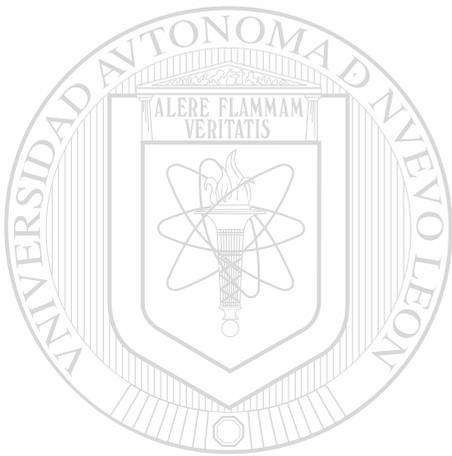
®

Dr. Luis J. Galán Wong
Director de la tesis

Dra. Myriam Elías Santos
Co-Directora

SEPTIEMBRE, 2007

**“Son la Perseverancia y la Paciencia,
herramientas infalibles que nos llevan hacia
una aproximación al conocimiento”.**



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis dos grandes amores, mi esposo y mi hija.

A mi esposo David por su amor, paciencia, esfuerzo y cooperación durante estos años, que me brindaron la fortaleza necesaria para lograr esta meta.

A mi hija Itzel por su amor y paciencia, y por todo ese tiempo que le pertenecía y que utilice en la realización de esta tesis.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Myriam Elías Santos, por haberme dado la oportunidad de caminar este sendero a su lado, brindándome su confianza y lo más importante su amistad, así como los conocimientos brindados a lo largo de mi trabajo de tesis.

Mi eterno agradecimiento al Dr. Urbano Nava Camberos, por su guía y apoyo incondicional en la realización de mi trabajo, así como sus consejos que me darán la oportunidad de llegar a ser un excelente investigador.

A la Dra. Catalina Rivas Morales, por su auxilio cada vez que tuve problemas con mi trabajo, por sus consejos brindados para mi formación doctoral, así como la revisión de este manuscrito y sobre todo por tener confianza en mí.

Al Dr. Luis J. Galán Wong, gracias por la oportunidad que me brindó para realizar este Doctorado, sobre todo por haberme encaminado a la Biotecnología a través de su cátedra años atrás cuando era una estudiante de licenciatura.

Al Dr. Alejandro González Hernández, por haberme presentado a las personas correctas, y sobre todo por haber sido mi maestro, por sus consejos, y por formar parte de este trabajo muchas gracias.

Al Dr. Hugo A. Luna Olvera, por su apoyo a lo largo de mi Doctorado, su asesoría y su participación en este proyecto, gracias.

Al Ing. Luis Palacios, por su valiosa ayuda, sus consejos y su hospitalidad.

Agradezco mucho al personal del Campo Experimental La Laguna, por su valiosa ayuda en esta investigación, gracias por su amistad, por haberme regalado su tiempo y sobre todo por haberme dado siempre un caluroso recibimiento.

CONTENIDO

| Sección | Página |
|---|--------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. HIPÓTESIS | 2 |
| 3. OBJETIVO GENERAL | 3 |
| 3.1 Objetivos Específicos | 3 |
| 4. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 4.1 Hongos Entomopatógenos | 4 |
| 4.1.1 Generalidades | 4 |
| 4.1.2 Efectividad de Hongos Entomopatógenos | 4 |
| 4.1.3 Formas de Utilización y Manejo de Hongos Entomopatógenos .. | 6 |
| 4.1.4 Potencialidad de Uso de Hongos Entomopatógenos | 6 |
| 4.1.5 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos en México | 8 |
| 4.2. <i>Paecilomyces</i> spp | 9 |
| 4.2.1 Importancia y Potencial de uso | 9 |
| 4.2.2 Características de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (Wize) Brown & Smith | 9 |
| 4.2.3 Espectro de Acción / Plagas Afectadas | 11 |
| 4.2.4 Ciclo de Infección del hongo | 11 |
| 4.2.5 Producción de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> | 13 |
| 4.2.6 Comportamiento de los Cultivos Miceliales en Biorreactores ... | 14 |
| 4.2.7 Relación de la agitación y la viscosidad en cultivos miceliales ... | 18 |
| 4.2.8 Morfología miceliar en medios cultivo líquidos | 18 |
| 4.3 <i>Bemisia argentifolii</i> (Bellows & Perring) | 21 |
| 4.3.1 Ubicación Taxonómica | 21 |
| 4.3.2 Morfología y Ciclo Biológico | 21 |
| 4.3.3 Daños | 24 |
| 4.3.4 Distribución e Importancia Económica | 26 |
| 4.3.5 Principales Plantas Hospedantes de MBHP en la Comarca | 27 |
| 4.3.6 Manejo Integrado | 27 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 31 |
| 5.1 Conservación y Obtención del material biológico | 32 |
| 5.1.1 Origen de la cepa | 32 |
| 5.1.2 Medios de Cultivo | 32 |
| 5.1.3 Preparación del pre-inoculo | 32 |
| 5.1.4 Preparación de los medios de cultivo | 33 |
| 5.1.5 Condiciones de Propagación | 33 |
| 5.1.6 Fermentador utilizado | 33 |

| | |
|--|----|
| 5.1.7 Inoculación del Fermentador | 33 |
| 5.1.8 Producción de blastosporas en el Fermentador | 34 |
| 5.1.9 Cuantificación de blastosporas | 34 |
| 5.1.10 Determinación de Peso seco | 34 |
| 5.1.11 Determinación de Azúcares | 35 |
| 5.1.12 Recuperación de las blastosporas | 35 |
| 5.1.13. Determinación del porciento de germinación | 35 |
| 5.1.14 Determinación del k_La | 36 |
| 5.1.15 Formulación de los productos obtenidos | 36 |
| 5.1.16 Análisis Estadísticos | 36 |
| 5.1.17 Diseño Experimental | 37 |
| 5.2 Evaluación de efectividad en campo | 38 |
| 5.2.1 Ubicación del Experimento | 38 |
| 5.2.2 Manejo Agronómico del Cultivo | 38 |
| 5.2.3 Tratamientos | 38 |
| 5.2.4 Diseño Experimental | 39 |
| 5.2.5 Variables Evaluadas | 40 |
| 5.2.6 Análisis Estadístico | 40 |
| 6. RESULTADOS | 41 |
| 6.1. Producción de <i>P. fumosoroseus</i> | 41 |
| 6.1.1 Producción de blastosporas a nivel de fermentador | 41 |
| 6.1.2 Cinética de crecimiento en base a Peso Seco | 42 |
| 6.1.3 Cinética de crecimiento en base a Consumo de Azúcares | 44 |
| 6.1.4 Coeficiente de Transferencia de Oxígeno (k_La) | 45 |
| 6.1.5 Viabilidad de las blastosporas | 46 |
| 6.1.6 Ventajas y Desventajas de la Fermentación en cultivo Líquido | 49 |
| 6.2. Efectividad biológica de <i>P. fumosoroseus</i> contra <i>B. argentifolii</i> | 52 |
| 7. DISCUSIÓN | 59 |
| 7.2. Discusión sobre la efectividad biológica | 67 |
| 8. CONCLUSIONES | 72 |
| 9. RECOMENDACIONES PARA UNA FUTURA INVESTIGACIÓN | 73 |
| 10. LITERATURA CITADA | 74 |
| 11. APÉNDICE | 90 |

LISTA DE FIGURAS

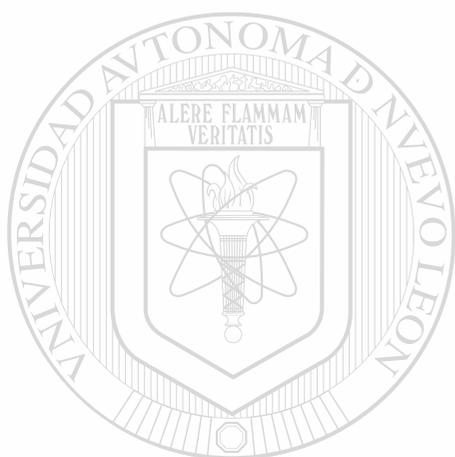
| Figura | Página |
|---|--------|
| 1. Características microscópicas y macroscópicas de <i>Paecilomyces</i> spp. | 10 |
| 2. Ninfa de <i>Bemisia argentifolii</i> infectada por <i>P. fumosoroseus</i> | 11 |
| 3. Producción de hongos entomopatógenos en cultivo sólido y cultivo líquido .. | 13 |
| 4. Huevecillo de <i>B. argentifolii</i> | 22 |
| 5. Etapas ninfales de <i>B. argentifolii</i> | 23 |
| 6. Última etapa ninfal de <i>B. argentifolii</i> | 23 |
| 7. Adulto de <i>B. argentifolii</i> | 24 |
| 8. Enemigos naturales de la mosquita blanca | 29 |
| 9. Insecticida químico Endosulfan | 29 |
| 10. Trampa amarilla para monitoreo de la plaga | 30 |
| <hr/> | |
| 11. Producción de blastosporas de <i>P. fumosoroseus</i> a escala fermentador en dos medios de cultivo líquido | 41 |
| 12. Cinética de crecimiento de <i>P. fumosoroseus</i> cepa 612 a nivel de fermentador en ambos medios de cultivo líquido. La gráfica muestra concentración de biomasa | 43 |
| 13. Cinética de crecimiento de <i>P. fumosoroseus</i> cepa 612 a nivel de fermentador en ambos medios de cultivo líquido. La gráfica muestra el consumo de azúcares | 44 |
| 14. Sobrevivencia de blastosporas de <i>P. fumosoroseus</i> producidas en dos medios líquidos almacenados a 4 °C y formulados con tierra de diatomeas | 47 |
| 15. Sobrevivencia de blastosporas de <i>P. fumosoroseus</i> producidas en dos medios líquidos sin formular, almacenados a 4 °C | 48 |

LISTA DE TABLAS

| Tabla | Página |
|--|--------|
| I. Diferencias que ocurren de forma natural en los hongos según varios autores. | 5 |
| II. Productos comerciales de hongos entomopatógenos | 7 |
| III. Enfermedades y virus de plantas transmitidos por <i>Bemisia spp</i> | 26 |
| IV. Diseño experimental para la determinación de los siguientes parámetros: cuenta de blastosporas, peso seco y consumo de azúcares | 37 |
| V. Diseño experimental para la determinación de los siguientes parámetros: viabilidad con soporte y viabilidad sin formular | 37 |
| VI. Diseño experimental de los tratamientos para el bioensayo a nivel de campo. | 39 |
| <hr/> | |
| VII. Parámetros determinados en la producción de <i>P. fumosoroseus</i> cepa 612 en ambos medios a nivel fermentador después de 72 horas | 42 |
| VIII. Valores de $k_L a$ obtenidos a 520 r.p.m y 1 vvm en ambos medios de cultivo | 45 |
| IX. Costos de los productos | 51 |
| X. Porcentaje de ninfas infectadas de <i>B. argentifolii</i> sobre cultivo de algodón, al segundo día después de la aplicación de los tratamientos ... | 53 |

XI. Porcentaje de ninfas infectadas de *B. argentifolii* sobre cultivo
de algodón, al cuarto día después de la aplicación de los tratamientos ... 55

XII. Porcentaje de ninfas infectadas de *B. argentifolii* sobre cultivo
de algodón, al sexto día después de la aplicación de los tratamientos 57



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

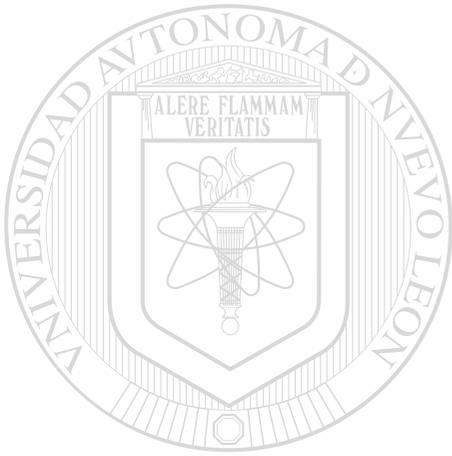


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE

| Apéndice | Página |
|---|--------|
| A. Velocidad de toma de oxígeno y concentración de oxígeno disuelto en condiciones de limitación de O ₂ | 91 |
| B. Curva de fluidez para representar la viscosidad dinámica y aparente | 92 |
| C. Cálculos del k _L a de la fermentación | 93 |
| D. Integración de la ecuación de transferencia de oxígeno disuelto | 94 |
| E. Pasos para evaluar el k _L a por el método de desgasificación | 95 |
| F. Determinación del k _L a | 96 |
| G. Secuencia de cálculo de la correlación para estimar k _L a | 97 |
| H. Método de mínimos cuadrados | 98 |
| I. Análisis de Varianza Factorial obtenidos en la producción de las blastosporas de <i>P. fumosoroseus</i> a nivel fermentador con ambos tratamientos | 100 |
| J. Análisis de Varianza Factorial obtenidos del peso seco de las blastosporas a nivel fermentador con ambos tratamientos | 101 |
| K. Análisis de Varianza Factorial obtenidos del consumo de azúcares de <i>P. fumosoroseus</i> a nivel fermentador con ambos tratamientos | 102 |
| L. Análisis de varianza factorial de los resultados de sobrevivencia de las blastosporas formuladas con tierra de diatomeas con ambos tratamientos | 103 |
| M. Análisis de varianza factorial de los resultados de sobrevivencia de las blastosporas formuladas sin tierra de diatomeas con ambos tratamientos | 104 |
| N. Valores de las diferentes dosis empleadas | 105 |

- O. Comparación de medias de los tratamientos con
P. fumosoroseus 612 aplicados contra *B. argentifolii* en cultivo de
algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al segundo día después de la aplicación .. 106
- P. Comparación de medias de los tratamientos con
P. fumosoroseus 612 aplicados contra *B. argentifolii* en cultivo de
algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al cuarto día después de la aplicación ... 107
- Q. Comparación de medias de los tratamientos con
P. fumosoroseus 612 aplicados contra *B. argentifolii* en cultivo
de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al sexto día después de la aplicación ... 108



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

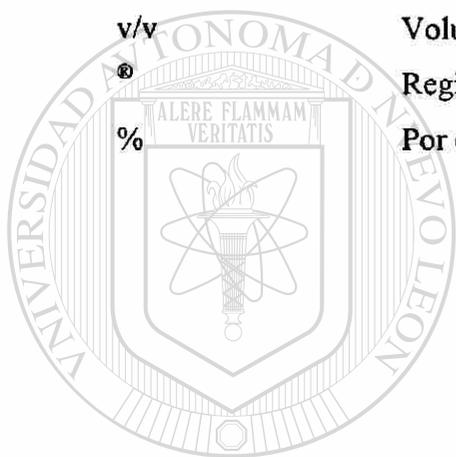


NOMENCLATURA

| | |
|------------------------|---|
| ANOVA | Análisis de varianza |
| ARS | Agricultural research service |
| AS | Alta diferencia significativa |
| <i>B. bassiana</i> | <i>Beauveria bassiana</i> |
| <i>B. argentifolii</i> | <i>Bemisia argentifolii</i> |
| <i>B. tabaci</i> | <i>Bemisia tabaci</i> |
| CaCl ₂ | Cloruro de calcio |
| Cf | Caldo fermentativo |
| C. Rivas | Catalina Rivas (medio de cultivo) |
| Col.s. | Colaboradores |
| cm | Centímetros |
| Cg* | Concentración del oxígeno disuelto |
| CL | Concentración del oxígeno disuelto en el seno del líquido |
| °C | Grados centígrados |
| d | Días |
| Dr. | Doctor |
| Dra. | Doctora |
| Dt | Diámetro del tanque |
| esp/mL | Esporas por mililitro |
| <i>et al</i> | Y los demás |
| F. Calc. | Prueba de F. calculada |
| FeSO ₄ | Sulfato de ferroso |
| g | gramos |
| g/L | gramos por litro |
| ha | Hectárea |
| h | horas |
| h | Altura (metros) |
| h ⁻¹ | Horas a la menos uno |
| H ₂ O | agua |

| | |
|---------------------------------|---|
| HR | Humedad relativa |
| kg | kilogramos |
| KH ₂ PO ₄ | fosfato ácido de potasio |
| k _L a | Coefficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (h ⁻¹) |
| km | kilómetro |
| DL ₅₀ | Dosis letal |
| L | Litro |
| μa | Viscosidad aparente |
| MBHP | Mosquita blanca de la hoja plateada |
| m.d.d | Millones de dólares |
| mg/mL | miligramos por mililitro |
| MgSO ₄ | sulfato de magnesio |
| mL | mililitro |
| m ² | Metro cuadrado |
| mm ² | Milímetro cuadrado |
| η | viscosidad |
| NS | Diferencia no significativa |
| No | Número |
| O ₂ D | Oxígeno Disuelto |
| O ₂ | Oxígeno |
| PDA | Agar papa dextrosa |
| P. de error | Probabilidad de error |
| Pg/V | Potencia gaseada por volumen |
| <i>P. farinosus</i> | <i>Paecilomyces farinosus</i> |
| <i>P. fumosoroseus</i> | <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> |
| pH | potencial de hidrógeno |
| P/V | Potencia por unidad de volumen |
| √P | proporción |
| r.p.m | revoluciones por minuto |
| Solución Co | solución de cobalto |
| Solución Mg | solución de magnesio |
| Solución Zn | solución de zinc |

| | |
|--------|--|
| sp | Especie |
| spp | Especies |
| τ | Esfuerzo cortante |
| UFC | Unidades formadoras de colonias |
| USDA | United States Department of Agriculture |
| U.V. | Luz ultravioleta |
| Vg | velocidad para un campo gravitacional (cm/seg) |
| Vs | Velocidad superficial del gas |
| vvm | Volumen de aire por volumen de medio |
| v/v | Volumen por volumen |
| ® | Registrado |
| % | Por ciento |



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



RESUMEN

En tiempos recientes se ha visto que existen varias ventajas en usar cultivos líquidos para la producción de blastosporas. Estos incluyen principalmente los procesos de escalamiento que son relativamente fáciles, así como el control de parámetros tales como temperatura, aireación y pH. En este trabajo evaluamos la producción de blastosporas de *P. fumosoroseus* Brown & Smith, usando un medio de cultivo líquido barato a nivel fermentador de 14 L (con un volumen de trabajo de 5 L), comparándolo con un medio usado comúnmente para la producción y viabilidad de las blastosporas, así como el control biológico de estas contra *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. Los dos medios usados contuvieron la misma concentración de glucosa, pero se diferenciaron en la fuente de Nitrógeno (medio M. Jackson que contiene casaaminoácidos y el medio C. Rivas contiene peptona de colágeno y extracto de levadura). Inicialmente con un inóculo de 1×10^6 blastosporas/mL, el medio C. Rivas produce 2.4×10^{10} blastosporas/mL después de 72 h en agitación de 520 r.p.m y 1 vvm, mientras que el medio M. Jackson con la misma agitación obtiene 2.7×10^8 blastosporas/mL. Al tiempo que se estableció un coeficiente de transferencia de oxígeno ($k_L a$) de 115.38 h^{-1} para ambos medios. A partir de ello se observó que los microorganismos en el medio M. Jackson crecieron más lentamente durante fase log y alcanzaron la fase exponencial hasta después de 36 h de fermentación. En tanto que la viabilidad de las blastosporas se mantuvo más alta (65%) en el medio M. Jackson que las obtenidas en el medio C. Rivas (59%), durante un tiempo de 150 días, almacenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y formuladas con un soporte (tierra de diatomeas). Por otra parte a nivel de campo los bioensayos de control sobre *B. argentifolii* fueron más efectivos con las formulaciones de los medios de cultivo obtenidos en el fermentador (C. Rivas y M. Jackson), por lo que las blastosporas de *P. fumosoroseus* mostraron al final del muestreo una mortalidad del 65%, con respecto a Specifik® (testigo biológico) y Endosulfan (testigo químico) que son productos comerciales, los cuales lograron un 40% de mortalidad. En general las formulaciones con blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas en el medio C. Rivas fueron 100% más efectivas y con mayor poder residual sobre los cultivos de algodón que las obtenidas en el medio M. Jackson. Concluyendo que el medio que contiene peptona de colágeno y extracto de levadura es una alternativa para la producción de las blastosporas de *P. fumosoroseus*, proporcionando costos más bajos, una producción más alta y un tiempo más corto de la propagación para el control de *B. argentifolii*.

Palabras clave: Blastosporas, Bioensayos, Diferentes fuentes de nitrógeno, Producción, *P. fumosoroseus*.

ABSTRACT

There are many advantages to using liquid cultures for the production of blastospores. These include mainly the processes of scaling which are relatively easy, as well as the control of parameters such as temperature, aeration and pH. In this work, we evaluated the production of *P. fumosoroseus* Brown & Smith blastospores using a low-cost liquid culture medium in a fermenter of 14 L (with a volume of work of 5 L), in comparison to a medium commonly used for this purpose, with regard to yield and viability of blastospores, as well as the biological control of these against *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. The two media contained the same concentration of glucose but differed in N source (M. Jackson containing casamino acids and C. Rivas provided with collagen peptone and yeast extract). Starting with an inoculum of 1×10^6 blastospores/mL, C. Rivas medium produced 2.4×10^{10} blastospores/mL after incubation for 72 h at 520 r.p.m agitation and 1 vvm aeration, while only 2.7×10^8 /mL were produced with M. Jackson. A coefficient of transference settled down of 1 oxygenate k_{La} of 115.38 h^{-1} for both mediums. The viability of the blastospores stayed more discharge (65%) in the average M. Jackson that obtained in the average C. Rivas (59%), during a time of 150 days, stored to 4°C and with the support (Earth of diatomeas). At field level the bioassays of control on *B. argentifolii* is more effective with the obtained formulations of studied mediums of culture (C. Rivas and M. Jackson), since the blastospores of *P. fumosoroseus* showed at the end of the sampling a mortality of 65%, with respect to the other treatments, Specifik[®] (biological witness) and Endosulfan (chemical witness) commercial products which profit a 40% of mortality. The formulations with blastospores of *P. fumosoroseus* obtained in the average C. Rivas greater were more effective 100% and with being able residual on the cotton cultures, that obtained in the average M. Jackson. The medium that contain peptone of collagen and yeast extract are an alternative for the production of the blastosporas of *P. fumosoroseus*, providing lower costs, one more a higher production and a shorter time of the propagation, for the control of *B. argentifolii*.

Key words: Nitrogen Blastospores, Bioassays, Different sources, Production, *P. fumosoroseus*.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia de producir blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* reside en su eficacia tóxica como agente para el control de diversas plagas que afectan las cosechas agrícolas. Su producción en cultivo líquido es un proceso biotecnológico que puede ser aprovechado por su alta efectividad y su bajo costo en comparación con la producción de esporas en superficies de cultivo sólido y fermentación bifásica. Anteriormente el uso del medio líquido ha demostrado buenos resultados en la producción de *P. fumosoroseus* (Jackson *et al.*, 2004), puesto que produce diversas formas morfológicas como el micelio, las conidios y las blastosporas.

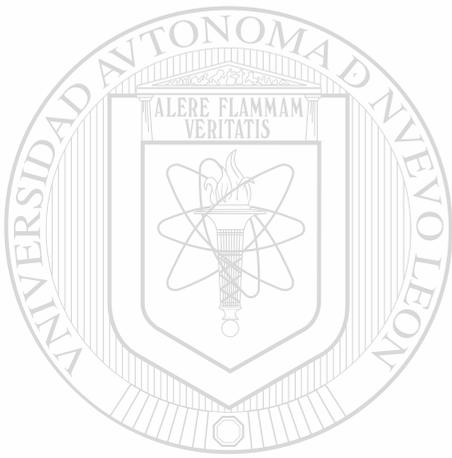
De ahí que este trabajo de investigación se haya propuesto producir blastosporas para probar su efectividad contra *Bemisia argentifolii* (mosquita blanca), usando dos medios de cultivo con diferentes fuentes de nitrógeno. A partir de ello, se pudo comprobar que el medio que emplea una fuente de nitrógeno de bajo costo produce mayor cantidad de blastosporas y tiene mayor efectividad sobre la plaga que el otro medio de cultivo.

En este sentido el biorreactor desempeñó un papel fundamental, puesto que su uso simplificó de forma considerable la producción al tiempo que proporcionó las condiciones óptimas para su propagación. Esto se traduce en tiempos más cortos para la producción de blastosporas y costos más bajos en comparación a una fermentación de sustrato sólido.

Para verificar la efectividad de este hongo entomopatógeno, se realizaron una serie de bioensayos en cultivos de algodón localizados en la Comarca Lagunera de Coahuila que hospedaban de forma natural a *B. argentifolii*, mostrando buenos resultados. Es así que en este trabajo se muestran las cualidades necesarias para producir un nuevo bioinsecticida económico y rápido de producir, que será de gran utilidad a muchos agricultores que sufren grandes pérdidas económicas en su cosecha debido a los daños directos e indirectos provocados por esta plaga.

2. HIPÓTESIS

La formulación de los medios de cultivo contribuyen en la producción y viabilidad de las blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* a nivel de fermentador, y también en la toxicidad contra *Bemisia argentifolii*.



UANL

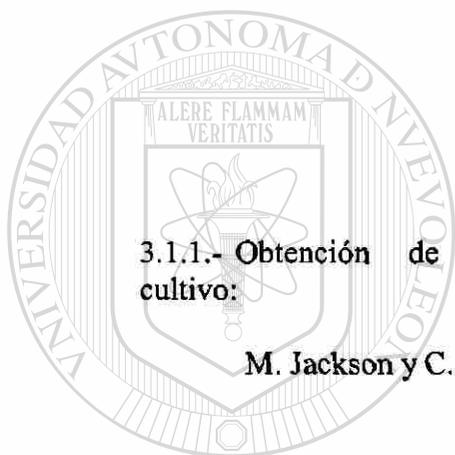
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el control biológico de *Bemisia argentifolii* sobre un cultivo de algodón, con blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* producidas en dos medios de cultivo M. Jackson y C. Rivas a nivel fermentador de 14 L.



3.1 Objetivos Específicos

3.1.1.- Obtención de blastosporas de *P. fumosoroseus* en dos medios de cultivo:

M. Jackson y C. Rivas.

3.1.2.- Evaluar la sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas a nivel fermentador con dos medios de cultivo.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.1.3.- Formular las dosis de los extractos obtenidos de los cultivos para su aplicación a nivel de campo.

3.1.4.- Evaluar la efectividad a nivel de campo en un cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), infestado por *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) con las blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas en los medios M. Jackson y C. Rivas.

4. ANTECEDENTES

4.1 Hongos entomopatógenos

4.1.1 Generalidades

Los hongos entomopatógenos son microorganismos vivos que producen enfermedades a diferentes órdenes de insectos. Inofensivos al hombre, animales y plantas. En condiciones naturales requieren de humedad, pH y temperatura adecuada para cada especie de hongos.

(<http://www.senasa.gob.pe/controlbiologico/especies/hongosentomopatogenos.htm> visitada en 2004)

Los hongos entomopatógenos han recibido mucha atención en la última década, sobre todo por el gran avance en el conocimiento de la tecnología de producción (Khachatirians, 1986). Y se valoran como enemigos naturales de los insectos y algunas especies se manifiestan causando mortalidades naturales en el campo hasta alcanzar el nivel de epizootia con lo que se consigue el control biológico natural. En el mundo se han registrado aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos (Hajek, 1993) y de éstas solo nueve están recibiendo interés comercial por la facilidad que tienen de producir las esporas y formularlas como biopesticidas (Hajek, 1993; Malsam *et al.*, 1997; Bateman, 1995).

4.1.2 Efectividad de Hongos Entomopatógenos

El primer reporte de *Paecilomyces fumosoroseus*, data del año 1904 sin embargo fue detectado en adultos de *Trialeurodes vaporariorum* en Pekín, China hasta 1980 describiéndose como variedad *baijingensis*. Las características de aislamiento fueron diferentes a la cepa original, después de varios re-aislamientos, hasta que en experimentos realizados por Frang *et al.*, 1985 sobre melón, logro buen control de adultos de este aleyrodido en invernaderos, despertando con ello el interés para ser utilizado como agente microbiano (Anónimo, 1993).

B. bassiana causo mortalidad del 90.6 % de mortalidad en huevecillos de la mosca blanca de los invernaderos, *T. vaporariorum* 67 % sobre ninfas y 23 % de pupas, presentando diferentes rangos de mortalidad a niveles variados de humedad relativa y temperatura. *B. bassiana*, *Paecilomyces* spp., *Erynia* sp., *V. lecanii* son entomopatógenos que afectan además a insectos de diferentes grupos (Fransen, 1990).

La efectividad de *B. bassiana* para el control de la mosquita blanca de la hoja plateada, *B. argentifolii*, muestran resultados variables, por ejemplo (Esquivel, 2002) reporta buena efectividad en condiciones de invernadero, mientras que López (1994), demostraron dicha efectividad en condiciones de campo; pero por el contrario López (1994) y Esquivel (2002) reportan baja efectividad. La efectividad de *P. fumosoroseus* para el control de mosquita blanca *B. argentifolii* y *B. tabaci* es variable, Esquivel (2002) en invernadero, García y Gutiérrez 1998 y Osuna-Páez (2003) en condiciones de campo reportan buena efectividad, mientras que Esquivel (2002) y García y Gutiérrez (1998) en condiciones de campo reportan baja efectividad. En el campo, la eficiencia del control biológico por ejemplo de: *P. fumosoroseus* depende de la dispersión, concentración del inóculo, virulencia y viabilidad de las esporas (McCoy, 1974). La dispersión puede ser ayudada por viento, lluvia y movimientos de los mismos insectos. La determinación de la concentración o tamaño mínimo del inóculo es importante para causar infección en el campo. Por lo general, existen diferencias en cuanto a la virulencia y fisiología entre cepas de una misma especie de hongo (Veen, 1967; Gupta *et al.*, 1994) y *P. fumosoroseus* tampoco es la excepción. La permanencia del hongo depende de la reemergencia en el huésped (Tabla I) y producción de conidias o fragmentos de micelio que pueden infectar otros insectos.

Tabla I. Diferencias que ocurren de forma natural en hongos reportado por diferentes autores.

| Diferencias | Cita |
|--|--|
| La variabilidad genética ocurre en forma natural | (Castrillo <i>et al.</i> , 1999; St. Leger <i>et al.</i> , 1992) |
| Heterocariosis fúngica | (Roberts y Yendol, 1971) |
| La Viabilidad de las esporas | (Inglis <i>et al.</i> , 1999; McCoy, 1974) |
| El Crecimiento vegetativo | (Vidal <i>et al.</i> , 1997) |
| Afectación por temperatura y humedad relativa | (Ruiz <i>et al.</i> , 1995) |
| Radiación solar y en especial los rayos UVB (280-320 nm) y UVA (230-400 nm) | (Daoust y Pereira, 1986) (Fargues <i>et al.</i> , 1997) |
| Presencia de metabolitos secundarios, como el catecol y ácido salicílico, en la superficie de las hojas o de la cutícula del insecto | (Vega <i>et al.</i> , 1997) |

4.1.3 Formas de Utilización y Manejo de Hongos Entomopatógenos

Existen tres formas de utilización de hongos entomopatógenos:
(Lezama-Gutiérrez 2002)

1. Inoculación: Consiste en liberar pequeñas cantidades de un hongo y permitir que sus niveles de inóculo aumenten, conforme se instala en la parcela o región.

2. Conservación: Consiste en conservar y realizar prácticas que permitan aumentar los niveles de inóculo de un hongo, donde ya se encuentra, pero a niveles de bajos de inóculo. Como para lograr disminuir las poblaciones de los insectos.

3. Inundación: Consiste en realizar aplicaciones de grandes cantidades de inóculo sobre una plaga, en la parcela o una región.

4.1.4 Potencialidad de Uso de Hongos Entomopatógenos

Los hongos tienen un amplio potencial para el manejo de plagas en hortalizas y son empleados dentro del contexto de un programa de manejo integrado de plagas, contra mosquitas blancas, diabroticas, pulgones, gallinas ciegas, gusano de alambre y larvas de lepidópteros, integrándolos con otros agentes microbianos, como *Bacillus thuringiensis* u otras especies de hongos.

A la fecha se encuentran en el mercado internacional empresas que tienen en venta formulaciones de hongos (Tabla II).

Tabla II. Productos comerciales de hongos entomopatógenos.

| Marca Comercial | Ingrediente Activo | Concentración | Presentación | País ó Región |
|-------------------------|----------------------------------|--|-----------------------|----------------------|
| Specifick | <i>P. fumosoroseus</i> | 1 x 10 ¹¹ esporas/ha | Polvo | México |
| BassianiL | <i>B. bassiana</i> | 1 x 10 ¹¹ conidias por cada 50 g | Polvo | México |
| Pae-Sin | <i>P. fumosoroseus</i> | 1.2 x 10 ¹² conidias por cada 240 g | Líquida y Polvo | México |
| Bea-Sin | <i>B. bassiana</i> | 1.2 x 10 ¹² conidias por cada 240 g | Líquida y Polvo | México |
| Destruxin | <i>Metarhizium anisopliae</i> | 1 x 10 ¹⁰ conidias por cada 50 g | Polvo | Colombia |
| Mycotrol | <i>B. bassiana</i> cepa GHA | 2 x 10 ¹³ conidias | Líquida | E.U.A |
| Naturalis-L | <i>B. bassiana</i> | 2.3 x 10 ⁷ conidias/mL | Líquida (en aceite) | E.U.A |
| PreFeral | <i>P. fumosoroseus</i> | 2 x 10 ⁹ UFC/g | Gránulos dispersables | Francia |
| Vertalec | <i>Verticillium lecanii</i> | 5 x 10 ⁸ esporas/g | Polvo | Inglaterra |
| Successor | <i>P. fumosoroseus</i> | 5 x 10 ⁹ esporas/mL | Líquida | Colombia |
| Botanigard 22 WP | <i>B. bassiana</i> | 4.4 x 10 ³ esporas/Kg | Polvo | Centroamerica |
| Bauveril | <i>B. bassiana</i> Cepa laverlam | 1 x 10 ¹¹ conidias/ha | Polvo | Colombia |

Lo anterior sin olvidar que en China y Rusia se han caracterizado por producir miles de toneladas de formulaciones de polvo de esporas de *B. bassiana*, para el control de plagas agrícolas; de mismo modo, la producción del hongo *V. lecanii* en Inglaterra para el control de mosquitos blancos y pulgones de hortalizas en invernaderos (McCoy, 1990; Feng *et al.*, 1994). Brasil destaca como país pionero en América, donde se multiplica y utilizan a los hongos *B. bassiana*, *N. rileyi*, *M. anisopliae*, la bacteria *B. thuringiensis*, nematodos entomopatógenos y virus de la polihedrosis nuclear, para el control de plagas en caña de azúcar, pastos, soya y hortalizas (Ferron, 1978, 1981, 1985; Zimmermann, 1986; Feng *et al.*, 1994; Lacey y Goettel, 1995).

4.1.5 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos en México

Desde 1991 varios estados del país, los productores y los gobiernos estatales se han organizado y han establecido laboratorios destinados a la producción y formulación de hongos, para el control de plagas. Dentro de los hongos que más se producen en el país es *B. bassiana* y es utilizado en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Oaxaca (Hernández y Berlanga, 1996).

En la actualidad ya son once los Estados del país donde se producen hongos para el control de plagas de su entidad ellos son Aguascalientes (*B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*); Chiapas (*B. bassiana*); Colima (*P. fumosoroseus*); Guanajuato (*M. anisopliae*); Guerrero (*B. bassiana*); Nayarit (*B. bassiana* y *P. fumosoroseus*); Oaxaca (*B. bassiana*); Sinaloa (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *B. thuringiensis*); Tlaxcala (*M. anisopliae* y *B. bassiana*); Veracruz (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *M. flavoviride*); Yucatán (*M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*). Cada Estado al menos con un laboratorio de producción de hongos (Rodríguez del Bosque y Arredondo-Bernal, 1999).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Las compañías comerciales que fabrican productos de control biológico consideran diferentes aspectos a fin de obtener un producto adecuado (Boyetchko *et al.*, 1998; Lumsden *et al.*, 1995; Stirling, 1991; Walter & Pauu, 1993).

- a) Definir un medio de cultivo óptimo y el mejor sistema para la obtención masiva de inóculo que permita una buena relación costo-rendimiento en la producción.
- b) Establecer ensayos de producción a pequeña escala.
- c) Asegurar la estabilidad del producto y determinar las condiciones de almacenamiento.

d) Bioensayos a nivel de laboratorio, invernadero y campo que confirmen la efectividad del producto una vez formulado.

4.2. *Paecilomyces* spp

4.2.1 Importancia y Potencial de uso

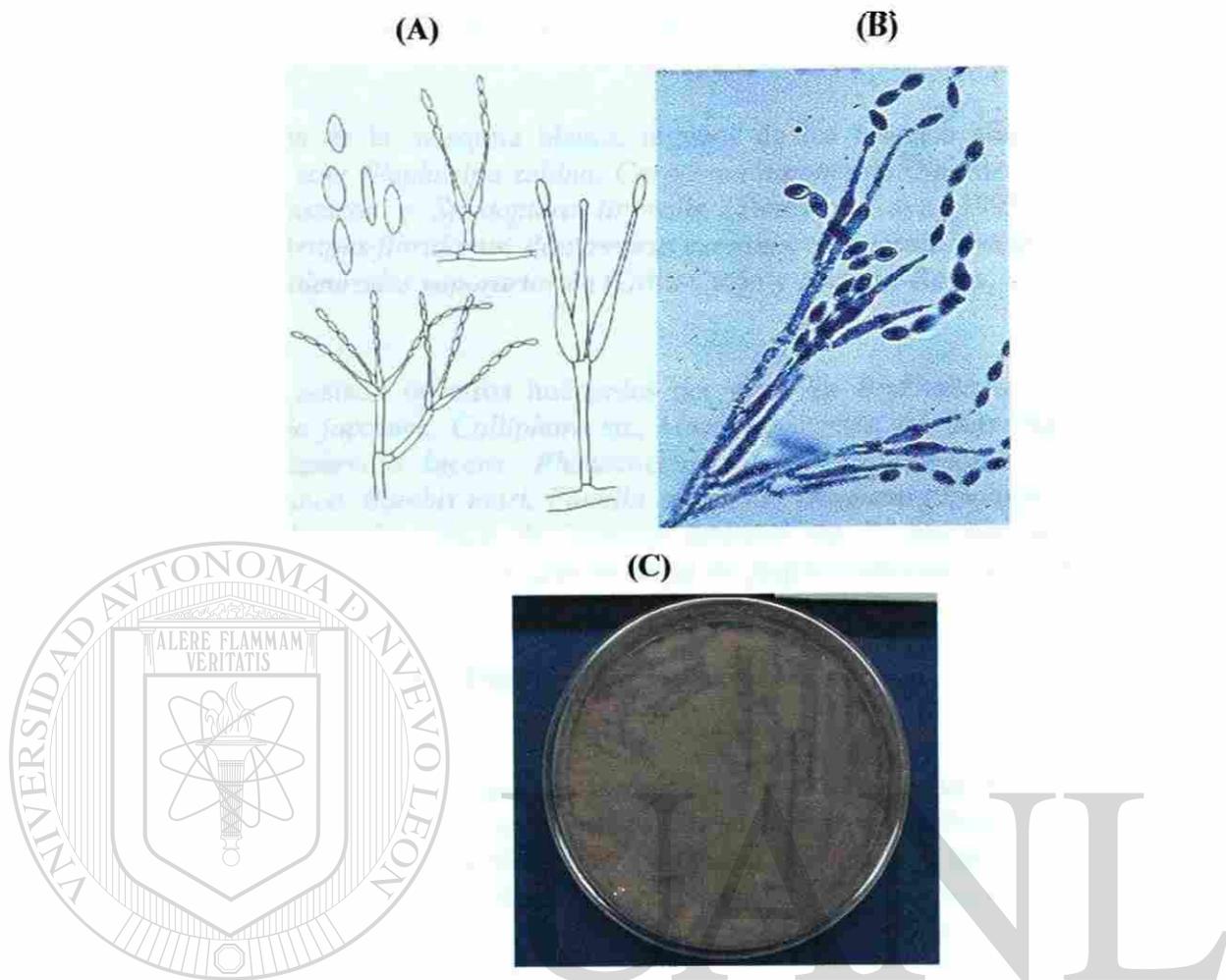
Las mosquitas blancas (*Bemisia argentifolii*) tienen un elevado número de enemigos naturales, incluyen parasitoides, depredadores y patógenos (Fransen, 1990). De los patógenos de insectos, los hongos que pueden aislarse con más frecuencia de mosquitas blancas, concentrando más de 20 especies entre las que destacan dos de *Aschersonia*, la *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas y la *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin. Dentro de estos hongos, *P. fumosoroseus* es más promisorios en el control microbiano de aleyrodidos, este causa elevada mortalidad en periodos de 24 a 48 h y es capaz de infectar todos los estados de desarrollo del insecto, incluyendo huevecillos.

Debido a las características de los agroecosistemas en que se desarrollan las mosquitas blancas *B. tabaci*, *B. argentifolii* y *T. vaporariorum*, se considera que la estrategia más adecuada de uso de *Paecilomyces* spp es por incremento inundativo, utilizando aislamientos nativos que presentan mayor adaptación a las condiciones ambientales, especialmente a la humedad relativa, altas temperaturas y niveles altos de radiación solar (Smith, 1993; Garza, 1996; Bland *et al.*, 1998).

4.2.2 Características de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith

El género *Paecilomyces* presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser también solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio (Figura 1 A). Los conidióforos llevan cadenas de conidias; están son hialinas, unicelulares y forma ovoide (Figura 1 B) (Bustillo, 2001).

Nuestro medio registra como mínimo cinco especies de *Paecilomyces* infectando a ocho insectos diferentes. Las infecciones causadas por *P. fumosoroseus* se reconocen por el color rosado pálido mientras que en *P. lilacinus* son de color violeta claro. La especie más importante del género es *P. fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (Bustillo, 2001).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Figura 1. Características microscópicas y macroscópicas de *Paecilomyces* spp. **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *Paecilomyces* spp. Dibujo tomado de Malloch (1997). **B.** Microfotografía de conidióforos y conidias de *P. fumosoroseus* Fotografía tomada por Herrera (2001). **C.** Morfología de las colonias de *P. fumosoroseus*.

4.2.3 Espectro de Acción / Plagas Afectadas

Además de la mosquita blanca, algunos de los insectos afectados por *P. fumosoroseus* son: *Blepharipa zebina*, *Carposina niponensis* (Shimizu *et al.*, 1991) *Mamestra brassicae* y *Spodoptera littoralis* (Tanda y Kaya. 1993), *Diaprepes abbreviatus*, *Artipus floridanus*, *Pantomorus cervinus*, *Solenopsis invicta* (Osborne *et al.*, 1990), *Trialeurodes vaporariorum* (Ortiz-Catón y Alatorre-Rosas, 1998).

Se ha aislado de otros huéspedes por ejemplo: *Pryralta luteola*, *Lagria vilosa*, *Popillia japonica*, *Calliphora* sp., *Musca domestica*, *M. autumnales*, *Myzus persicae*, *Nilaparvata lugens*, *Phenacoccus solana*, *Monophadnus elongatulus*, *Hyphantria cunea*, *Bombix mori*, *Plutella xylostella*, *Diaphania hyalinata* (Humber, 1992). Por el amplio rango de insectos huésped de *P. fumosoroseus*, surgen oportunidades para el control de gran variedad de plagas (Osborne *et al.*, 1990).

4.2.4 Ciclo de Infección del hongo

P. fumosoroseus infecta adultos y ninfas de los cuatro estadios de la mosquita blanca (Bunnell, 1995). Una vez que la espora se adhiere a la cutícula del insecto, y bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad, germina a las 12 h, penetra la epicutícula en 12 a 18 h y alcanza la homocela en 24 h (Gunnarsson, 1988), el micelio emerge a las 24 h y logra esporular a las 72 h después del inicio de la infección (Osborne *et al.*, 1990).

Los síntomas de infección pueden ser: cambio en la coloración del insecto (Figura 2), presencia de hifas en la homocela del insecto, crecimiento micelial entre el protórax y la cabeza y/o cubriendo total o parcialmente el cuerpo del insecto (Osborne y Landa, 1992).



Figura 2. Ninfa de *B. argentifolii* infectada por *P. fumosoroseus*

De la Rosa y López (1998); Hernández y Berlanga (1996) señalan que el desarrollo de los hongos entomopatógenos y en particular para los Deuteromycetes, puede ser dividido en diez etapas.

- 1) Fijación o adhesión al tegumento
- 2) Germinación de las conidias o unidad del insecto hospedante
- 3) Penetración a través de la cutícula del insecto hospedante
- 4) La multiplicación del hongo en el hemocele
- 5) La producción de toxinas (en ciertos hongos o cepas)
- 6) Sobreviene entonces la muerte del insecto
- 7) El hongo coloniza todo el interior del hospedante
- 8) El micelio sale hacia el exterior pasando a través del tegumento
- 9) Esporula sobre la superficie del insecto
- 10) Los propágulos son diseminados al medio

Los principales Deuteromycetes como *M. anisopliae* y *B. bassiana*, luego de parasitar a los insectos pueden permanecer colonizando al cadáver por un período relativamente largo a la espera de un nuevo hospedante.

La mayor parte de sus conidias difícilmente logran sobrevivir por más de tres meses en los diferentes tipos de suelo. Sin embargo existen algunas estructuras de resistencia que pueden ser responsables por una mayor permanencia en ese medio (Casamayor, 1998).

4.2.5 Producción de *Paecilomyces fumosoroseus*

Las técnicas de producción masiva de hongos entomopatógenos más utilizadas involucra tanto cultivos en superficie o cultivos en dos estados donde el hongo se hace crecer primero bajo condiciones sumergidas y entonces puestos a esporular sobre medios de cultivo líquido o sólidos (Agudelo y Falcón, 1983) (Figura 3).

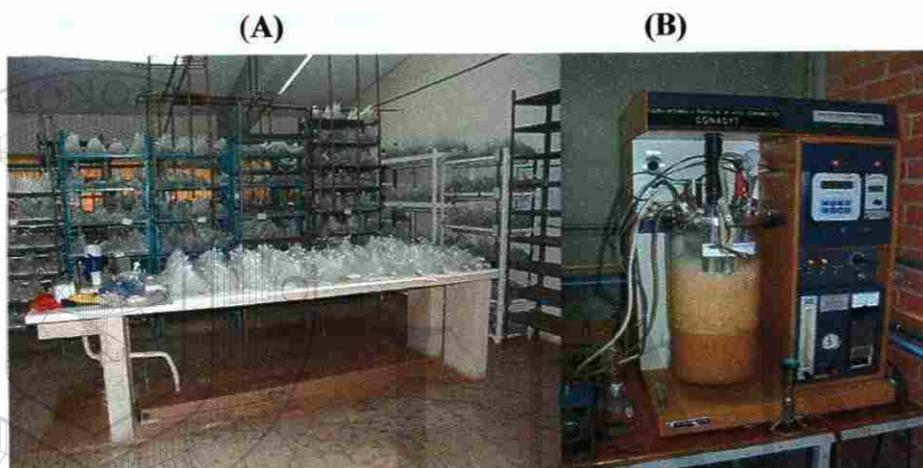


Figura 3. Producción de hongos entomopatógenos en cultivo sólido (A) y Producción en cultivo líquido (B).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Jackson *et al.*, 1997, trabajaron distintos medios de cultivo con diferentes concentraciones de carbono y relaciones de carbono nitrógeno, para producir blastosporas de *P. fumosoroseus* tolerantes a la desecación. Todos los medios probados soportaron la esporulación en cultivos sumergidos, incrementaron la concentración de blastosporas, en medios conteniendo 80 g de glucosa y 13.2 g de Casaaminoácidos y un alto porcentaje (79 %) de las blastosporas que sobreviven al secado por aire y tienen una DL_{50} para *B. argentifolii*, en almacenaje a 4 °C más del 60 % de las blastosporas liofilizadas producidas se mantuvieron viables después de 7 meses de almacenaje, mientras que menos del 25 % de blastosporas permanecen viables después de 90 días de almacenaje.

Cliquet *et al.*, en 1999 emplea como fuente de nitrógeno el glutamato, probándolo con varios carbohidratos y demostró que *P. fumosoroseus* crece mejor en glucosa (18.8 mg biomasa/mL) pero produce concentraciones similares de blastosporas ($7.3 - 11.2 \times 10^8$ blastosporas) cuando crece con glucosa, glicerol, fructosa, o sacarosa y cuando *P. fumosoroseus* crece en un medio con citrato de sodio o galactosa como única fuente de carbohidratos produce menores concentraciones de blastosporas sin embargo sus esporas son más tolerantes a la desecación.

En México a nivel comercial existen varios productos que contienen la conidia aerial de *P. fumosoroseus*, como lo es la producida por Agrobiológicos del Noreste, S.A. en Culiacán Sinaloa, la cual ya es aplicada en los campos de cultivo (De la Torre y Cárdenas, 1996).

En Estados Unidos y Europa se enfoca en el desarrollo de blastosporas o en preparaciones basadas en blastosporas y micelio usando la cepa Pfr-97 y PreFeRal utilizadas para el control de la mosquita blanca en los cultivos (Eyal *et al.*, 1994, Blockmans *et al.*, 1995; Jackson *et al.*, 1997).

En el (2002) Elías-Santos, reporta la utilización de biorreactores para la producción masiva de *P. fumosoroseus*, utilizo medio de cultivo líquido; y las mejores condiciones operacionales para el medio de cultivo con casaaminoácidos fueron (400 r.p.m y 0.5 vvm) donde se obtuvo una productividad de 2.64×10^8 blastosporas/mL.h, así como para el medio de cultivo con peptona la mejor condición de operación fue (520 r.p.m y 1 vvm) donde se mejoro la producción de blastosporas (27×10^8 blastosporas/mL.h) superando el medio con casaaminoácidos.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.2.6 Comportamiento de los Cultivos Miceliales en Biorreactores

El biorreactor es la parte principal de cualquier proceso bioquímico donde se emplean sistemas microbianos, fungales o cualquier otro sistema celular, que sirvieran para la manufacturación de una amplia variedad de productos biológicos útiles (Según Cliffe, 1997).

Pero la función principal de un biorreactor es la de contener al ente biológico a la vez de proveer un medio controlado para alcanzar el crecimiento y la formación de productos óptimos biológicos o cualquiera de ambos, en el sistema celular particular empleado (Cliffe, 1997; Bolívar, 2004).

El funcionamiento de cualquier biorreactor depende de muchas funciones: Cliffe, (1997).

- 1) la concentración de biomasa, la cual debe permanecer alta
- 2) el mantenimiento de las condiciones estériles
- 3) agitación efectiva para que la distribución de los substratos y microorganismos en el reactor sea uniforme
- 4) eliminación de calor
- 5) creación de las condiciones correctas de corte; la rapidez alta de corte puede ser dañina para el microorganismo pero la rapidez de corte bajo también pueden ser indeseables debido a la floculación o al crecimiento de biomasa inconvenientes sobre la pared del reactor y sobre el agitador

Además de considerarse los dos factores principales que afectan tanto a un cultivo miceliar, como al bioreactor: que serían la transferencia de oxígeno (k_{La}) y los efectos de corte (τ). El crecimiento de un organismo aerobio (como sería en el caso de hongos) en el cultivo sumergido requiere oxígeno disuelto en el medio y este oxígeno debe ser aportado continuamente. Esto se logra a través de la transferencia de oxígeno del gas hacia el microorganismo, la cual se lleva a cabo en varias etapas.

Primeramente el oxígeno debe viajar a través del gas hacia la interfase gas-líquido, después a través de la interfase, a través del líquido y finalmente hacia el microorganismo. La literatura nos muestra un trabajo muy amplio sobre esta transferencia gas-líquido; Por ejemplo Cooper *et al.*, 1944 demostraron una correlación generalizada para ver la influencia de parámetros tales como el tipo de reactor, impulsores y velocidades de flujo de gas sobre los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno, mejor conocidos como k_{La} (mMol/1-hr-atm) utilizando un sistema de oxidación de sulfito de sodio catalizado por cobre. Trabajos posteriores han sido realizados haciendo un escalamiento de procesos manteniendo un equivalente del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, determinado por este procedimiento, en reactores biológicos (Aiba, 1971; Karow, 1953); estos éxitos, incluyeron fermentaciones miceliales (Hudcova, 1989; Galindo, 85; For, 72; Feren, 69).

El esfuerzo de corte (shear stress), no es otra cosa que el producto de la velocidad de deformación por la velocidad imperante en esa zona. La velocidad de deformación está determinada por el impulsor (a través del gradiente de velocidades que genera) y por la viscosidad (al menos para fluidos newtonianos).

Sin embargo es el producto de ambos, y el esfuerzo cortante en última instancia el responsable de llevar a cabo los procesos de mezclado que da como consecuencia la dispersión de burbujas de gas o el que produce el inter-mezclado de fluidos en la escala microscópica (Galindo, 1993).

En las fermentaciones miceliales, el micelio de los microorganismos es largo y delgado, cerca de 30 micrones de acuerdo con Calderbank, (1967). En estos casos, los medios de fermentación exhiben un nivel altamente no-newtoniano; así por ejemplo: en el caso de aplicar la ley de potencia usada en reología, el índice de comportamiento de flujo (n) debería ser muy bajo.

Esto ocurre debido a que los filamentos largos del sistema microbiano absorben la energía del esfuerzo de corte hasta que se alinean con los patrones de flujo y debido, así mismo, a que los remolinos que se forman son isotropitos y presentan una disipación de energía turbulenta (Taguchi, 1968), la cual es abatida por el micelio. Esta misma situación, incidentalmente origina que la transferencia de masa a la fase micelial dependa de la potencia por unidad de volumen en contraste con el caso que se presenta en células individuales en una fase dispersa y que se mueven dentro de los remolinos provocados por las condiciones de mezclado (Medrano, 1992).

Por otro lado la agitación es importante para mantener las células en suspensión y la homogeneidad general del sistema. Además la agitación interviene en la transferencia adecuada y homogénea de masa al promover mecanismos convectivos de dispersión y al romper y disminuir el tamaño de las burbujas. Existen una serie de problemas y retos importantes asociados al mezclado de cultivos. La agitación de un biorreactor implica costos energéticos importantes. Por ejemplo los valores típicos de potencia (velocidad de suministros de energía al líquido) por unidad de volumen son del orden de 8 a 10 W/L en biorreactores de laboratorio y generalmente menores a 1.0 W/L en biorreactores industriales (Bolívar, 2004).

Además muchos caldos de cultivo presentan reología compleja como alta viscosidad, lo cual dificulta enormemente las operaciones de mezclado. Igualmente la fragilidad celular de ciertos cultivos como los de los hongos miceliales, limita la intensidad de agitación permisible. Algunos de estos problemas pueden ser resueltos efectivamente mediante un diseño adecuado del biorreactor y del sistema de agitación (Bolívar, 2004). Por ejemplo los impulsores helicoidales se emplean en caldos de alta viscosidad (las propelas tipo rushton); consta de varias paletas sujetas a un eje central y son comúnmente más usadas. El diámetro está normalmente entre el 30 y el 50 % del diámetro del tanque y por lo general, hay entre 4 a 6 paletas (Cliffe, 1997).

El oxígeno comúnmente se transfiere al medio de cultivo mediante el burbujeo de una corriente de aire, y puede ocasionar problemas por la formación excesiva de espuma cuando se utilizan medios ricos en proteínas (Bolívar, 2004). La formación de espuma a menudo es un problema en los sistemas con aeración en gran escala.

Se debe evitar añadir antiespumante para disminuir la espuma, puesto que pueden tener efectos de inhibición sobre el crecimiento de los microorganismos, además estas sustancias tenso-activas reducen el valor del $k_L a$ (Crueger, 1989). Sin embargo hay varias técnicas en las cuales se pueden romper la espuma usando métodos mecánicos (Cliffe, 1997).

Durante la fermentación de los organismos unicelulares y los productores de micelio existe una diferencia característica en la velocidad de absorción de oxígeno (ver Apéndice A). Durante el crecimiento logarítmico la velocidad de absorción de O_2 aumenta y el contenido en O_2 en el caldo desciende hasta que se hace limitante. Sin embargo, en fermentaciones miceliales (estreptomicetos y hongos), la velocidad de absorción desciende cuando el O_2 se hace limitante debido al aumento en el volumen del micelio y al aumento en la viscosidad relativa (Crueger, 1989).

Se conoce que la viscosidad aparente se incrementa con la concentración celular (Nienow, 1984, 1989; Oldshue, 1966); y se marca más en fermentaciones miceliales en donde el micelio disperso tiene viscosidades aparentes (μ_a) (la viscosidad aparente es: el cociente entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación ver Apéndice B), más altas que los gránulos, mientras que los micelios largos tienen viscosidades aparente más grande que los cortos.

El índice de consistencia de flujo (m) se incrementa también con la concentración celular y mantiene este comportamiento conforme la morfología del micelio cambia a partir de pellets (Roels, 1974; Tako, 1987, 1984). En este caso el índice de comportamiento de flujo (n) se reporta que permanece constante conforme se incrementa la concertación celular y disminuir conforme la morfología tiende a dispersar el micelio a partir de estos gránulos (Medrano, 1992).

4.2.7 Relación de la agitación y la viscosidad en cultivos miceliales

En un fluido NO Newtonianos (no hay proporcionalidad entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación), el cual está altamente relacionado con el comportamiento de los cultivos miceliales.

Un microorganismo unicelular origina normalmente un caldo con una viscosidad relativamente baja que apenas se ve afectada por el nivel de agitación (es un fluido newtoniano). Sin embargo, un microorganismo de estructura miceliar origina, con frecuencia, un caldo con una gran viscosidad que varía con el grado de agitación (no es un fluido newtoniano).

El grado de agitación en el fermentador es diferente en las distintas partes del medio (es mayor en las regiones cercanas al agitador y más bajo en las zonas distantes del agitador). Mientras tanto, el caldo en la región, donde se desarrollan condiciones, más anaerobias en las zonas más viscosas. Es importante, por ello el régimen de agitación durante la fermentación proporcione una buena transferencia de oxígeno y una zona de gran turbulencia pero que esa turbulencia se transmita también a través del caldo (Trevan *et al.*, 1990).

Una solución de este problema consiste en utilizar dos tipos diferentes de agitación en el sistema: uno diseñado para producir una zona de gran turbulencia y el otro mediante la instalación de un sistema de bombeo del caldo. Por ejemplo LeGrys y Solomon, (1977) diseñaron un fermentador con una turbina discal en el fondo y una hélice impulsora en la parte superior; la turbina origina la turbulencia mientras que la hélice proporciona un gran flujo, el volumen del tanque se removía cada 20 - 30 segundos. Y el micelio circulaba a través de la zona de aireación del tanque antes que se agotara el oxígeno.

4.2.8 Morfología miceliar en medios cultivo líquidos

Las características físicas que presentan los cultivos miceliales son diferentes a los obtenidos por otros cultivos microbianos (bacterias o levaduras) debido principalmente a la gran diversidad morfológica y fisiológica que desarrollan durante su crecimiento. En un cultivo sumergido, los hongos presentan dos tipos de morfología extrema: pellets o agregados de hifas compactos semiesféricos y micelio disperso o filamentoso (Rocha, 1999). La morfología miceliar más conveniente, operacionalmente es el pellet, pues en cultivos fúngicos donde estos predominan se observan caldos con características newtonianas de baja viscosidad, donde las limitaciones difusionales hacia el centro del pellet representan la restricción principal de crecimiento.

Así la productividad de la mayoría de los pellets es inversamente proporcional a su tamaño (Wittler *et al.*, 1986). Sin embargo, la mayoría de los procesos fermentativos miceliares crece en forma filamentosa (Olsvik y Kristiansen, 1994), provocan la formación de caldos altamente viscosos y no newtonianos, donde la transferencia de masa y la homogeneidad se ven drásticamente limitadas conforme avanza el proceso.

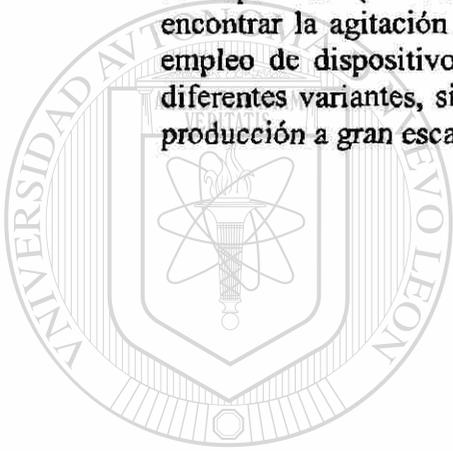
Los caldos de fermentación son generalmente suspensiones heterogéneas de microorganismos, componentes del medio y diversos metabolitos y/o productos dispersos en un medio de cultivo. A diferencia de otros caldos, las propiedades reológicas de los cultivos filamentosos cambian en función del tiempo de fermentación debido principalmente al incremento de la masa celular, a los cambios morfológicos de las hifas y a las interacciones entre estas (Roels *et al.*, 1974; Olskin y Kristians, 1994).

Diversos estudios señalan que la reología de las suspensiones miceliales, al igual que la productividad, depende de numerosos parámetros intrínsecos del microorganismo tales como: la forma, el tamaño, la masa, la concentración, la flexibilidad y la composición de la pared celular de las hifas (Metz *et al.*, 1979; Olsvik *et al.*, 1993). De igual manera, múltiples reportes corroboran que estos parámetros pueden ser alterados mediante cambios en el volumen de operación, la concentración de oxígeno disuelto, la velocidad de agitación y el tipo de impulsor, entre otros (Justen *et al.*, 1996; Cui *et al.*, 1998). Por ello, las condiciones de operación ejercen un fuerte impacto sobre la morfología y las interacciones hifa-hifa y sobre las propiedades reológicas de los cultivos.

Dado que las características morfológicas del micelio influyen notablemente sobre las propiedades reológicas del medio (Kristiansen y Olsvik, 1993); existe una marcada interdependencia entre la morfología y el funcionamiento de un biorreactor (Van Suidam y Dusseljee, 1987; Thomas, 1993).

Así, la reología de los caldos influye notablemente en el desempeño de un fermentador, principalmente en sus características de mezclado y de transferencia de masa y calor (Justen *et al.*, 1997); Las cuales mediante un efecto retroalimentado, afectan directamente al crecimiento, la morfología, la reología y la formación del producto (Makagianser *et al.*, 1993; Bujalski *et al.*, 1997).

Flores *et al.*, 1997 demostró que la agitación provoca cambios en la morfología y en la productividad de procesos de fermentación sumergida de cultivos miceliales. El incremento en la velocidad de agitación casi nunca mejora el crecimiento y/o la velocidad de biosíntesis del producto. En (1989) Humphreys menciona que *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. farinosus* crecieron en cultivos líquidos sumergidos sobre glucosa y polietileno glicol (PEG); la glucosa inicial del medio, afectó la morfología, biomasa y la producción de blastosporas dentro del cultivo de los vasos bafleados, ocurrió el crecimiento del pellet, el cual es una formación similar a la de un micelio. Cuando se producen hongos filamentosos en cultivos líquidos, para cualquier propósito; la formación del pellet se hará presente. Siempre y cuando las condiciones operacionales como la agitación sea alta se formaran (pellets), debido al estado morfológico del micelio, por ejemplo: la agregación de la conidia aerial empleada como inóculo y cuando esta germina, el micelio crece partiendo del centro. En este momento deberá aparecer la habilidad del operador (Investigador) al manipular las funciones del biorreactor, desde encontrar la agitación efectiva para una buena distribución del microorganismo, el empleo de dispositivos adecuados para evitar la formación de espuma, así como diferentes variantes, sin olvidar medios de cultivo económicos y factibles para una producción a gran escala.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.3 *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring)

4.3.1 Ubicación Taxonómica

La taxonomía de la mosquita blanca de hoja plateada según Borrer *et al.*, (1989), es la siguiente:

Reino: Animal

Phyllum: Arthropoda

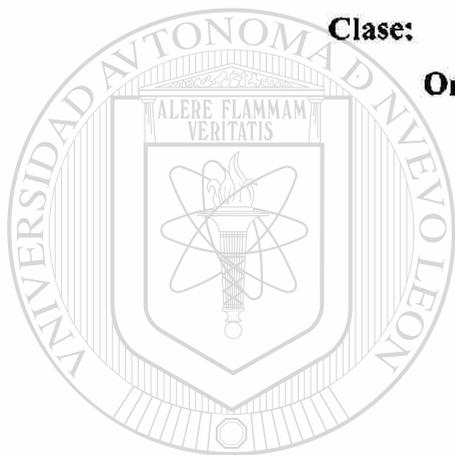
Clase: Insecta

Orden: Homoptera

Familia: Aleyrodidae

Género: *Bemisia*

Especie: *argentifolii*



U A N L

4.3.2 Morfología y Ciclo Biológico

En general, la mosquita blanca se alimenta de la savia del floema, principal fluido nutricional transportado por las plantas. Esto lo hacen insertando su parte bucal dentro del tejido de la planta, succionando el tejido vascular. Perforando la pared de un vaso del floema, estas obtienen el acceso a una fuente de alimento rica en carbohidratos y aminoácidos. Una bomba muscular en la cabeza de la ninfa y adulto, y el conjunto de presión turgente de la planta, se usa para ingerir el alimento (Osborne y Landa, 1992).

Los machos y hembras frecuentemente emergen cerca de sí sobre la misma hoja y en la mosquita blanca de la remolacha el apareamiento se presenta en los primeros días de la vida adulta. El apareamiento es precedido por el cortejo complejo, el cual si es exitoso, conduce a una copulación de entre 2 y 4 minutos. Múltiples acoplamientos se presentan tanto en mosquita blanca del camote y la mosquita blanca del invernadero. Las hembras apareadas producen tanto hembras y machos, mientras que las hembras sin aparearse producen únicamente hembras (Liu y Standly, 1998).

La oviposición varía entre las especies de mosquitas y también difieren cuando la misma especie deposita huevecillos sobre hojas con diferentes características superficiales. Esta se presenta de 1 a 8 días de manera individual, espiral o circular sobre la parte inferior de la hoja y puede depositar arriba de 500 huevos en un ciclo vital (Gill, 1990; McAuslane, 1996; Liu y Standly, 1998). La longitud del ciclo de vida depende de la temperatura, la cual se encuentra en un rango de 4 semanas a 27 °C o de 8 semanas a 14 °C.

Los daños causados por los adultos y larvas, debido a la succión de la savia en las hojas, pueden causar atrofas, caída de hojas y reducción en la producción. Además al alimentarse depositan una mielecilla sobre la fruta, se hace pegajosa y aparece el crecimiento del moho negro (*Capnodium* spp) que hace a la fruta poco comerciable.

La hembra coloca los huevecillos sobre el envés de las hojas nuevas, su tamaño es pequeño (0.25 mm de diámetro), de forma oval o piramidal. Después de 1 o 2 días, los huevecillos cambian de color verde amarillento a café (Figura 4), la larva emerge después de 7 días. Los huevecillos tienen un pedicelo parecido a una clavija que se ensarta dentro de una hendidura hecha por el ovipositor de la hembra en la superficie de la hoja; alternatively, los huevecillos pueden ser depositados directamente dentro de las aperturas estomáticas. Una sustancia parecida a goma es depositada en la base del pedicelo, así son pegados los huevecillos. El pedicelo vierte agua dentro del huevecillo, evita así la desecación después de la oviposición (Tsai y Wang, 1996; Liu y Standly, 1998).



Figura 4. Huevecillo de *B. argentifolii*

Las **ninfas** son transparentes de 0.3 - 0.7 mm en tamaño, móvil al inicio, sin embargo se vuelven inmóviles después de las primeras horas, tiempo donde estas comienzan a alimentarse. Las ninfas son de forma oval y depositan demasiada cera en esta etapa. Comprende tres etapas ninfales y cada una tiene una duración de 2 a 4 días. La primera etapa ninfal, es la que sale del huevo y se arrastra a una distancia corta sobre la superficie de la hoja hasta encontrar un sitio adecuado donde se fija y comienza a alimentarse. Esta etapa es oval con patas bien desarrolladas y antenas, con un color verde pálido. La segunda y tercera etapa ninfal es aplanada de forma parecida a escamas y generalmente transparentes con patas y antenas no funcionales (Figura 5). Del segundo hasta el cuarto estado ninfal son sedentarios durante el periodo de desarrollo (Salas y Mendoza, 1995; Tsai y Wang, 1996; Pacheco y Pacheco, 1998).

Primer Instar Segundo Instar Tercer Instar



Figura 5. Etapas ninfales de *B. argentifolii*

La cuarta etapa ninfal es considerada como **pupa**, los ojos del adulto en crecimiento son visibles (Figura 6). La pupa es gris, rodeada por mucha cera y mielecilla. Es subdividido en tres etapas: La cuarta etapa temprana es aplanada y translúcida a blanco opaco; cuarta etapa transitoria, excepto que los ojos rojos del adulto en desarrollo son claramente visibles y el cuerpo llega a ser amarillo semejante al adulto (Tsai y Wang, 1996; Pacheco y Pacheco, 1998).



Figura 6. Ultima etapa ninfal de *B. argentifolii*

La mayoría de los **adultos** emergen de una hendidura en el exoesqueleto de la pupa en las primeras horas de la mañana (Figura 7), este proceso comienza primero a temperaturas altas y se detiene completamente debajo de 17 °C. Esto toma cerca de 4 horas a 27 °C en la mosquita blanca de la remolacha para estar preparada para volar, aunque en la mosquita de la col este periodo es mucho más largo (16-56 h a 10-25°C) (Pacheco y Pacheco, 1998; Liu y Standly, 1998).



Figura 7. Adulto de *B. argentifolii*

4.3.3 Daños

La mosquita blanca es una plaga importante que causa daño en muchos cultivos. Puede causar 4 tipos de daños: 1) Directo 2) Inyección de toxinas 3) Indirecto 4) Transmisión de virus (De Quattro *et al.*, 1997; Pacheco y Pacheco, 1998).

El **daño directo** es causado por penetración al alimentarse; y el **primer daño** es causado por **succión de la savia** del follaje de las plantas, lo cual presenta debilitamiento y marchitamiento prematuro de la planta y reduce la velocidad de crecimiento y rendimiento de la planta. También puede causar clorosis, debilitamiento, caída prematura de las hojas y muerte de la planta. Infestaciones de ninfas de mosquita blanca están asociadas con la aparición de maduración irregular del tomate y calabaza (De Quattro *et al.*, 1997).

El **segundo tipo**, es causado principalmente por *B. argentifolii* mediante **inyección de toxinas** durante el proceso de alimentación de las ninfas, donde presenta síndrome de la hoja plateada en calabaza, la maduración irregular del tomate, la palidez del tallo del brócoli y el amarillamiento del follaje de la lechuga (Pacheco y Pacheco, 1998).

El **daño indirecto** resulta de la **Excreción de mielecilla** producida por las mosquitas, sobre la cual se desarrollan hongos de color negro conocidos comúnmente como fumagina (*Cladosporium* sp.) sobre la hoja y frutos.

El hongo reduce la fotosíntesis y pérdida del valor comercial de la planta y/o rendimientos sin valor comercial. En las plantas de algodón, la mielecilla contamina la fibra volviéndola pegajosa, lo cual dificulta el proceso de hilado, baja la calidad del producto final y aumenta el desgaste de la maquinaria. Los frutos y hortalizas contaminados con mielecilla tienen que ser lavados para su comercialización, incrementan los costos de producción (Pacheco y Pacheco, 1998).

El **cuarto tipo** es causado por la **transmisión de virus** de plantas por este insecto. Una pequeña población de mosquita blanca es suficiente para causar daños considerables. Los virus de las plantas transmitidos por mosquita blanca causan cerca de 40 enfermedades en vegetales y plantas fibrosas del mundo, solamente tres son conocidos como vectores de virus de plantas (Tabla III). Partículas virales son transportadas en la saliva de la mosquita, si ésta se alimenta sobre una planta infectada, cuando el insecto se mueve a plantas sanas en el mismo cultivo o se transporta a varios kilómetros de distancia es cuando comienzan los problemas de transmisión de virus (Damsteegt, 1999).

La mosquita blanca del camote (*B. tabaci*) y la mosquita blanca de la hoja plateada (*B. argentifolii*) transmiten más de 30 diferentes agentes causales de enfermedades virales, tales como el geminivirus y closterovirus en el ámbito mundial. En México, los geminivirus se encuentran en todas las regiones hortícolas, afectando a los cultivos de chile, tomate, tabaco, calabaza y tomatillo (Pacheco y Pacheco, 1998; Stevens III *et al.*, 2000).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla III. Enfermedades y virus de plantas transmitidos por *Bemisia* spp.

| Enfermedad | Huésped principal | Vector | Pérdida potencial |
|--|-------------------|------------------------|---|
| Trastorno amarillento de crecimiento por Crinivirus | Pepino | <i>B. argentifolii</i> | Alta |
| Infección amarillenta de la lechuga por Crinivirus | Lechuga | <i>B. tabaci</i> | Serias pérdidas económicas en epidemias |
| Rizado amarillento de la hoja del tomate por Geminivirus | Tomate | <i>Bemisia</i> spp. | Severa |
| Arrugamiento de la hoja del algodón | Algodón | <i>Bemisia</i> spp. | Severa |
| Clorosis de la lechuga por Crinivirus | Lechuga | <i>B. argentifolii</i> | — |
| Trastorno clorótico de la remolacha por Crinivirus | Remolacha | <i>B. tabaci</i> | — |

4.3.4 Distribución e Importancia Económica

La S. A. R. H. (1991) reportó altas poblaciones de mosquita blanca en el Valle Imperial del estado de California en los Estados Unidos de América y en el Valle de Mexicali en Baja California, México, durante el ciclo de 1991. En el bajo se ha encontrado en los cultivo de jitomate, chile, frijol y coliflor; en Veracruz se observa en calabaza, calabacita, melón, sandía, pepino, espinaca, acelga y frijol ejotero. En regiones como Baja California Sur, Valle del Yanqui, Costa de Hermosillo, Sonora, Apatzingan, Michoacán, Tapachula Chiapas, Sur de Tamaulipas y parte de Durango y Coahuila, es común encontrar otras especies como *B. tabaci*, *T. vaporariorum*, *B. argentifolii*, en algodón y hortalizas. En México provocó pérdidas de más de 100 millones de pesos en 1992 afectando cultivos de melón, algodón y Sandía (León *et al.*, 1996). En los E.U. la mosquita blanca y sus virus transmitidos han causado pérdidas desde 1990. En 1991, pérdidas directas estimadas de 23.8, 24 y 29 m.d.d. en plantas ornamentales, algodón y hortalizas en el sur de Texas. En California en el mismo año pérdidas de 137 m.d.d. en cultivos (Norman *et al.*, 1997).

Para 1995 el insecto se constituyó un problema fitosanitario en la comarca lagunera, causando pérdidas en producción del 40 al 100 % en cultivos hortícola y un incremento en el número de aplicaciones de insecticidas en melón, calabaza (*cucúrbita pepo* L.), tomate (*Licopersion esculentun* Mill), y algodón (Nava C. y Cano P.1998 (b)).

4.3.5 Principales Plantas Hospedantes de MBHP en la Comarca Lagunera

En la comarca lagunera se han identificado 108 especies de plantas hospederas de *B. argentifolii*. Los principales cultivos hospedantes son: *Brassica oleracea* L. vars. *botritis* y *capitata*, *Cucumis melo* L., *Cucumis sativus* L., *Cucúrbita pepo* L., *Citrullus lanatus* (Thunb) y *Gossypium hirsutum* L. También se encuentran 10 malezas con alta infestación de MBHP, sin embargo las más importantes por su mayor distribución en los campos de cultivo son: *Convolvulus arvensis* L., *Flaveria trinervi* (Spreng.) Mohr, *Ipomoea* spp, *Solanum eleagnifolium* Cav. y *Xanthium strumarium* L. En plantas hospedantes en las zonas urbanas el 38.7 % presenta niveles de mediana a alta infestación de MBHP. Las especies con mayor infestación son: *Acacia berlandieri* Benth., *Acalypha wilkesiana* Muell., *Althaea rosea* Cav., *Bahinia divaricata* L., *Camellia japonica* L., *Sedum* spp, *Ipomoea* spp. *Jasminum* spp, *Lantana camara* L y *Oenothera* spp (Cano-Ríos *et al.*, 2001).

4.3.6 Manejo Integrado

Un programa de manejo integrado contra cualquier plaga en una región debe constituirse por “herramientas” para la toma de decisiones de control y diferentes tácticas o componentes de control. El uso de métodos de muestreo eficientes para estimar la densidad de la plaga y los umbrales económicos (densidad de la plaga arriba de la cual se causa daño económico) Son las herramientas que permiten tomar una buena decisión de control. El muestreo de los adultos de mosquita blanca se puede llevar a cabo mediante la inspección visual en el envés de las hojas, realizándolo temprano por la mañana, cuando la actividad de vuelo es mínima. Investigaciones determinaron que los adultos y huevecillos de *B. tabaci* son más abundantes en hojas terminales hasta la cuarta hoja (a partir del ápice de la guía).

Palumbro *et al.*, (1994), formularon un plan de muestreo bionomial para recomendar medidas de control, el cual consiste en muestrear 200 hojas terminales (a partir del 4° nudo) por predio se toman 50 hojas por cuadrante (Nava U. y Cano P. (c) 2000). Se recomiendan medidas de control cuando se encuentra un 65 % o más de hojas infestadas con 1 o más adultas. Este porcentaje de hojas infestadas está basado en un umbral económico de 3 adultos por hoja. Nava U. y Cano P. (c) (2000), determinaron como umbral económico 2.4 adultos por hoja (muestreada del quinto nudo de la guía) en melón bajo condiciones de la comarca lagunera.

Entre las tácticas de control destacan los tipos de control a) cultural, b) biológico, c) químico d) físico y e) resistencia vegetal (Nava *et al.*, 1998(a)).

a) **Control cultural.** Las medidas de control cultural comprenden el ajuste de las fechas de siembra, cosecha, destrucción de residuos, restricción de la siembra de hospedantes susceptibles, uso de barreras físicas (cubiertas reflejantes y rebotantes) y selección de variedades precoces. La eliminación de maleza hospedante de la MBHP es otra práctica recomendada para el manejo de la plaga (Pacheco, 1997).

b) **Control biológico.** Este se lleva a cabo mediante parasitoides, depredadores y entomopatógenos.

- **Parasitoides.** En la comarca lagunera existen parásitos nativos como *Encarsia pergandiella*, *Eretmocerus tejanus* y *E. luteola* (Aphelinidae), con niveles de parasitismo natural de 0 a 7.4 % en la Comarca Lagunera (Hernández *et al.*, 1996).

Encarsia formosa y *Eretmocerus mundis* (Figura 8) actúan de la siguiente manera, introducen sus huevecillos en el cuerpo de las mosquitas ninfas, de modo que a pocos días de haber sido parasitadas las ninfas se ennegrecen y mueren. Un mes después de que la avispa pone su huevecillo, emerge del cuerpo de la ninfa una nueva avispa. Sin embargo cuando la avispa se alimenta de néctar y mielecilla de las flores.

- **Depredadores.** Además de los parasitoides en la Comarca Lagunera existen depredadores como *Chrysoperla carnea* (cuyos inmaduros también son conocidos como “leones de los áfidos” tienen las mandíbulas bien desarrolladas, que usan para sujetar huevecillos y ninfas de la avispa blanca, extrayendo sus fluidos (Ortega, 1997). *C. rufilabris*, *Delphastus pusillus*, *D. mexicanus* y *Hippodamia convergens*.

- **Entomopatógenos.** También existen algunos hongos entomopatógenos efectivos como *B. bassiana*, *P. fumosoroseus*, *P. farinosus*, *V. lecanii*, *M. anisopliae* y *Aschersonia aleyrodalis* (Hernández *et al.*, 1996).

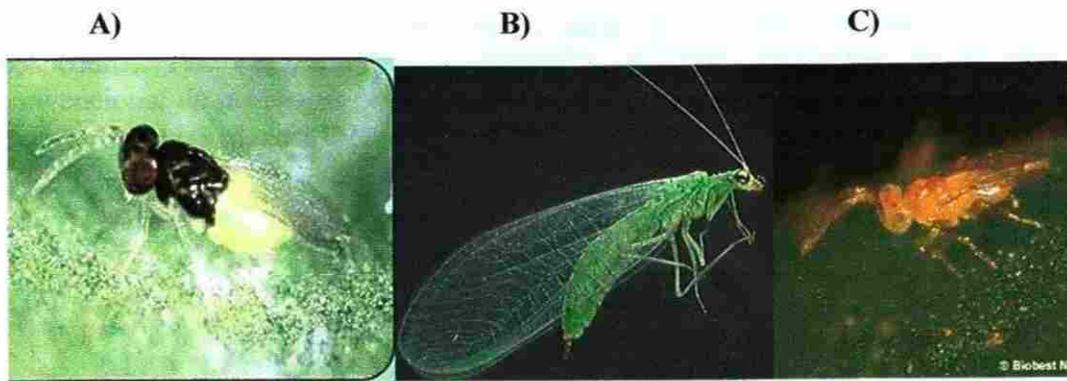


Figura 8. Enemigos naturales de la mosquita blanca, A) *Encarsia formosa* B) *Chrysoperla carnea* C) *Eretmocerus mundis*

c) **Control químico.** Algunos de los insecticidas recomendados contra la MBHP en la región de la Comarca Lagunera son: Acetamiprid 20 PS, Azadiractina CE 03, Imidacloprid SC 30, Fenopropatrín + acefate y Endosulfan CE 35 (Figura 9) (Ramírez, 1996).

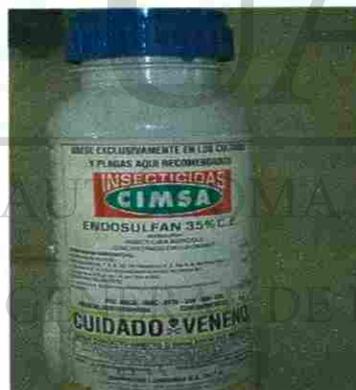


Figura 9. Insecticida químico Endosulfan

d) **Control físico.** La mosquita blanca puede ser monitoreada con trampas amarillas con pegamento (Figura 10), trampas de luz y de agua etc.

Es una táctica que abate buena parte de la población en los cultivos hospederos. Por desgracia estas actividades no están arraigadas en el manejo convencional de las plagas de nuestro país a pesar de ser una buena alternativa en el monitoreo de las plagas (Vázquez y García, 2001).



Figura 10. Trampa amarilla para monitoreo de la plaga

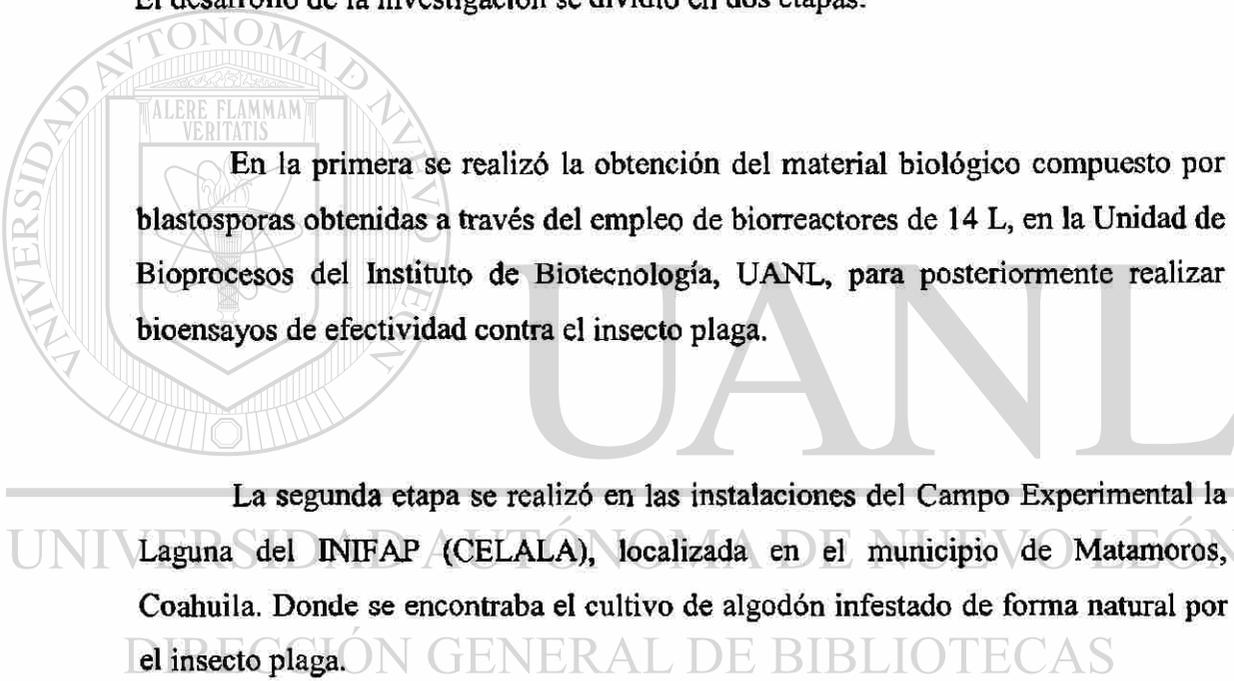
e) **Resistencia vegetal.** El uso de variedades resistentes es un método apropiado para reducir el daño directo e indirecto causado por los virus transmitidos por MBHP. Actualmente existen variedades resistentes a virus. Por ejemplo: en melón la variedad “Cruiser”, “Primo” y “Hymark” toleran infestaciones de mosquita blanca y sufren menos daño que la variedad “Perlita” (Norman *et al.*, 1997).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de la investigación se dividió en dos etapas:



En la primera se realizó la obtención del material biológico compuesto por blastosporas obtenidas a través del empleo de biorreactores de 14 L, en la Unidad de Bioprocesos del Instituto de Biotecnología, UANL, para posteriormente realizar bioensayos de efectividad contra el insecto plaga.

La segunda etapa se realizó en las instalaciones del Campo Experimental la Laguna del INIFAP (CELALA), localizada en el municipio de Matamoros, Coahuila. Donde se encontraba el cultivo de algodón infestado de forma natural por el insecto plaga.

5.1 Conservación y Obtención del material biológico

5.1.1. Origen de la Cepa:

En el presente estudio se utilizó el hongo entomopatógeno *P. fumosoroseus* clave Pfr-612, aislado de la mosquita blanca (*B. argentifolii*) en Weslaco, Texas, EUA. El microorganismo fue proporcionado de la Colección de Hongos Entomopatógenos del Departamento de Agricultura de los EUA (USDA-ARS), con sede en Peoria, Illinois, USA. Esta cepa se conserva en viales criogénicos conteniendo glicerol al 10 %; para preservar la cepa, se tomaron 100 μ L del vial y se sembraron por extensión en agar papa dextrosa (PDA) y luego se incubaron a temperatura ambiente durante 2 semanas. Posteriormente de este cultivo se realizaron cortes de 1 mm², se depositaron en glicerol al 10 % y se almacenaron a -80 °C, donde se conservaron hasta que fueron requeridos.

5.1.2. Medios de Cultivo:

Se utilizaron dos medios de cultivo líquido con la misma fuente y concentración de carbono y diferentes fuentes de Nitrógeno. El medio de cultivo basado en casaaminoácidos (Probiotek, San Nicolás de los Garza, N.L. México) y glucosa (Probiotek, San Nicolás de los Garza, N.L. México) patentado y descrito por Jackson *et al.*, 1997.

El otro medio de cultivo utilizado fue desarrollado por Rivas-Morales C., patente en trámite número de registro 9810892 en (1998), el cual contiene peptona de colágeno (Sensient, Jalisco México), extracto de levadura (Sensient, Jalisco México), glucosa (Probiotek, San Nicolás de los Garza, N.L. México).

5.1.3. Preparación del pre-inoculo:

Para obtener una concentración de 5×10^5 conidias/mL; se le adicionaron 5.0 mL de agua destilada estéril (para remover las conidias del micelio) a una placa de PDA que contenía la cepa y esta suspensión se transfirió de 3.0 a 5.0 mL al frasco de dilución que contenía agua bidestilada, después se contaron las conidias en un hemocitometro hasta obtener un promedio de 50 conidias entre los cuatro cuadrantes, equivalentes a 5×10^5 conidias/mL. Posteriormente se deposito 10 % (v/v) de la suspensión a matraces Erlenmeyer bafleados de 500 mL de capacidad con 100 mL del medio Jackson *et al.*, (1997), pero con 1.5 % de casaaminoácidos totales. Se incubaron en agitación a 300 r.p.m a 28 °C por 72 h.

5.1.4. Preparación de los medios de cultivo:

Para los experimentos se pesaron y se disolvieron por separado todos los componentes de los medios probados. Se les agregó agua biodestilada hasta completar 5 L. Se ajustó el pH a 5.5 en ambos medios con una solución de NaOH 2 N.

Estos medios fueron colocados posteriormente en los vasos de fermentación, los cuales se prepararon y sellaron para su posterior esterilización en una autoclave vertical, a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.

5.1.5 Condiciones de Propagación:

Se trabajó a una agitación de 520 r.p.m con una aireación de 1.0 vvm a una temperatura de 28 °C y se controló el pH a 5.5 durante el proceso de fermentación. El cual fue ajustado con H₃PO₄ 2N y NaOH 2N. Para el control de la espuma se adicionó el Antiespumante Tipo "A" (Dow Corning Prod., USA) durante la fermentación, además de un cintillo de plástico, colocado en la flecha de agitación el cual sirvió como una barrera física.

5.1.6. Fermentador utilizado:

Marca New Brunswick Scientific Co. Inc. modelo MF-114 de un volumen nominal de 14 litros con un diámetro de tanque (D_t) igual a 0.21 m, con un impulsor tipo Rushton de 6 paletas de 7 cm de diámetro, (1/3 D_t) equipado con un analizador de oxígeno disuelto (O₂D) Ingold modelo 170, analizador y controlador de pH modelo 2300 con electrodos marca Ingold, el volumen de trabajo empleado fue de 5 litros, (h/D_t igual a 0.8 cm).

5.1.7. Inoculación del Fermentador:

Primero, se estabilizaron las condiciones de operación de pH, aireación y temperatura en el módulo de fermentación.

Segundo, del pre-inoculo mencionado anteriormente, se transfirió en condiciones estériles al fermentador de trabajo, con una parte de blastosporas que correspondían a 5 x 10⁶ blastosporas/mL, y ajustado según el total de las blastosporas alcanzadas en el pre-inoculo.

5.1.8. Producción de blastosporas en el Fermentador:

Durante la fermentación se monitorio y se tomaron muestras de 5 mL cada 12 horas durante un periodo de tiempo total de 72 h, duración de la fermentación, conservando la esterilidad durante la fermentación, por lo que se utilizo la presencia de flama para la toma de cada muestra, donde se determinaron los siguientes parámetros: cuenta de blastosporas, peso seco y consumo de azúcares. Además de datos imposibles de determinar a nivel matraz, como k_{La} .

5.1.9. Cuantificación de blastosporas:

De los fermentadores inoculados inicialmente sé tomo una muestra de 5 mL (del caldo de fermentación) de la cual se tomo un 1.0 mL de cada fermentador y se adicionó a 9.0 mL de agua destilada estéril contenida en un tubo de ensaye para posteriormente ser contadas las blastosporas en la cámara de Neubauer, y se observaron a 40x en un microscopio de contraste de fases (Rossbach Modelo LSC-BLH) se tomaron muestras cada 12 h conforme avanza la cinética en el fermentador, durante toda la fermentación. Los resultados fueron reportados en blastosporas/mL. El diseño experimental se muestra en la Tabla IV.

5.1.10. Determinación de Peso seco:

Se tomo 1.0 mL de las muestras obtenidas, se pasaron a través de una membrana de filtración con una bomba de vacío utilizando papel whatman N° 1, previamente secados y pesados.

La biomasa recuperada se lavó con agua destilada y se seco a 100 °C en una estufa MAPSA Modelo HDP-334 durante 24 horas, posteriormente se calculo el peso, el cual se expreso en gramos/litros. El diseño experimental se muestra en la Tabla IV.

$$\text{Peso de la muestra} = \text{Peso muestra filtrada} - \text{Peso papel filtro}$$

$$g / mL = \frac{\text{Peso de la muestra}}{\text{mL de muestra (medio de cultivo)}}$$

$$g / mL = (\text{gramos/mL}) \times 1000$$

5.1.11. Determinación de azúcares:

Las muestras obtenidas anteriormente fueron almacenadas en refrigeración para posteriormente se analizaron las muestras y fueron centrifugadas a 400 r.p.m/5min en el sobrenadante se cuantifico azúcares reductores por el método ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) y se realizaron las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. El diseño experimental se muestra en la Tabla IV.

5.1.12. Recuperación de las blastosporas:

Este paso se realiza al final de la fermentación. Y se utilizo el método de secado por aire y consistió en lo siguiente: el medio de fermentación de cada uno de los diferentes medios de cultivo probados se pasó a través de una malla (Gasa esterilizada) en dos ocasiones, con la finalidad de eliminar el micelio restante. Después el sobrenadante recuperado se mezcló con tierra de diatomeas al 5 % (w/v) y se filtro al vacío sobre papel whatman No. 1.

El filtrado se dejó secar toda la noche a temperatura ambiente controlado a 60% de humedad relativa, se recupero la pasta del filtrado y se pulverizo con ayuda de un mortero. El extracto recuperado fue empacado en bolsas de plástico selladas al vacío (Empacadora de vacío, Marca Webomatic) y almacenadas a 4 °C. Donde posteriormente se realizó la prueba de viabilidad, y se determinó la sobrevivencia de las blastosporas obtenidas de los dos medios de cultivo probados.

5.1.13. Determinación del porcentaje de germinación (Viabilidad):

Del extracto recuperado se tomo una pequeña muestra y se le adiciono a 50 mL de caldo extracto de papa contenidos en un matraz bafleado de 250 mL y estuvo en incubación con agitación tangencial a 300 r.p.m durante 6 horas. Al finalizar el periodo de incubación, se realizó un fresco directo del cultivo y se cuentan 100 esporas (germinadas y no germinadas) y se determina el porcentaje de germinación. El diseño experimental se muestra en la Tabla V.

5.1.14. Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{LA}):

Se determinó por el método Dinámico (Taguchi y Humphery, 1966); se denomina dinámico porque se lleva a cabo en sistemas donde se esta efectuando una fermentación. En este método se grafica la concentración de oxígeno disuelto vs. tiempos, la aireación es cortada y la agitación reducida al mínimo en el fermentador durante el proceso, en donde el valor de k_{LA} se vuelve cero (Taguchi y Humphery, 1966; Linek y Sinkule, 1991).

Se realizó cada 24 h y 36 h durante el transcurso de los experimentos. (Ver cálculos y formulas en los apéndices C, D, E, F, G y H)

5.1.15. Formulación de los productos obtenidos:

Del producto recuperado se realizó la separación del producto final en dos partes de blastosporas obtenidas en las fermentaciones. Donde una parte de ambos medios de cultivo se separaron para una preparación en solución líquida (Caldo fermentativo) la cual no contenía ningún soporte para proporcionar sobrevivencia al producto. El resto de las blastosporas obtenidas en los dos medios de cultivo se preparo para dar un producto sólido (polvo), por ello se agrego una cantidad de tierra de diatomeas, proporcional a la cantidad final de blastosporas.

5.1.16. Análisis Estadísticos:

Se determinó la diferencia significativa con el sistema SPSS versión 10, de todas las variables. El criterio para aceptar las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, fue para valores Student's t -test, calculados con $p \leq 0.05$. Las variables determinadas de los dos tratamientos fueron analizadas por triplicado, de las muestras tomadas cada 12 h durante del proceso de propagación y son las siguientes: producción de blastosporas, determinación de peso seco, consumo de azúcares y determinación de viabilidad con soporte y viabilidad sin formular.

Tabla IV. Diseño experimental para la determinación de los siguientes parámetros: cuenta de blastosporas, peso seco y consumo de azúcares (A1 medio C. Rivas, A2 medio M. Jackson, R número de repeticiones y B tiempo de muestreo) Diseño factorial (2* 3) con 42 tratamientos.

| TIEMPO | A1 | | | A2 | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 0 | A1B1R1 | A1B1R2 | A1B1R3 | A2B1R1 | A2B1R2 | A2B1R3 |
| 12 | A1B2R1 | A1B2R2 | A1B2R3 | A2B2R1 | A2B2R2 | A2B2R3 |
| 24 | A1B3R1 | A1B3R2 | A1B3R3 | A2B3R1 | A2B3R2 | A2B3R3 |
| 36 | A1B4R1 | A1B4R2 | A1B4R3 | A2B4R1 | A2B4R2 | A2B4R3 |
| 42 | A1B5R1 | A1B5R2 | A1B5R3 | A2B5R1 | A2B5R2 | A2B5R3 |
| 60 | A1B6R1 | A1B6R2 | A1B6R3 | A2B6R1 | A2B6R2 | A2B6R3 |
| 72 | A1B7R1 | A1B7R2 | A1B7R3 | A2B7R1 | A2B7R2 | A2B7R3 |

*Tiempo en horas

Tabla V. Diseño experimental para la determinación de los siguientes parámetros: viabilidad con soporte y viabilidad sin formular. (A1 medio C. Rivas, A2 medio M. Jackson, R número de repeticiones y B tiempo de muestreo) Diseño factorial (2* 3) con 54 tratamientos.

| TIEMPO * | A1 | | | A2 | | |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 0 | A1B1R1 | A1B1R2 | A1B1R3 | A2B1R1 | A2B1R2 | A2B1R3 |
| 7 | A1B2R1 | A1B2R2 | A1B2R3 | A2B2R1 | A2B2R2 | A2B2R3 |
| 14 | A1B3R1 | A1B3R2 | A1B3R3 | A2B3R1 | A2B3R2 | A2B3R3 |
| 21 | A1B4R1 | A1B4R2 | A1B4R3 | A2B4R1 | A2B4R2 | A2B4R3 |
| 28 | A1B5R1 | A1B5R2 | A1B5R3 | A2B5R1 | A2B5R2 | A2B5R3 |
| 60 | A1B6R1 | A1B6R2 | A1B6R3 | A2B6R1 | A2B6R2 | A2B6R3 |
| 90 | A1B7R1 | A1B7R2 | A1B7R3 | A2B7R1 | A2B7R2 | A2B7R3 |
| 120 | A1B8R1 | A1B8R1 | A1B8R1 | A1B8R1 | A1B8R1 | A1B8R1 |
| 150 | A1B9R1 | A1B9R1 | A1B9R1 | A1B9R1 | A1B9R1 | A1B9R1 |

*Tiempo en días

5.2 Evaluación de efectividad en campo

5.2.1. Ubicación del Experimento:

Se llevo a cabo en terrenos del Campo Experimental la Laguna del INIFAP (CELALA), el cual se encuentra localizado en el municipio de Matamoros, Coahuila, en el Km. 17 de la carretera Torreón – Saltillo. La Comarca Lagunera se encuentra ubicada al suroeste del estado de Coahuila y al noroeste del estado de Durango, localizándose entre los meridianos 102 y 104 longitud oeste del meridiano de Greenwich y los paralelos 25° y 27° de latitud norte, tiene además, una altura promedio de 1,120 metros sobre el nivel del mar. El clima de esta región en verano va desde semi-cálido a cálido- seco y en invierno desde semi-frío a frío, mientras que el periodo de lluvias abarca de mediados de junio a mediados de octubre (Santibáñez, 1992).

5.2.2. Manejo Agronómico del Cultivo:

Se utilizo una variedad convencional de algodón (DP 5415), la parcela consto de cuatro surcos separados a 0.76m por 10 de largo (30.4m²), densidad de nueve plantas / metro lineal. El sistema de riego fue por gravedad. La siembra se realizo el 20 de abril y las aplicaciones se efectuaron a los 150 días después de la siembra del cultivo.

5.2.3. Tratamientos:

Se emplearon tres dosis diferentes (Baja, Media y Alta) (ver Apéndice N), las cuales fueron determinadas basándose en la concentración de conidias/ha que reportaba el testigo biológico comercial, elaborado también con el hongo *P. fumosoroseus*. Estas dosis fueron preparadas con los formulados obtenidos anteriormente en el punto # 5.1.15. (Concentración Líquida y Concentración Sólida). Con respecto a los testigos de este estudio fueron tres los cuales consistían de un testigo biológico formulado con *P. fumosoroseus* (Specifick[®]) + Rhudo (Ácidos grasos no iónicos) que le sirvió como adherente, otro como testigo químico Endosulfán + Rescate 20 PS (Acetamiprid), muy utilizado para el control de esta plaga y por último un testigo sin tratar (sin aplicación alguna). Por lo tanto se evaluaron un total de siete.

Se realizó una sola aplicación, de los tratamientos y se efectuaron tres muestreos a los 2, 4, y 6 días respectivamente. Las dosis fueron ajustadas a la concentración (1×10^{11} esporas/ha) la cual es utilizada en los productos convencionales. Las aplicaciones se efectuaron con un atomizador manual, calibró para efectuar aspersión uniforme a una distancia de 15 cm del envés de la hoja ya seleccionada con anterioridad. La aplicación de los formulados se realizó durante la tarde, con el propósito de proporcionar a los tratamientos con hongos mejores condiciones climáticas.

5.2.4. Diseño Experimental:

Los tratamientos en campo fueron realizados bajo un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones. La unidad experimental fue una hoja de la planta de algodón (*Gossypium hirsutum* L.). Se trataron 10 hojas por tratamiento, por lo tanto se realizaron 10 repeticiones. El diseño experimental se muestra en la Tabla VI.

Tabla VI. Diseño experimental de los tratamientos para el bioensayo a nivel de campo. Diseño factorial ($3 \times 3 \times 7$) con 63 tratamientos.

| Dosis \ Tratamiento | Ninfas | | | | | | | | |
|---------------------|--------|-------|------|--------------------|-------|------|-------------|-------|------|
| | vivas | | | infectadas/Muertas | | | Parasitadas | | |
| | Baja | Media | Alta | Baja | Media | Alta | Baja | Media | Alta |
| MJ ₁ | '111 | '121 | '131 | '211 | '221 | '231 | '311 | '321 | '331 |
| MJ ₂ | '112 | '122 | '132 | '212 | '222 | '232 | '312 | '322 | '332 |
| CR ₃ | '113 | '123 | '133 | '213 | '223 | '233 | '313 | '323 | '333 |
| CR ₄ | '114 | '124 | '134 | '214 | '224 | '234 | '314 | '324 | '334 |
| Specific® | '115 | '125 | '135 | '215 | '225 | '235 | '315 | '325 | '335 |
| Endosulfan | '116 | '126 | '136 | '216 | '226 | '236 | '316 | '326 | '336 |
| Testigo | '117 | '127 | '137 | '217 | '227 | '237 | '317 | '327 | '337 |

CR a base de peptona de colágeno (CR₃-polvo, CR₄ líquido)

MJ a base de casaaminoácidos (MJ₁-polvo, MJ₂-líquido)

5.2.5. Variables Evaluadas:

El muestro se realizó de forma manual durante las tardes. El tamaño de muestra que se llevó a cabo fue de 10 hojas por cada planta de algodón para cada tratamiento, tres veces. Las cuales fueron seleccionadas previamente y etiquetadas para los diferentes tratamiento que se emplearon, se seleccionaron las hojas que contenían mayor infestación de *B. argentifolii* en sus diferentes etapas de desarrollo.

Las variables que se evaluaron en este estudio fueron: densidad de ninfas sanas (las que no fueron afectadas por ningún tratamiento durante el periodo de exposición), ninfas parasitadas (ninfas que fueron atacadas por enemigos naturales durante el experimento, caracterizadas por una mancha negra sobre el cuerpo de la ninfa), ninfas infectadas por los tratamiento empleados (caracterizadas por la pérdida de vigor, colapsadas, o la presencia de hifas sobre el cuerpo).

5.2.6. Análisis Estadístico:

Se realizaron análisis de varianza para cada variable evaluada (ninfas sanas, ninfas parasitadas, ninfas infectadas por los tratamientos). Cuando se encontró diferencia significativa entre tratamientos, se procedió a realizar las pruebas de rango múltiple de Tukey para la separación de medias de tratamientos. Los valores de porcentajes de ninfas infectadas fueron transformados mediante el arco seno de la raíz cuadrada de la proporción, previamente a los análisis estadísticos, con el propósito de homogenizar las varianzas (Ott, 1988).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6. RESULTADOS

6.1. Producción de *P. fumosoroseus*

6.1.1. Producción de blastosporas a nivel de fermentador:

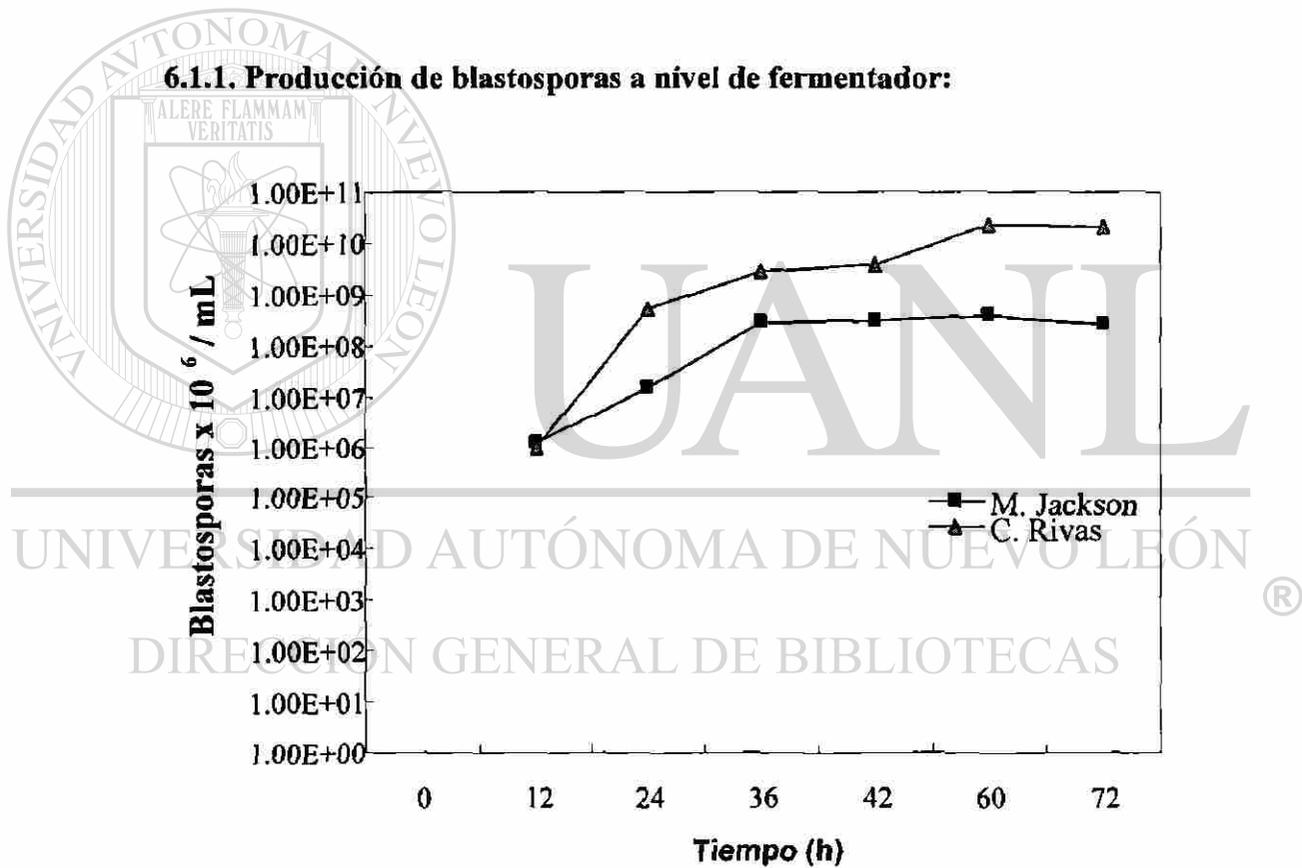


Figura 11. Producción de blastosporas de *P. fumosoroseus* a nivel de fermentador en dos medios de cultivo líquido.

En la Figura 11, se muestran los resultados obtenidos de la concentración final de blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas después de 72 h de fermentación en ambos medios de cultivo. El medio C. Rivas reporta (2.4×10^{10} blastosporas/mL), observando el inicio de su fase exponencial a partir de las 36 h con (2.7×10^8 blastosporas/mL), punto a favor para la utilización del medio; porque es de gran interés debido a que deseamos obtener una producción de blastosporas mayor, en un tiempo más corto de fermentación y así disminuir costos.

Por otro lado, el medio M. Jackson demuestra tener desventaja en la producción de blastosporas con estas condiciones de agitación y aireación, en comparación al medio C. Rivas; ya que presento una producción de 2.7×10^8 blastosporas/mL (Figura 11). El medio M. Jackson inicia su fase exponencial muy lenta, se observa la máxima producción entre las 60 y 72 h de fermentación; contrario al otro medio que desde las 36 h, se observa producciones mayores de blastosporas hasta el final de la fermentación. Se aplico la prueba estadística *t* para evaluar si los dos medios de cultivo (M. Jackson y C. Rivas), diferían entre sí de manera significativa respecto a sus medias, los resultados mostraron una alta diferencia significativa ($p < 0.01$) entre los dos medios al producir las blastosporas se muestra en el apéndice I.

6.1.2. Cinética de crecimiento en base a Peso Seco:

Los resultados se muestran en la Tabla VII y Figura 12, con respecto al peso seco inicial obtenido en ambos medios, cuentan con un peso muy similar entre ellos debido a que comienzan con la misma concentración de inóculo, conforme avanza la fermentación se tomaron muestras a diferentes intervalos de tiempo hasta la germinación después de 72 h de fermentación, donde el peso seco final logrado para ambos medios fue muy diferente, el medio peptona con 15.5 g/L tiene superioridad sobre el medio M. Jackson con solo 2.3 g/L. Se aplico la prueba estadística *t* para evaluar el peso seco de las blastosporas y tienen alto efecto significativo ($p < 0.05$) al comparar ambos medios, se muestra en el apéndice I.

Tabla VII. Parámetros determinados en la producción de *P. fumosoroseus* cepa 612 en ambos medios a nivel fermentador después de 72 horas.

| Medio de cultivo | Peso seco g/L | Azúcares Reductores g/L Consumidos |
|------------------|------------------|--|
| C. Rivas | 15.5 | 73 |
| M. Jackson | 2.3 | 71 |

n=3

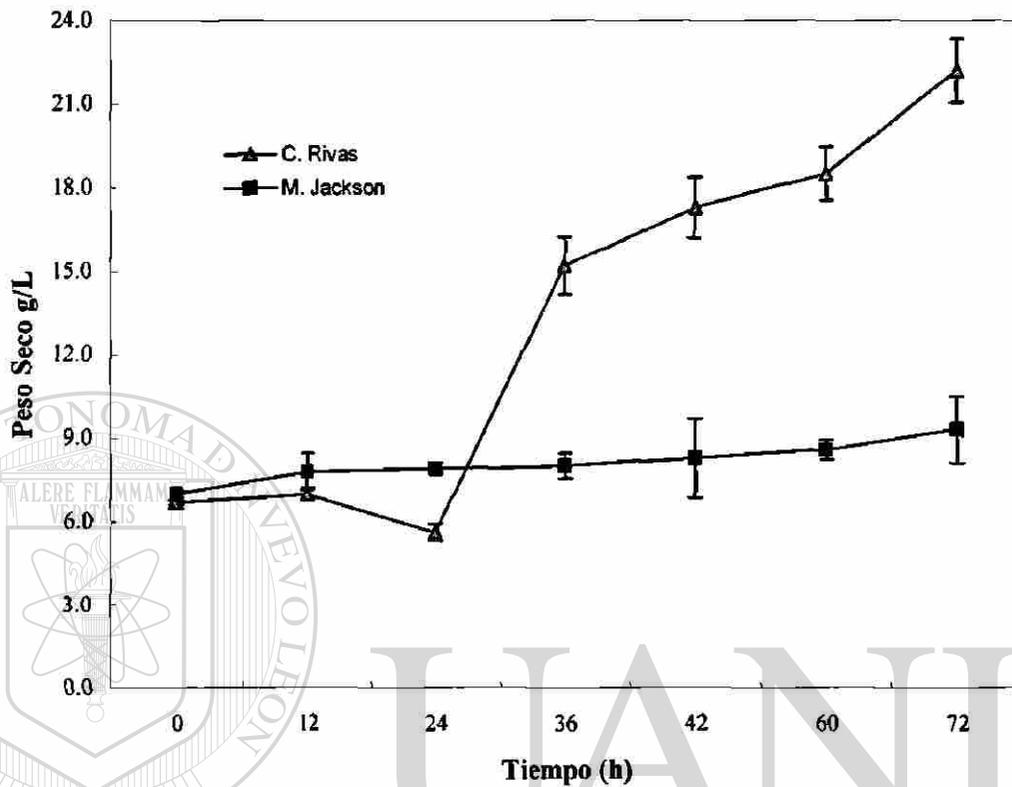


Figura 12. Cinética de crecimiento de *P. fumosoroseus* cepa 612 a nivel de fermentador de 14 L (28 °C, 520 r.p.m 72 h) en ambos medios de cultivo líquido. La gráfica muestra concentración de biomasa.

6.1.3. Cinética de crecimiento en base a Consumo de azúcares:

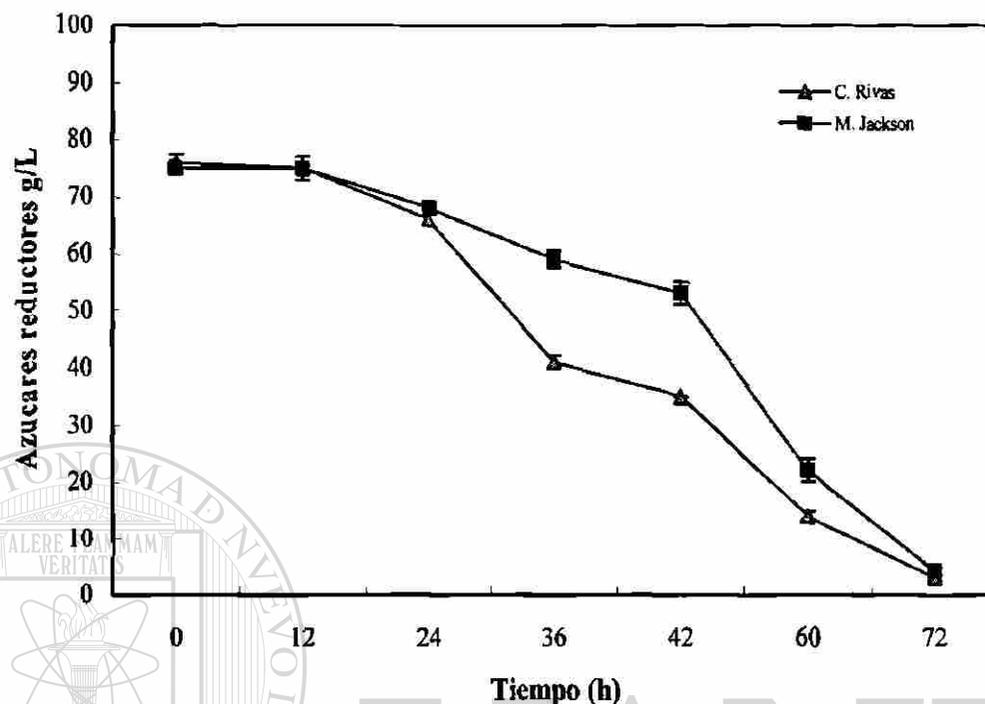


Figura 13. Cinética de crecimiento de *P. fumosoroseus* cepa 612 a nivel de fermentador de 14 L (28 °C, 520 r.p.m 72 h) en ambos medios de cultivo líquido. La gráfica muestra el consumo de azúcares.

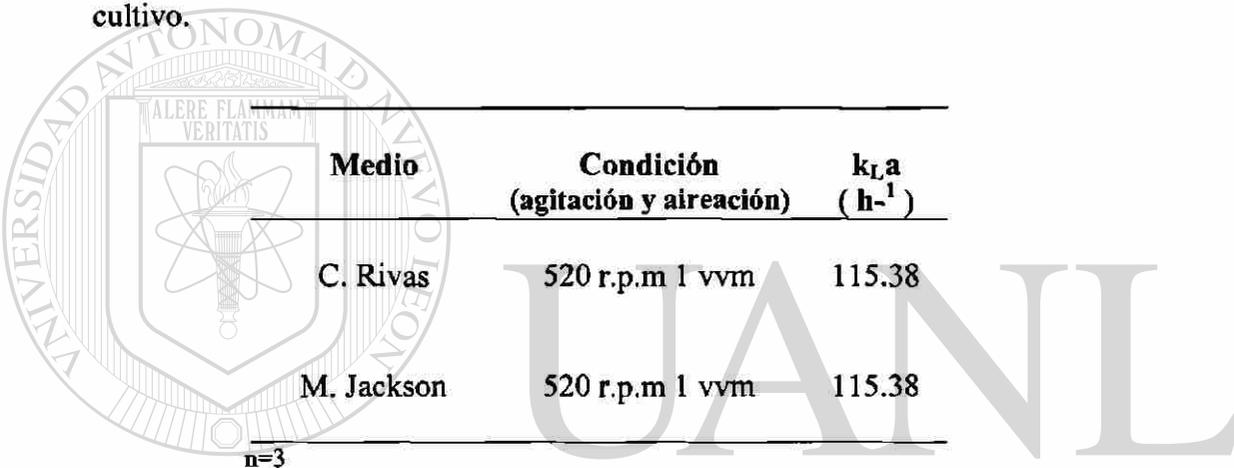
La Tabla VII y Figura 13 muestra el consumo inicial del medio M. Jackson de (75 g/L) y del medio C. Rivas de (76 g/L) donde se observa que ambas muestras, comienzan su consumo de azúcar a la par, sin embargo conforme avanza el tiempo de la fermentación a las 36 horas, el medio C. Rivas eleva el consumo hasta (41 g/L), debido a que comienza su fase exponencial y por ello requiere más energía, agotando de esta forma la fuente de Carbono, presente en el medio de cultivo. El medio M. Jackson comienza su fase exponencial más tarde, de esta forma el consumo de azúcar se hace más notorio a las 60 horas con su disminución (22 g/L), debido a que presenta un mayor número de blastosporas (4×10^7 blastosporas/mL) en ese momento. El resultado de la prueba estadística *t* muestra diferencia significativa, entre ambos medios con respecto al consumo de azúcares, esto se observa en el apéndice K.

Como resultado del agotamiento de un nutriente esencial (la glucosa), ambos medios de cultivo llegaron al cese del crecimiento; con un consumo final (3 g/L) para el medio C. Rivas y (4 g/L) para el medio M. Jackson.

6.1.4. Coeficiente de Transferencia de Oxígeno (k_{La}):

Los valores de k_{La} se obtuvieron experimentalmente en ambos medios de cultivo a 28 °C en los fermentadores de 14 L, (con un volumen nominal de 5 L) por el método dinámico, con una condición de operación de 520 r.p.m 1 vvm. En la Tabla VIII se muestran los valores de k_{La} obtenidos los cuales son el promedio de 3 experimentos.

Tabla VIII. Valores de k_{La} obtenidos a 520 r.p.m y 1 vvm en ambos medios de cultivo.



| Medio | Condición (agitación y aireación) | k_{La} (h^{-1}) |
|------------|--------------------------------------|--------------------------|
| C. Rivas | 520 r.p.m 1 vvm | 115.38 |
| M. Jackson | 520 r.p.m 1 vvm | 115.38 |

n=3

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La combinación de condiciones altas de propagación (520 r.p.m 1vvm), el microorganismo (hongo entomopatógeno) usado así como los medios de cultivo empleados para su propagación jugaron un papel importante, debido a la alta viscosidad que se logro en las fermentaciones desencadenaron una serie de efectos sobre el k_{La} ; para obtener los valores del coeficiente de transferencia de oxígeno, se empleo la siguiente ecuación:

$$k_{La} = K(Pg/V)^{\alpha} (Vs)^{\beta}$$

Donde Pg/V es la potencia gaseada por volumen, Vs es la velocidad superficial del gas y K , α , y β son constantes empíricas.

Debido a la alta viscosidad que se tiene en ambos medios aunado a la agitación que se emplean, se sugiere tomar en consideración para posteriores estudios con este hongo, la utilización de la siguiente correlación para determinar el k_{La} (Bisaria V. and Panda A. 1991; Ramírez OT. 2004).

$$k_{La} = K' (P/V)^{\alpha} Vg^{\beta} \eta^{-\gamma}$$

Donde P / V es la potencia por unidad de volumen, Vg es la velocidad superficial del gas burbujeado, η es la viscosidad del medio de cultivo y K' , α , β , y γ son constantes empíricas.

De esta forma se podrá en futuras investigaciones mejorar y enriquecer el bioproceso, mejorando la productividad del cultivo, donde se pueda tomar el coeficiente de transferencia de oxígeno como un parámetro de escalamiento para su implementación a nivel industrial.

6.1.5. Viabilidad de las blastosporas:

La importancia de la sobrevivencia de las blastosporas después de secadas y almacenadas radica en que las blastosporas germinan ya que en comparación con las conidias, estas (blastosporas) germinan más rápidamente en el hospedero. En conjunto esta habilidad y la de penetración en el hospedero proporcionan la patogenicidad (Jackson *et al.*, 1997).

La viabilidad de los extractos obtenidos en el fermentador y almacenados a 4°C de ambos medios de cultivo estudiados se muestra en la Figura 14 y corresponden al valor promedio de 3 experimentos. Con respecto a los resultados de este trabajo, las blastosporas recuperadas mostraron valores iniciales de 94 % de germinación para el medio C. Rivas y 97 % para el medio M. Jackson, después de su secado con la tierra de diatomeas, durante el primer mes (30 días) de pruebas en el

caldo de PDA, estas blastosporas logran un 81 % para C. Rivas y 87 % para M. Jackson, y se consideran aún con alto porcentaje de germinación. El resultado de la prueba estadística t muestra una alta diferencia significativa, al comparar la viabilidad de los medios de cultivo, en el transcurso de los días, esto se observa en el apéndice L.

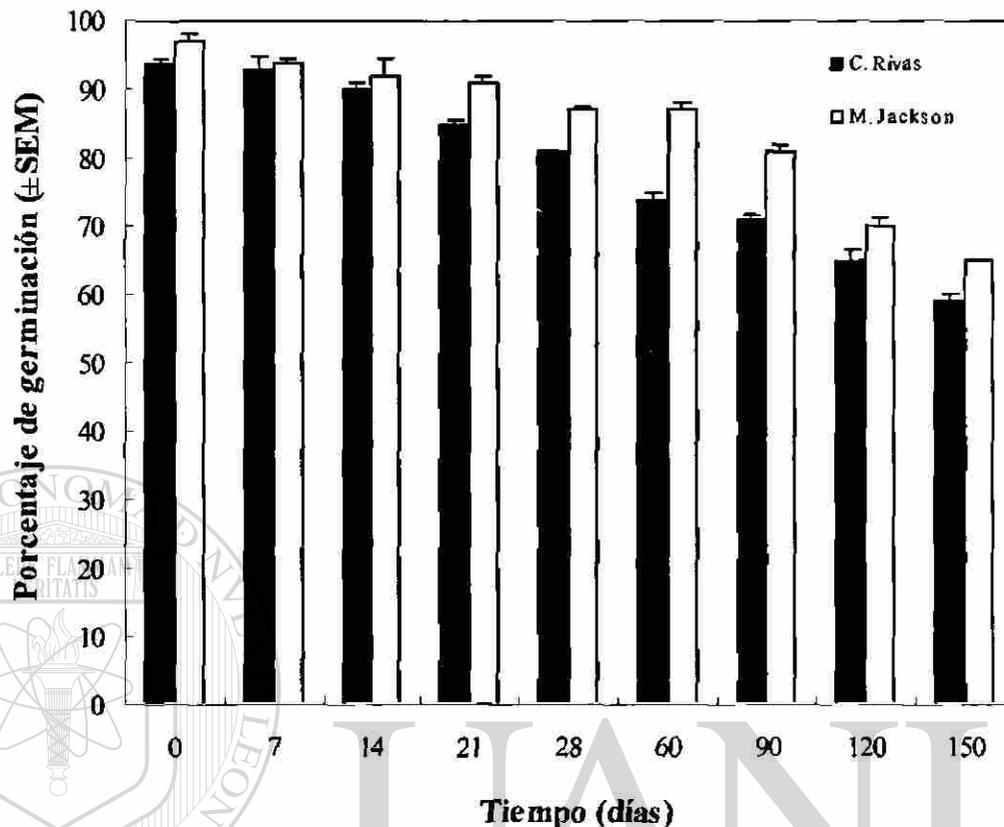


Figura 14. Sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* producidas en dos medios líquidos (M. Jackson y C. Rivas), a nivel fermentador de 14 L, almacenados a 4 °C y formulados con tierra de diatomeas, con porcentaje bajo de humedad.

Después de dos meses (60 días) de almacenadas se observa que carece de una disminución en la germinación con el medio M. Jackson porque sigue conservando el mismo porcentaje de germinación (87 %), mientras el otro medio baja 74 %. Después de 90 días aun se observa una buena germinación (81 %), con el medio M. Jackson el cual presenta una ligera ventaja del 10 % contra el medio C. Rivas, como se aprecia en la Figura 14 después de 4 meses (120 días) sigue disminuyendo la germinación, presentando un 65 % con las blastosporas recuperadas del medio C. Rivas, las cuales disminuyeron más rápido a lo largo de los días y el medio M. Jackson conserva después de este periodo un buen porcentaje (70 %). Después de 5 meses (150 días) de almacenaje las blastosporas obtenidas reportan una disminución de 59 % para el medio C. Rivas y 65 % para M. Jackson (Figura 14).

Viabilidad de las blastosporas almacenadas sin ningún soporte. Para realizar esta evaluación, anteriormente se menciono la separación en dos partes de las blastosporas recuperadas de las fermentaciones realizadas para su obtención, una contiene un soporte (tierra de diatomeas) y las blastosporas como ingrediente activo, la segunda fue almacenada a 22 °C, solo las blastosporas y sin ningún soporte, guardadas en frascos de vidrio oscuro (los cuales no permiten la entrada de luz, para evitar la radiación ultravioleta, que afecta la germinación de las blastosporas, así como la actividad del hongo) Monzón, (2001). Los resultados correspondientes a este procedimiento se muestran en la Figura 15 donde se reporta el porcentaje de germinación de *P. fumosoroseus* con estas condiciones.

Al comienzo se obtiene entre un 98 y 96 % de germinación en ambos medios de cultivo (M. Jackson y C. Rivas). Ambos medios de cultivo pierden viabilidad a la par, resultando de esto un 45 % después de 150 días de almacenaje. Porcentajes altos de viabilidad solo se obtienen durante dos semanas, como se puede ver en la Figura 15. La prueba estadística *t* muestra que la viabilidad de las blastosporas sin formular, tiene un efecto significativo en el transcurso de los días, se muestra en el apéndice M.

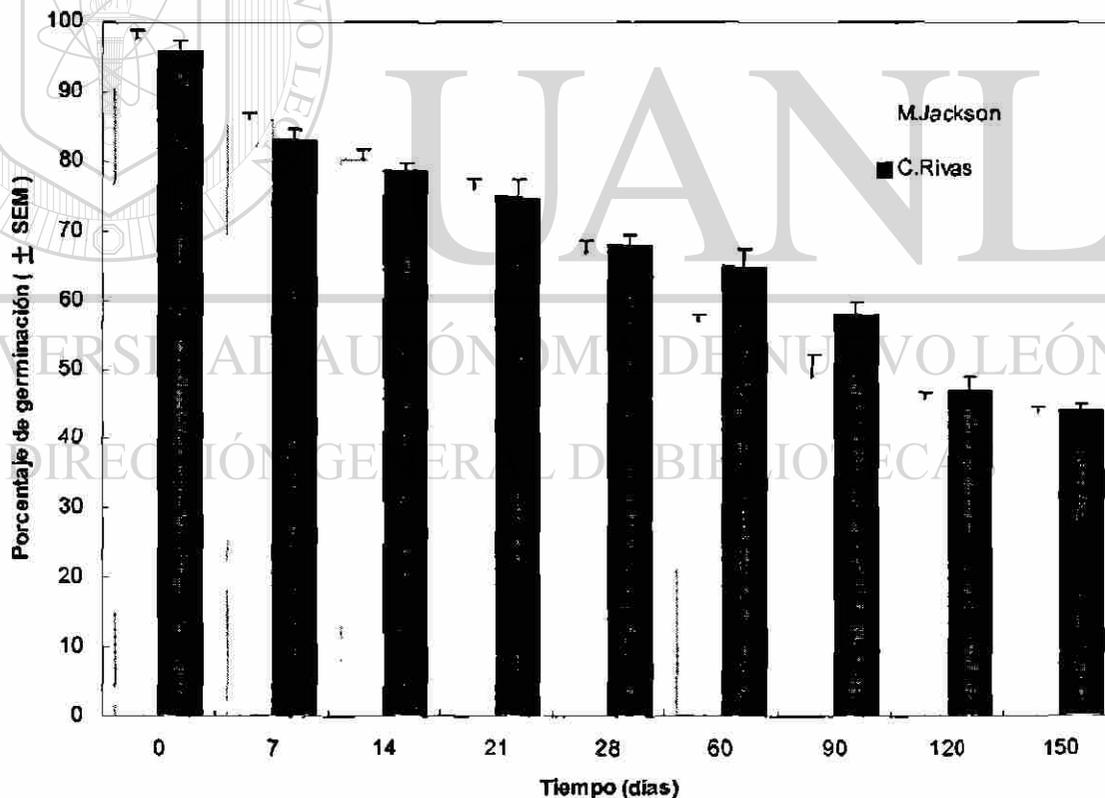


Figura 15. Sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* producidas en dos medios líquidos (M. Jackson y C. Rivas), a nivel fermentador, sin formular y almacenados.

6.1.16. Ventajas y Desventajas de la Fermentación en cultivo líquido:

Debemos recordar que en un cultivo líquido la producción y el control del proceso se simplifican en comparación a fermentaciones de cultivo sólido.

Además la utilización de biorreactores (modificados) con equipo de monitoreo y computacional, mejora la perspectiva de utilización de ellos, a nivel piloto debido a que se controlan las condiciones óptimas para la producción como son: la temperatura, aireación, pH, agitación y oxigenación. En este trabajo se controló efectivamente la temperatura de crecimiento del hongo el cual se mantuvo siempre a 28 °C (temperatura adecuada reportado por Jackson *et al.*, 1997), el pH se mantuvo a lo largo de la fermentación entre 5.5 y 6.0, medida óptima de crecimiento (para su control se empleo NaOH 2N y H₃PO₄ 2N), la agitación se conserva a 520 r.p.m y la oxigenación solo se monitorio durante la fermentación, y se registro el descenso durante el aumento de la producción de blastosporas.

Un factor importante a mencionar son los inconvenientes que se presentaron durante las fermentaciones, donde el factor más difícil de controlar, a pesar de contar con la instrumentación adecuada para su detención y control, en el modulo de fermentación fue la formación de espuma. Formada debido a la alta agitación (520 r.p.m), las características (nutrientes) de los medios de cultivo en estudio y de que se trato de un cultivo micelial (que aumento la viscosidad del medio de cultivo), presento un exceso espuma sobresaliendo el medio C. Rivas, cabe recordar que el volumen de trabajo fue de 5 L, para solucionar este problema se empleo un antiespumante químico y una barrera mecánica colocada en la flecha de agitación.

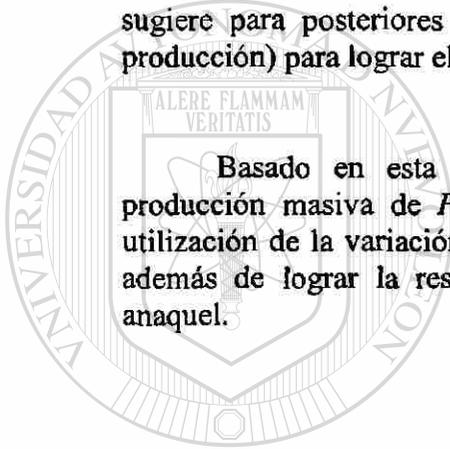
Como menciona Crueger (1989) la espuma es un problema frecuente en las fermentaciones con sistemas aireados, un antiespumante químico puede ser siempre usado para la reducción de la espuma, pero tiene efectos inhibitorios en la fermentación. Se pueden utilizar varios métodos mecánicos que conserven condiciones estériles y puedan destruir la espuma.

La composición de los medios de cultivo es la clave más importante para la formación del producto. Y en el caso del medio C. Rivas, los medios elaborados con extracto de levadura y/o peptona proporcionan al hongo condiciones óptimas de crecimiento según Belova (1979); En el caso de los extractos de levadura son excelentes sustratos para muchos microorganismos. Debido a que contiene aminoácidos, péptidos, vitaminas solubles en agua y carbohidratos (Crueger, 1989); y este medio contiene estos elementos por lo que posiblemente puede influir para la obtención de una gran cantidad de blastosporas, así como las condiciones de fermentación empleadas.

Con lo respecto al medio M. Jackson, cuenta con nutrientes ideales para la producción de blastosporas, debido a su fuente de carbono (Glucosa), y fuente de nitrógeno (Casaaminoácidos), según reporta Jackson *et al.*, 1997, varios estudios a nivel matraz han demostrado una alta producción de blastosporas haciendo recomendable el uso de este medio, pero cuando se trabaja a nivel de fermentador uno de los principales limitantes además de una alta producción, en la economía de los medios como se observa en la Tabla IX donde se muestran los costos de adquisición de los reactivos empleados en los dos medios.

Desafortunadamente muchos de los estudios existentes, sobre la utilización de este hongo, y con esta misma fuente de nitrógeno, están más enfocados a estudios nutricionales (para obtener mayor resistencia de desecación y almacenamiento) y no a mejorar y/o obtener producciones de blastosporas altas; lo cual se puede lograr a través del uso de fermentadores y empleo de cultivos sumergidos. Por tal motivo se sugiere para posteriores investigaciones, una integración de ambas (nutrición y producción) para lograr el éxito total, del empleo de Hongos Entomopatógenos.

Basado en esta observación el objetivo de esta investigación fue la producción masiva de *P. fumosoroseus* a nivel fermentador, combinado con la utilización de la variación de la fuente de nitrógeno la cual involucra bajos costos, además de lograr la resistencia a la desecación y mejoramiento de la vida de anaquel.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla IX. Costo por kilo de ingrediente empleado en la formulación de los medios de cultivo.

| Ingrediente | Costo en pesos (por kilo de ingredientes) |
|----------------------------|--|
| Fuente de carbono | |
| Glucosa | 11.00 |
| Fuente de nitrógeno | |
| Casaaminoácidos | 7000 |
| Peptona | 160.00 |
| Extracto de levadura | 95.00 |
| Costo final | |
| Medio M. Jackson | 7011 |
| Medio C. Rivas | 266 |

Cotizado en pesos mexicanos

(Casaaminoácidos, Glucosa, Probiotek Peptona y Extracto de levadura, Sensient)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

160688

6.2. Efectividad biológica de *P. fumosoroseus* contra *B. argentifolii*:

Los enemigos naturales de una especie de insectos son muy específicos para esa especie, es decir, son enemigos de determinado insecto y no atacan a todos los demás insectos, y su utilización preserva el ecosistema (Bolívar, 2004). La utilización de hongos entomopatógenos nos ofrece este mismo beneficio, por ende las investigaciones se enfocan en el estudio y empleo de estos.

Este trabajo evaluó la efectividad biológica de la cepa Pfr-612 (*P. fumosoroseus*), obtenida anteriormente se recuperaron blastosporas y se emplearon como ingrediente activo, de dos fuentes de nitrógeno distintas para ello (M. Jackson y C. Rivas) para su utilización se formularon blastosporas con tierra de diatomeas (Polvo) y una suspensión (Caldo de fermentación); el bioinsecticida comercial *Specifick*[®] (*P. fumosoroseus*) + Rhudo (Jabón agrícola) como testigo biológico y el insecticida químico Endosulfan + Rescate 20 PS (Acetamiprid) como testigo químico para el control de la mosquita blanca *B. argentifolii* (Bellows & Perring) en una parcela experimental de algodón (DP-5415), localizada en Matamoros, Coahuila.

Se probó la eficiencia de los diferentes tratamientos contra los diferentes estadios de la mosquita blanca *B. argentifolii* durante tres fechas de muestreo, después de una sola aplicación.

En el apéndice O y Tabla X se observa la mortalidad de las ninfas durante el primer muestreo al segundo día después de su aplicación, donde sobresalen 3 de los 7 tratamientos del estudio, el tratamiento con el medio C. Rivas presenta alto promedio de ninfas infectadas (80.52 %) tanto con la formulación líquida (Caldo de fermentación), como con la formulación en polvo con 76.3 % ambas usando una dosis media. La cual se determinó usando como base 1×10^{11} esporas / ha, el cual corresponde al número de esporas que contiene el producto comercial biológico *Specifick*[®]. El producto comercial (*Specifick*[®]) es el tercer tratamiento con mayor porcentaje de infección con 72.44 % cuya composición es *P. fumosoroseus*, coadyuvantes (tierra de diatomeas micronizada) y protectores solares. El 80.52 % y el 76.3 % de mortalidad (por infección) que presentó el medio C. Rivas a los dos días de la única aplicación parece ser un buen presagio, para el uso de este hongo entomopatógeno.

Tabla X. Número y porcentaje de ninfas vivas, infectadas y parasitadas de *B. argentifolii*, al segundo día después de la aplicación de los tratamientos, en el cultivo del algodón.

| Tratamiento | Dosis | Ninfas Vivas | | Ninfas Inf./Muertas | | % de Ninfas Inf./Muertas | | Ninfas Parasitadas | | % Ninfas Parasitadas | | Ninfas Totales | |
|-----------------------------------|-------|--------------|------------|---------------------|------------|--------------------------|------------|--------------------|------------|----------------------|------------|----------------|------------|
| | | Número | Porcentaje | Número | Porcentaje | Número | Porcentaje | Número | Porcentaje | Número | Porcentaje | Número | Porcentaje |
| MJ ₁ | Baja | 63.4 | ebdac * | 27.7 | ba | 47.7 | ba | 23.5 | ba | 25.9 | bdc | 114.6 | ba |
| | Media | 153.3 | a | 77.7 | a | 38.5 | bc | 29.7 | ba | 15.7 | edc | 260.7 | a |
| | Alta | 69.8 | ebdac | 40.8 | ba | 48.9 | ba | 47.1 | a | 31.3 | ba | 157.7 | ba |
| Promedio | | 95.5 | | 48.7 | | 45.1 | | 33.4 | | 24.3 | | 177.7 | |
| MJ ₂ | Baja | 58.9 | ba | 26.6 | ba | 37.1 | c | 21.3 | ba | 23.1 | bedc | 106.8 | ba |
| | Media | 38.5 | ebdac | 37.3 | ba | 52.7 | ba | 67.2 | a | 48.3 | a | 143.0 | ba |
| | Alta | 11.0 | edc | 22.9 | ba | 68.2 | ba | 3.7 | c | 11.3 | ed | 37.6 | c |
| Promedio | | 36.1 | | 28.9 | | 52.7 | | 30.7 | | 27.6 | | 95.8 | |
| CR ₃ | Baja | 25.7 | ebdac | 21.3 | ba | 41.8 | bc | 8.2 | bc | 21.1 | edc | 55.2 | bc |
| | Media | 11.0 | e | 28.4 | ba | 76.3 | a | 9.9 | bc | 19.1 | edc | 49.3 | bc |
| | Alta | 18.8 | ebdc | 20.9 | ba | 53.0 | ba | 4.5 | c | 10.9 | ed | 44.2 | bc |
| Promedio | | 18.5 | | 23.5 | | 57.0 | | 7.5 | | 17.0 | | 49.6 | |
| CR ₄ | Baja | 47.8 | bdac | 21.7 | ba | 37.9 | c | 18.0 | ba | 21.0 | bedc | 87.5 | ba |
| | Media | 9.1 | ed | 42.9 | ba | 80.5 | a | 5.0 | c | 7.8 | e | 57.0 | bc |
| | Alta | 33.5 | ebdac | 14.2 | b | 36.0 | c | 10.4 | bc | 20.2 | edc | 58.1 | bc |
| Promedio | | 30.1 | | 26.3 | | 51.5 | | 11.1 | | 16.3 | | 67.5 | |
| Specifick® | -- | 11.8 | ebdc | 58.6 | ba | 72.4 | ba | 9.1 | bc | 12.1 | ed | 79.5 | ba |
| Endosulfan | -- | 9.3 | ed | 39.8 | ba | 77.1 | a | 10.0 | bc | 18.7 | edc | 59.1 | bc |
| Testigo (sin aplicar insecticida) | + | 61.6 | ba | 0.0 | c | 0.0 | d | 40.8 | a | 40.4 | ba | 102.4 | ba |

* Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas

+ Aplicación con agua solamente --- Dosis recomendada por el fabricante

CR a base de peptona de colágeno (CR₃-polvo, CR₄-líquido)

MJ a base de caseaminoácidos (MJ₁-polvo, MJ₂-líquido)

Con respecto al Endosulfan + Rescate 20 PS debido a que son productos químicos se esperaba un porcentaje de ninfas muertas más alto y más rápido que el porcentaje de ninfas infectadas (por el hongo), pero en la primera fecha de muestreo al segundo día después de aplicación solo se reporta un 53.57 %, y muestran ventaja los bioinsecticidas aplicados. Durante el primer muestreo (Tabla X) los tratamientos elaborados con el medio (M. Jackson) a base de casaminoácidos en ambas formulaciones (Polvo y Caldo de fermentación), presenta una mortalidad menor (por infección) destacando solamente con un 68.16 % la formulación líquida (Caldo de fermentación), en su dosis alta, seguida de la dosis media con 52.66 %. Mientras que el otro tratamiento (formulación en polvo) solo muestra desde un 38.52 % de ninfas infectadas hasta un 47.73 % en todas las dosis.

Los resultados correspondientes al segundo muestreo al cuarto día después de la aplicación, en la Tabla XI, apéndice P. Revelan que medio M. Jackson con la formulación en polvo presenta un ligero repunte del 75.63 % de ninfas infectadas por el hongo, con una dosis alta de aplicación. Pero esta tendencia no se observa con la dosis media, ni baja donde ambas tienen entre 56.65 y 53.83 %. Con la formulación líquida (Caldo de fermentación), las tres dosis de muestran un rango de mortalidad (ninfas infectadas) entre 40 % y 55 %, presenta poca efectividad, considerando que se busca al aplicar los bioinsecticidas una alta infestación en un menor tiempo.

Al parecer la formulación líquida del medio C. Rivas, presenta un proceso de infección más rápido, ya que la dosis media durante el primer muestreo tiene alto porcentaje de infección (80.52 %) mientras a los 4 días reporta 68.62 % de ninfas infectadas, pero esta tendencia solo se logra apreciar con esta dosis, porque el resto de las dosis (alta y baja) elevan la efectividad sobresaliendo la dosis alta con 35.98% a los dos días después de la aplicación y 67.56 % al cuarto día, la dosis baja presento 37.9% llega hasta 53.39 % (Tabla XI) después del cuarto día.

El testigo biológico (Specifk®) muestra una reducción considerable de efectividad (40.03 %) al cuarto día, disminuye hasta un 30 %, considerable ya que al principio del experimento logra 72 % de ninfas infectadas. La mezcla de Endosulfan + Rescate 20 PS presenta 31.76 % de ninfas muertas al cuarto día, lo que indica la pérdida de efectividad en contra de *B. argentifolii* sobre este cultivo.

Tabla XI. Número y porcentaje de ninfas vivas, infectadas y parasitadas de *B. argentifolii*, al cuarto día después de la aplicación de los tratamientos, en el cultivo del algodón.

| Tratamiento | Dosis | Ninfas | | % de Ninfas | | Ninfas | | % Ninfas | |
|---|-------|-------------|---------------|---------------|-------------|-------------|--------------|----------|--|
| | | Vivas | Inf./ Muertas | Inf./ Muertas | Muertas | Parasitadas | Parasitadas | Totales | |
| MJ ₁ | Baja | 24,3 ba * | 28,2 ebdc | 53,8 bac | 12,5 bdac | 16,7 bc | 65,0 bac | | |
| | Media | 61,7 ba | 69,9 bac | 56,7 bac | 24,4 bac | 16,4 bc | 156,0 ba | | |
| | Alta | 12,2 b | 44,0 ebdc | 75,6 a | 37,0 ba | 33,6 ba | 93,2 bac | | |
| Promedio | | 32,7 | 47,4 | 62,1 | 24,6 | 22,3 | 104,7 | | |
| MJ ₂ | Baja | 55,7 ba | 20,9 edc | 40,2 c | 22,8 bac | 28,2 bac | 99,4 bac | | |
| | Media | 40,7 ba | 43,1 bdac | 55,8 bac | 40,4 a | 32,8 ba | 124,2 a | | |
| | Alta | 28,5 ba | 25,6 ebdc | 51,3 bac | 6,8 dc | 10,8 c | 60,9 bac | | |
| Promedio | | 41,6 | 29,9 | 49,1 | 23,3 | 23,9 | 94,8 | | |
| CR ₃ | Baja | 22,1 ba | 18,8 edc | 43,4 bc | 6,1 bdc | 13,8 bc | 47,0 bac | | |
| | Media | 16,0 ba | 15,9 ed | 48,0 bc | 3,8 d | 9,7 c | 35,7 c | | |
| | Alta | 31,7 ba | 20,8 ed | 39,8 c | 8,4 dc | 14,4 bc | 60,9 bc | | |
| Promedio | | 23,3 | 18,5 | 43,7 | 6,1 | 12,6 | 47,9 | | |
| CR ₄ | Baja | 19,9 ba | 21,9 ebdc | 53,4 bac | 9,6 bdac | 18,4 bc | 51,4 bac | | |
| | Media | 31,2 ba | 76,9 a | 68,6 ba | 16,5 bdac | 12,1 c | 124,6 a | | |
| | Alta | 35,4 ba | 70,1 a | 67,5 ba | 12,7 bdac | 11,1 c | 118,2 ba | | |
| Promedio | | 28,8 | 56,3 | 63,2 | 12,9 | 13,9 | 98,1 | | |
| Specifick® | --- | 21,0 ba | 19,4 e | 40,0 c | 14,5 bdac | 26,8 bac | 54,9 bac | | |
| Endosulfan | --- | 48,4 ba | 13,9 ed | 31,7 c | 19,4 bdac | 26,3 bac | 81,7 bac | | |
| Testigo (sin aplicar insecticida) | + | 41,9 a | 0,0 f | 0,0 d | 44,5 a | 44,3 a | 86,4 bac | | |

*Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas

+ Aplicación con agua solamente --- Dosis recomendada por el fabricante

CR a base de peptona de colágeno (CR₃-polvo, CR₄-líquido)

MJ a base de caseína (MJ₁-polvo, MJ₂-líquido)

En la Tabla XII, se observa que los algunos de los productos formulados en el laboratorio después de seis días después de la aplicación, aun siguen con un porcentaje considerablemente alto de mortalidad entre los que se encuentran medio M. Jackson formulación en polvo dosis alta (65.95 %), medio C. Rivas polvo dosis media (63.92 %), y formulación líquida (Caldo de fermentación) dosis baja (63.01%). Los puntos a resaltar con este trabajo seria el comportamiento opuesto de los dos productos formulados donde el medio M. Jackson empieza a infectar conforme avanza el tiempo de muestreo podría decirse que el hongo en este medio de cultivo tarda en lograr las condiciones ideales de infestación mencionadas anteriormente.

Mientras el medio C. Rivas con ambos tipos de formulaciones desde el primer día de muestreo después de la aplicación, se logra observar porcentajes altos de infección sin olvidar que este efecto no se logra en todas las dosis que se emplearon, como eran de esperarse solo algunos serian las mejores para considerar. Con respecto a las dosis de los tratamientos, existe entre ellos alta diferencia significativa (apéndice Q) entre medios y formulados.

Como se observa en la Tabla XII el comportamiento en el medio M. Jackson formulación en polvo cuenta con un efecto ascendente con respecto a la dosis, la baja de 45.35 %, media de 56.03 % y alta de 65.95 %; mientras que en la formulación líquida (Caldo de fermentación) la dosis alta es la única que reporta una mortalidad mayor de 56.08 %. La dosis baja tiene un efecto, de menos a más pues comienza con 37.13 % y logra al final 55.67 % durante las tres fechas de muestreo.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

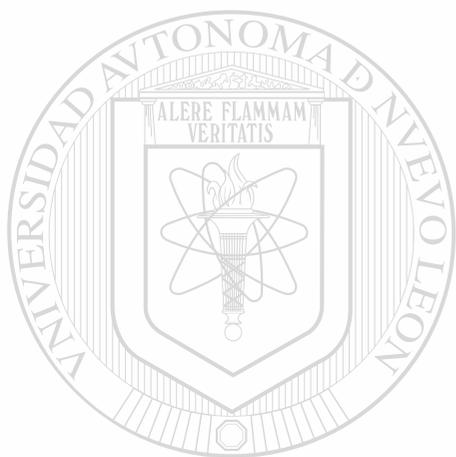
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla XII. Número y porcentaje de ninfas vivas, infectadas y parasitadas de *B. argentifolii*, al sexto día después de la aplicación de los tratamientos, en el cultivo del algodón.

| Tratamiento | Dosis | Ninfas | | Ninfas | | % de Ninfas | | Ninfas | | % Ninfas | |
|--------------------------------------|-------|-------------|---------------|---------------|-------------|---------------|--------------|-------------|---------|----------|--|
| | | Vivas | Inf./ Muertas | Inf./ Muertas | Parasitadas | Inf./ Muertas | Parasitadas | Parasitadas | Totales | | |
| MJ ₁ | Baja | 26,5 ba* | 20,0 d | 45,4 ba | 12,4 bdac | 21,0 cbd | 58,9 dc | | | | |
| | Media | 64,6 a | 68,8 ba | 56,0 ba | 27,1 ba | 18,5 cebd | 160,5 ba | | | | |
| | Alta | 30,0 ba | 47,9 bdac | 65,9 a | 23,5 ba | 22,6 cbd | 101,4 bdac | | | | |
| Promedio | | 40,4 | 45,6 | 55,8 | 21,0 | 20,7 | 106,9 | | | | |
| MJ ₂ | Baja | 34,6 ba | 33,7 bdc | 55,7 ba | 24,5 ba | 26,3 cb | 92,8 bdac | | | | |
| | Media | 38,9 ba | 31,9 dc | 41,6 b | 16,4 bac | 20,4 cebd | 87,2 bdac | | | | |
| | Alta | 13,4 b | 17,6 d | 56,1 ba | 2,5 d | 7,3 e | 33,5 d | | | | |
| Promedio | | 29,0 | 27,7 | 51,1 | 14,5 | 18,0 | 71,2 | | | | |
| CR ₃ | Baja | 17,8 ba | 16,7 d | 46,4 ba | 4,0 dc | 9,7 ed | 38,5 dc | | | | |
| | Media | 18,8 ba | 37,9 bdac | 63,9 ba | 9,7 bdc | 12,9 ccd | 66,4 bdc | | | | |
| | Alta | 3,0 ba | 38,1 bdc | 60,0 ba | 14,8 bdc | 12,0 ccd | 87,9 bdc | | | | |
| Promedio | | 23,9 | 30,9 | 56,8 | 9,5 | 11,5 | 64,3 | | | | |
| CR ₄ | Baja | 23,9 ba | 37,1 bdac | 63,0 ba | 14,5 bdac | 16,4 cebd | 75,5 bdac | | | | |
| | Media | 31,6 ba | 47,6 bac | 59,7 ba | 15,0 bdac | 14,0 cebd | 94,2 bac | | | | |
| | Alta | 55,2 a | 81,8 a | 61,9 ba | 28,9 a | 17,9 cebd | 165,9 a | | | | |
| Promedio | | 36,9 | 55,5 | 61,5 | 19,5 | 16,1 | 111,9 | | | | |
| Specifick® | --- | 38,1 ba | 23,9 dc | 42,3 ba | 14,2 bac | 20,0 cebd | 76,2 bdac | | | | |
| Endosulfan | --- | 32,6 ba | 28,9 bdc | 44,9 ba | 27,8 ba | 28,4 b | 89,3 bdac | | | | |
| Testigo (sin aplicar insecticida) | + | 41,8 ba | 0,0 e | 0,0 c | 63,2 a | 49,1 a | 105,0 bdac | | | | |

* Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas
 + Aplicación con agua solamente --- Dosis recomendada por el fabricante
 CR a base de peptona de colágeno (CR₃-polvo, CR₄-líquido)
 MJ a base de caseaminoácidos (MJ₁-polvo, MJ₂-líquido)

Finalmente en este trabajo se logra englobar los requisitos necesarios en lo que la biotecnología se enfoca para el éxito de esta; como sería 1) el desarrollo del producto (donde se logra tener una producción superior de blastosporas con respecto a dos medios de cultivo líquido, usando los fermentadores y condiciones de propagación adecuadas para el hongo) 2) formulaciones con mayor vida de anaquel (probando el uso de blastosporas contenidas en el caldo de fermentación sin ningún soporte o aditivo, blastosporas secadas y tratadas con tierra de diatomeas como soporte y con esta forma se logró la sobrevivencia por un mayor tiempo) 3) efectividad y permanencia en el campo (obteniendo buenos porcentajes de mortalidad sobre *B. argentifolii* con los productos obtenidos en el laboratorio con respecto a los testigos donde el control químico obtuvo menor efectividad, el control biológico tuvo un porcentaje alto de mortalidad por muy pocos días; Por consiguiente los productos obtenidos, así como los formulados tienen una permanencia mayor en el cultivo de algodón).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

7. DISCUSIÓN

Las concentraciones de blastosporas logradas con ambos medios de cultivo al final de la fermentación (72 h), observadas en la Figura 11 sugieren como alternativa la utilización de una fermentación tipo “Fed-batch” (semi-alimentado), donde se pueda añadir sustrato a medida que se consume, manteniendo su concentración de blastosporas constante.

Humphreys *et al.*, (1990), hace referencia de la utilización de cultivos “batch” y “feed batch”, pero limitados por glucosa y amonio; donde observaron que *P. farinosus* y *B. bassiana* produjeron blastosporas en la fase exponencial y desaceleración de crecimiento en el cultivo “batch”, mientras que *B. bassiana* solamente formo esporas durante la fase estacionaria. Con respecto al cultivo “Fed-batch” limitado por glucosa y amonio, la concentración de blastosporas para *P. farinosus* fue inversamente relacionada con la tasa de dilución.

Reportes anteriores mencionan la utilización de una fuente de nitrógeno similar al medio en estudio, al igual que nosotros con una alta producción de blastosporas, a escala de fermentador; como por ejemplo en (1986) Latgé y cols. Reportan un medio específico de glucosa y extracto de levadura para *B. bassiana* obtuvieron altas concentraciones de propágulos (1×10^9 blastosporas/mL), para (1996) De la Torre y Cárdenas Cota; Reporta la obtención de (5.0×10^8 esp/mL) conidios de *P. fumosoroseus* en un fermentador de 20 L (400 r.p.m y 1.5 vvm) con una fuente de carbono simple (glucosa (30 g/L), y nitrato de amonio (0.7 g/L) y suplementado con extracto de levadura como fuente de nitrógeno), en el medio de cultivo.

Quintero-Zapata (2001), empleo este mismo hongo en un medio a base de (sacarosa 2.0 g y peptona de colágeno 4.5 g), logro una producción de (1.48×10^8 blastosporas/mL) en 24 h de fermentación con las mismas condiciones de propagación anteriores (400 r.p.m y 1.5 vvm), y en condiciones menores de propagación (250 r.p.m) 1.3×10^8 blastosporas/mL pero después de 3 h de fermentación, en un micro fermentador de 5 L (Bioflo III, New Brunswick Scientific Co. Inc. USA).

Estas referencias corroboran que los medios con esta fuente de nitrógeno (por ejemplo: peptona y extracto de levadura), pueden ayudar a mejorar la producción, además si se mejoran las condiciones de propagación en el fermentador utilizado, como se realizó en este estudio con una agitación a 520 r.p.m y solo una aireación de 1.0 vvm se logró concentración alta de blastosporas como las observadas en la Figura 11, donde el medio C. Rivas tiene después de 72 h, 2.4×10^{10} blastosporas/mL. Elías-Santos, (2002) realiza una serie de experimentos utilizando en este caso las mismas fuentes de C:N en los medios de cultivo que este estudio (M. Jackson y C. Rivas) y menciona que las diferentes condiciones de agitación y aireación; puede ser factor determinante para la producción de *P. fumosoroseus*.

Además reporta una producción a nivel fermentador de (13.0×10^8) blastosporas/mL, y emplea condiciones de agitación menores y aireación en particular esta (400 r.p.m 0.5 vvm), en el medio M. Jackson, mientras que con velocidades mayores (520 r.p.m y 1 vvm), reporta, (1.0×10^8) blastosporas/mL). Sin embargo este efecto no se presenta en este experimento, debido a que se obtuvo un porcentaje mayor al reportado por Elías-Santos (2002).

Mientras que Vargas-Guevara, (2004) reporta también producciones bajas de esporas, pero de *B. bassiana* (5.9×10^8 esp/mL), empleando los casaaminoácidos a nivel matraz (300 r.p.m), comparado con el utilizado, otras fuentes de nitrógeno como nitrato de amonio obtiene (7.5×10^8) esp/mL) y con líquido remojo de maíz (6.4×10^8 esp/mL), además de corroborar que la fuente de nitrógeno y su relación con la fuente de carbono, en los medios de cultivo es de vital importancia tanto para la producción del propágulo, tolerancia a la desecación y almacenaje.

Mientras que Vega *et al.*, (1997) reporta una producción de 1.2×10^9 blastosporas/mL, con el medio de Jackson *et al.*, (1997) a nivel matraz en 300 r.p.m para la germinación de blastosporas de *P. fumosoroseus* en la cutícula de *B. argentifolii*. Varias investigaciones realizadas anteriormente con *P. fumosoroseus*, han reportado la utilización de C:N en una proporción de 10:1, con una agitación de 300 r.p.m a nivel matraz durante 3 días, con una producción final de 8.8×10^8 esporas/mL con 100 % de blastosporas en el medio de cultivo final (Jackson *et al.*, 1997). Otro ejemplo de producción con casaaminoácidos lo reporta Vidal *et al.*, (1997) con la cepa Pfr-92117 a nivel matraz, donde después de 48 h obtiene una producción de (1.3×10^8) propágulos). Como se puede ver en los reportes antes mencionados, son pocos los resultados a nivel fermentador con este medio en particular, ya que este es un medio de alto costo, haciéndolo poco factible su utilización a escalas mayores. Sin embargo la desventaja y de ser un medio de producción más cara, no se podría descartar de todo su utilización, debido a diferentes reportes donde se reportan altas concentraciones de blastosporas y posiblemente tiendan a ser efectivas para el control de mosquita blanca.

Este dato sería correcto si consideramos la observación de Cliquet (1999), donde reporta que el máximo peso seco está asociado con la máxima producción de blastosporas; y este fue el caso del medio C. Rivas que logra una mayor producción de blastosporas, en este trabajo.

El peso seco final logrado para ambos medios fue muy diferente, el medio peptona con 15.5 g/L tiene superioridad sobre el medio M. Jackson con solo 2.3 g/L, la explicación sería según menciona Samsinakova (1966) en *B. bassiana* menciona que el peso seco en cultivos sumergidos a los tres días, no existe aumento sustancial en peso seco porque las esporas son formadas principalmente por la desintegración del micelio y estos pesan menos que las hifas; en cultivos aereales por ejemplo la producción de peso seco incrementa lentamente hasta el cuarto día cuando sube al máximo, y se logra en el noveno día de fermentación. Además es importante no olvidar que el rendimiento de biomasa y de producto representa la eficacia de la conversión del sustrato a biomasa y productos (Tabla VII y Figura 12).

Datos de peso seco con estos mismos medios de cultivo, son reportados por Lozano, (2001) a nivel matraz de 500 mL, donde el mayor rendimiento se observó en el medio M. Jackson con (11.5 g/L) y (7.7 g/L) en medio C. Rivas, en esta ocasión no se logró el mismo patrón porque el medio con mayor rendimiento fue el medio C. Rivas, sin embargo obtuvo mayor número de esporas al finalizar la fermentación; sin importar el medio de cultivo, siempre el rendimiento en un fermentador es mayor al obtenido en matraz, pero este dato es importante pues puede darnos un panorama de que se podría obtener en posteriores trabajos a nivel fermentador con este hongo (*P. fumosoroseus*).

Datos similares mencionan Gómez (1999), También en matraz con 3 medios de cultivo diferentes, con promedios de 15.6 g/L para el medio casaaminoácidos, 10.7 g/L con medio peptona y 6.2 g/L con un medio a base de melaza. La disminución en el peso en este último medio (melaza) se puede atribuir a que contiene gran cantidad de sólidos en suspensión, que al llevarse a cabo el proceso de filtración compiten en espacio con las blastosporas producidas, sin embargo, el medio M. Jackson y el medio C. Rivas son medios de cultivo con componentes altamente hidrosolubles y son eliminados casi totalmente al filtrarse, y se obtiene una muestra más representativa de la producción (Inch *et al.*, 1986).

Otro factor importante a considerar; es que sin importar que se trate del mismo microorganismo, el peso seco es diferente entre los medios de cultivo empleados. Debido a las fuentes de carbono y de nitrógeno que se utilizan para su elaboración contienen y/o pueden tener elementos indeseables (como por ejemplo: impurezas y/o elementos poco solubles), los cuales pueden contribuir en algún momento, aumentando el peso, de tal modo se ve alterado el resultado.

Esto lo observaron los siguientes trabajos: Thomas *et al.*, 1987 obtuvo 2.8 g de biomasa/L de *B. bassiana* con fructosa como fuente de carbono, Rombach, (1989) a nivel fermentador con este mismo hongo, uso un medio de cultivo líquido a base de sacarosa, maltosa y extracto de levadura, logra en su máxima producción solo 12.3 mg / mL. En (1997) Vidal *et al.*, uso tres diferentes medios de cultivo líquido, donde el crecimiento varia con el medio utilizado, la máxima producción de peso seco lo obtuvo después de 42 h de fermentación en el medio reportado por Jackson *et al.*, (1997) con $60.3 \pm 4.9 \text{ mg/mL}^{-1}$, medio Catroux (fuente de C con sacarosa) con $38.5 \pm 2.4 \text{ mg/m}^{-1}$ y Paris un medio semi-sintético con maltosa con $20.7 \pm 3.1 \text{ mg/mL}^{-1}$.

El resultado de k_{La} que muestran ambos medios de cultivo fueron valores "muy altos" (115.38 h^{-1} para ambos medios) se puede observar en la Tabla VIII; este valor se esperaba debido a la fermentación micelial que se realizó, y el k_{La} puede variar durante la fermentación por varias razones, principalmente por el aumento de la viscosidad, los problemas de espuma y el aumento de la concentración celular; los cuales se involucran cuando se trata de fermentaciones miceliales como en este caso. Aun así Quintero, (1981) reporta valores típicos de k_{La} para tanques agitados mecánicamente de 60 h^{-1} hasta 240 h^{-1} sin microorganismos de tal manera nuestros valores estarían dentro de un rango aceptable.

Investigaciones anteriores con este microorganismo (*P. fumosoroseus*) reportan valores de k_{La} a diferentes condiciones de r.p.m y vvm, donde en condiciones muy bajas de agitación (200 r.p.m y 0.5, 1 vvm) tiene 7.2 h^{-1} , 11.16 h^{-1} respectivamente mientras en condiciones de alta agitación (520, 590, 600 r.p.m 1 vvm) tiene 115.38 h^{-1} , 143 h^{-1} , 167.3 h^{-1} (Elías-Santos, 2002). Según Cliffe, (1997) el k_{La} depende de las propiedades físico - químicos del medio del biorreactor y de las propiedades físicas y condiciones de operación del recipiente. El valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La} puede ser controlado por las condiciones de agitación y el flujo de aire.

Por lo tanto al obtener y repetir el mismo valor de k_{La} 115.38 h^{-1} con las mismas condiciones de operación y medio de cultivo, en este estudio podríamos en futuras investigaciones tomar este valor para controlarlo durante todo el proceso; si se toma como ejemplo el trabajo de Bartholmew en (1950) el cual hace una manipulación de los coeficientes de transferencia de masa gas-líquido calculados utilizando la oxidación del sulfito de sodio a través de hacer cambios en la velocidad de flujo de aire, se obtienen varias concentraciones de penicilina a diferentes velocidades de agitación, aun mantiene el k_{La} constante. Lo anterior propone utilizar el k_{La} como un criterio de escalamiento, para nuestro proceso.

La viabilidad de los extractos obtenidos en el fermentador, almacenados a 4°C de ambos medios de cultivo estudiados se muestra en la Figura 14, con un porcentaje alto de viabilidad al inicio del trabajo, sin embargo al concluirlo después de 150 días de almacenaje las blastosporas obtenidas reportan una disminución de 59% para el medio C. Rivas y 65% para M. Jackson, datos similares reporta Quintero-Zapata (2001); después de secar las muestras por aire con 5 % de tierra de diatomeas la viabilidad se afectó ligeramente entre 85 % y 97 %, realizó viabilidad con las blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas en diferentes medios de cultivo (a base de harina de soya a diferentes concentraciones) donde la sobrevivencia al terminar su proceso fue de 90 a 100 % en todos los medios; por lo que después de 60 días disminuyó considerablemente en algunos casos hasta un 29 % y solo el medio control a base de casaaminoácidos logró una sobrevivencia del 75%.

Esta pérdida tan drástica después de secadas con la tierra de diatomeas que se observó en su experimento, no ocurrió en este trabajo posiblemente por el método empleado; ya que al usar la centrifuga (mini sharples) para el secado, las blastosporas se benefician de alguna forma, además del soporte utilizado en este caso (tierra de diatomeas). Según Hernández *et al.*, 1997 formularon conidias de *Paecilomyces* spp con polvos humectantes como tierra de diatomeas y bentonita logrando mantener la viabilidad del hongo, entre 90 y 99 % por 45 días.

Cabe mencionar que una limitante biotecnológica para el uso masivo de *P. fumosoroseus* es la baja viabilidad de las cepas y esporas en el medio ambiente. Por tal motivo, la preocupación constante radica en encontrar sistemas de producción y aplicación eficientes, que le permitan al hongo mantenerse por más tiempo en anaquel (Pereira, 2000). Una formulación comercial debe tener una germinación superior al 85% en un tiempo de incubación de 24 horas, ya que al asperjar en el campo el hongo debe tener un rápido efecto sobre la población del insecto que está atacando y un corto período de exposición a condiciones ambientales (Vélez *et al.*, 1997). Esto explica porque todos los tratamientos probados tuvieron un alto porcentaje de viabilidad en las primeras semanas; todas estas limitantes se pueden desaparecer al realizar la formulación adecuada y el empleo del soporte ideal, para cada microorganismo, lo cual nos puede llevar a muchos años de investigación y desarrollo.

Las muestras recuperadas de los medios en estudios se almacenaron a 4°C, por sugerencia de varios estudios, donde demuestran que las blastosporas de los hongos entomopatógenos se ven favorecidas a estas condiciones por ejemplo: Clerk y Madelin (1965) y Daoust y Pereira (1986) demostraron que la temperatura y humedad afectan el índice de sobrevivencia y germinación en *B. bassiana*; la temperatura afecta el porcentaje de germinación en las conidias y después afecta también la concentración de la unidad infectiva en el campo Walstad *et al.*, 1970; Jackson *et al.*, 1997 mencionan que la temperatura influye en la viabilidad de las blastosporas de *P. fumosoroseus* sobre todo almacenadas a 22 °C donde son poco viables después de 30 días; además Lozano, (2001) reporta porcentajes de

viabilidad con Pfr a 22 °C y 4 °C con los mismos medios de cultivo que este trabajo, después de 90 días los almacenados a 4 °C reporto un porcentaje alto de sobrevivencia, entre un 85 % y 70 % con el medio M. Jackson y medio C. Rivas respectivamente.

Después de 90 días aun se observa la buena germinación, con el medio M. Jackson el cual presenta una ligera ventaja. Debido a la identificación de ciertas condiciones nutricionales que ayudan a la producción y sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* en medios de cultivo líquidos, favoreciendo la tolerancia a la desecación (Jackson *et al.*, 1997, 1999) y se podría dar el caso con medio M. Jackson de este trabajo, el cual contiene una serie de elementos, los cuales podrían contribuir.

Según Steinhaus, (1960) las conidias almacenadas entre 4 °C y 8 °C permanecen viables de 1 a 3 años, en tanto almacenadas a temperaturas mayores como 21 °C disminuyen su viabilidad en pocos meses; este dato concuerda con lo reportado por Sandoval-Coronado *et al.*, 2001 donde la composición del medio, los soportes del secado y la temperatura de almacenaje tiene un alto impacto en la sobrevivencia de las blastosporas. Y reporta que bajo las condiciones de obtención de blastosporas Pfr 612, en matraces de 500 mL a 300 r.p.m en dos medios de cultivo (los mismos evaluados aquí), utilizando diversos soportes para su formulación, secado por el método de aire, y almacenados a dos diferentes condiciones, el medio M. Jackson (LM1) produce altas concentraciones de blastosporas que no solo sobreviven mejor al secado que las blastosporas producidas en medio C. Rivas (LM2) pero también mantiene la viabilidad a lo largo del almacenaje con las formulaciones y soportes probados por el (fécula de maíz, harina de arroz, talcos, una cal mexicana, una arcilla calcinada (Surround), tierra de diatomeas).

La naturaleza de un soporte secado mostró tener un significativo impacto en la estabilidad del almacenaje de todas las blastosporas particularmente aquellos producidos en LM1 bajo la producción, secado y almacenaje similar a las condiciones usadas en este, formulaciones almacenadas a 4 °C tiene mejor estabilidad de almacenaje en todas las formulaciones, que las blastosporas almacenadas a 28 °C. Se ha estimado en el caso de las conidias que necesitan permanecer viables al menos 7 semanas para ser utilizados como agente de control biológico (Clark *et al.*, 1968), considerando esta referencia la viabilidad de los productos recuperados en este trabajo superaría las perspectivas, por tener una germinación mayor del 50 % después de 5 meses de almacén, se logro empleando un método de separación por centrifugación y almacenados a 4 °C; Sin embargo Couch & Ignoffo (1981) sugieren que el tiempo de vida de un biopesticida debe ser de 12 a 18 meses, o 3 - 6 meses es requerido el patógeno para una aplicación en un tiempo específico.

Por lo que mejorando las condiciones de secado y trabajando la humedad relativa de los productos, se puede impactar en la estabilidad de los formulados almacenados de las blastosporas de *P. fumosoroseus* en estudios posteriores.

Uno de los factores que más afecta a los hongos son las altas temperaturas, por esta razón al almacenarlos por mucho tiempo se recomienda mantenerlos en refrigeración (Monzón 2001), como se realizó, pero como se aprecia en la Figura 15, durante las primeras semanas se observó la disminución constante de la germinación, hasta perderla en un periodo muy corto (menos de 2 meses), además de comenzar a presentar descomposición de las células, así como la presencia de contaminación, debido al manipuleo constante de estos tratamientos (Debido al muestreo semanal realizado).

Dado este resultado las blastosporas de emplearse así para el control de *B. argentifolii*, se deberá considerar su utilización inmediatamente (después de su proceso de fermentación), para su actividad insecticida; por un periodo corto aun contiene su efectividad, como se demuestra en los bioensayos realizados. Monzón, (2001) por ejemplo: menciona que la viabilidad de las conidias se mantiene mayor tiempo en la formulación líquida que en la sólida. En el caso de Stathers *et al.*, (1993) hace notar que se deberá considerar el tipo de ingrediente activo a utilizar, ya sean conidias aéreas, conidias sumergidas y blastosporas porque todas ellas poseen diferente estabilidad, y las blastosporas las menos estables. Estos detalles se aprecian, en este trabajo donde las blastosporas permanecieron poco viables durante su seguimiento.

De esta forma queda plasmada la necesidad de utilizar un soporte (por ejemplo: tierra de diatomeas) porque es un material muy usados para elaborar formulados, y es considerada como una alternativa estable y no toxica. Sin embargo en cantidades grandes puede causar efectos adversos sobre las propiedades físicas de los granos cuando es usado en áreas cerradas. (Golob, 1997, Korunic, 1998). Debido a que actúa como desecante, la tierra de diatomeas es más efectiva a baja humedad (Moore *et al.*, 2000). Ayudando así a las blastosporas del hongo par mantener alta su viabilidad.

Existen reportes en donde muchos hongos bajo condiciones extremas, la espora provee la fuente de Carbono a utilizar (Bidochka *et al.*, 1990). Desde el punto de vista de la fuente de Nitrógeno, el incremento en la reserva endógena en cultivos limitados de N pueden incrementar la sobrevivencia durante el almacenamiento (Lane & Trinci 1991), en este trabajo la fuente de Nitrógeno proporcionada (Peptona, Casaaminoácidos) por ambos medios era muy rica, lo cual pudo influir como un factor para elevar el tiempo de sobrevivencia de las blastosporas, y mostró más efecto el medio con casaaminoácidos como fuente principal de Nitrógeno, se observó ligera ventaja sobre el otro medio de cultivo.

Sin embargo el soporte utilizado puede ser también muy importante para la viabilidad como se observa en la Figura 15 donde el porcentaje de germinación disminuyo drásticamente.

Montemayor, (2004) reporta. La implementación de varios soportes, para realizar pruebas de viabilidad con blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas a nivel matraz con los mismo medios de cultivo que nuestro trabajo y empleo diferentes soportes: tierra de diatomeas 5 %, almidón de maíz modificado (capsul) 20 %, pectina 2 % y gelatina 2 %; posteriormente realizó la filtración del producto con una bomba de vacío y recuperado con papel Whatman N° 1. *P. fumosoroseus* con capsul, gelatina y pectina mostraron una estabilidad similar en los dos medios de estudio utilizados después del proceso de secado, mientras que con tierra de diatomeas una mayor estabilidad de sobrevivencia con su medio control (medio M. Jackson); a la vez de reportar baja viabilidad cuando las blastosporas contenían capsul; ya que el capsul es un polímero diseñado para el secado por aspersión, y este utilizado secado por aire a temperatura ambiente muestra resultados poco satisfactorios, sin embargo si consideramos otro método de secado para sobrevivencia de las blastosporas en un futuro se podría considerar hacer pruebas con en este polímero (capsul), usándolo para el cual esta diseñado.

Debido a los antecedentes mostrados anteriormente, se deberán considerar todos los factores que llevan a la elaboración de un bioinsecticida realmente efectivo, ya que este paso es importante para el éxito, el en el campo sobre la plaga a tratar, pues la sobrevivencia al proceso de desecación así como permanecer viables e infectivas durante un periodo de almacenamiento considerable seria el reto. Comenzando desde reformulando los medios de cultivo utilizados tratando que los nutrientes usados proporcionen mayor viabilidad, usando condiciones de agitación adecuadas que produzcan cantidades mayores del ingrediente activo (esporas) en un menor tiempo, economizando de esta forma el proceso, métodos de formulación y soportes inertes adecuados, para su sobrevivencia a la exposición de condiciones ambientales. Todo este conjunto de condiciones harán que el bioinsecticida producido, sea de gran utilidad y valor comercial para los agricultores.

7.2. DISCUSIÓN SOBRE LA EFECTIVIDAD BIOLÓGICA

Los resultados logrados con el medio C. Rivas de 80.52 % y el 76.3 % de mortalidad (por infección) a los dos días de la única aplicación puede ser un buen presagio, para lograr el éxito en el empleo de hongos entomopatógenos porque para ello se requieren de varios factores, destacando: 1) desarrollar la infección en los insectos, deberá haber una humedad relativa superior a 70 % con temperaturas entre 24 y 30 °C (Gallegos *et al.*, 2003) y se dieron las condiciones en este estudio 2) el hongo inicia la infección cuando la espora se pone en contacto con el cuerpo del insecto (Lezama *et al.*, 1997) en este caso la aplicación y los productos ayudaron a estar en contacto por lo tanto infecto más rápido. Estos factores también se pudieron dar en el producto comercial (Specificik®) con 72.44 %, se puede observar en la Tabla X.

Mortalidades más altas reporta McCoy, (1991) con concentraciones más bajas que las usadas en este trabajo, determino que las ninfas de la mosquita blanca son aniquiladas en concentraciones de 10^6 esporas/mL por el hongo *P. fumosoroseus*, causando mortalidades de 90 % a las 72 horas de haber sido aplicado el patógeno. Asimismo lo determina como un agente capaz de atacar todos los estados biológicos de la mosca blanca *B. tabaci*, concluyendo que este patógeno presenta un gran potencial como control microbial de la plaga.

Conclusiones similares reporta Lindquist, (1993) al evaluar una concentración de 10^8 esporas/mL aplicado sobre hojas de nochebuena infestadas con todos los estados de desarrollo de la mosquita blanca. Además menciona que el parasitoide Encarsia (enemigo natural) es inmune al hongo y la eficacia de este es estable, siempre y cuando se mantenga una humedad relativa superior a 80 %.

Nava *et al.*, (2001) mencionan que el control químico de mosquita blanca es difícil de lograr para diversas razones destacando su capacidad a desarrollar rápidamente resistencia a la mayoría de los grupos tóxicos de insecticidas. Cabe mencionar que en esta zona se tiene tiempo aplicando este producto químico, dándose esta posible resistencia. En el (2002), Guerrero realizó una evaluación de la efectividad de hongos entomopatógenos e insecticidas convencionales en el control de *B. argentifolii* en cultivos de melón, reportando de los diversos insecticidas empleados (entre ellos Endosulfan), el mejor fue el Pymetrozine (Plenum) logrando una reducción de la infestación en un 79.2 % y el resto de los insecticidas tuvieron densidades promedio de mosquita blanca estadísticamente iguales al testigo sin tratar.

Se podría pensar que la aplicación de la formulación líquida sería más efectiva, ya que cuenta con el ingrediente activo directo y sin ningún conservador, estudios recientes muestran lo contrario, la implementación de diversos protectores (adyuvantes) ayudan a la sobrevivencia de las blastosporas hasta estar en contacto con el insecto. Y este puede ser un factor importante para que la formulación líquida (Caldo de fermentación) no mostrara en ambos tratamientos (M. Jackson y C. Rivas) los resultados esperados.

Durante (1998) Jackson *et al.*, reportan los primeros resultados de efectividad con blastosporas y conidias aereales de *P. fumosoroseus* contra el afido ruso del trigo, producidas en medio líquido usando el método descrito por Jackson *et al.*, 1997. Las suspensiones de hongos fueron atomizadas en los afidos sobre hojas de cebada fijas en una superficie de agar, inoculando 5×10^4 esporas/mL presentaron solo 57 % de micosis usando las blastosporas frescas, mientras que las blastosporas secadas por aire solo 44 %, las cuales comparándolos con los resultados observados durante el primer muestreo, están bajo los mismos rangos.

Con la formulación líquida (Caldo de fermentación), las tres dosis de muestran un rango de mortalidad (ninfas infectadas) entre 40 % y 55 %, presenta poca efectividad, considerando que se busca al aplicar los bioinsecticidas una alta infestación en un menor tiempo. Aun así los resultados logrados en este estudio muestran un porcentaje mayor de ninfas infectadas, que el reportado por Esquivel (2002), donde utilizó el producto comercial Pae-sin[®] (*P. fumosoroseus*) en condiciones de invernadero y bajo condiciones favorables (Temperatura 23 °C y Humedad relativa 75 %) para la infección del hongo, la dosis baja mostró efectividad solamente del 13.1 % de ninfas infectadas, también mencionan que la relación con el periodo de infección de ninfas se observo que es hasta 3 días después de la aplicación cuando aparecen los primeros efectos y posteriormente el grado de infectividad se incrementa, teniendo en cuenta este dato nuestro tratamiento mejora las perspectivas.

Al parecer la formulación líquida del medio C. Rivas, presenta un proceso de infección más rápido, Este comportamiento no se logra en la formulación en polvo, la cual empieza a perder efectividad en esta fecha, a pesar de que la dosis media al principio cuenta con un porcentaje alto. Fargues *et al.*, 1994; Jackson *et al.*, 1997 mencionan que bajo condiciones de campo, los requerimientos de humedad representan una significativa restricción para la eficacia del biocontrol, la rápida germinación producida por blastosporas en cultivos líquidos debería aumentar la capacidad de estos propágulos para infectar y matar *B. argentifolii* y otros insectos plagas, pero no se observa este beneficio, por otro lado se pudo dar el factor que determino Thomas *et al.*, 1987, el cual las blastosporas tienen un corto tiempo de vida y poco sobreviven a condiciones adversas, que pueden llevar a baja efectividad de este tratamiento.

Osuna-Paéz (2003) realizó un trabajo con propágulos de cultivo sumergido, conidios aéreos, propágulos de cultivo sumergido más el caldo de fermentación, solo caldo de fermentación y un testigo absoluto, realizando 8 aplicaciones cada 4 días, donde los mejores resultados fueron los conidios aéreos (5×10^{13} conidios/ha) y los propágulos de cultivo sumergido más el caldo de fermentación (6×10^{11} propágulos/ha), sin diferencias significativamente. Al día 33 del experimento, los porcentajes de mortalidad totales producidos por los conidios aéreos y propágulos de cultivo sumergido (3×10^{11} propágulos /ha) fueron 83 ± 14 y $71 \pm 22\%$, respectivamente, sin que hubiese diferencia significativa en los índices de infección.

Los propágulos de cultivo sumergido fueron tan virulentos contra las ninfas de mosquita blanca como sus conidios aéreos. Un efecto semejante se logra en este estudio; pero podría mejorar (incrementando el porcentaje de mortalidad) si se realizaran más aplicaciones de los productos, así como lograr conservar las condiciones ideales de Humedad relativa y Temperatura las cuales son factores presentes en campo. El testigo biológico (Specifik®) muestra una reducción considerable de efectividad en el (2003) Soto tiene la misma tendencia de disminución al avanzar el tiempo de muestreo, pero sobre adultos de mosquita blanca en hojas de melón, donde el bioinsecticida comercial fue Pae-sin® (*P. fumosoroseus*) cuya composición cuenta con *P. fumosoroseus*, diluyentes y protectores solares (U.V.) después de dos aplicaciones reduce la densidad de adultos después de la primera aplicación, del 7.5 al 49.9 % con respecto a su testigo sin tratar. Debido a que Specifik® causa mortalidad en diferentes estadios de desarrollo del insecto, que se generan en un lapso de 48 a 72 h una vez que las esporas entren en contacto con el insecto, comienza a partir de las 72 h, y existiendo las condiciones óptimas de humedad, el fabricante recomienda varias aplicaciones, una segunda a partir de los 6 días después de su aplicación y las siguientes según la disminución de la plaga (www.naturalmentepuresa.com visitada en 2005). Esto pudo ser la causa de disminución y la pérdida de efectividad tan rápida.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La mezcla de Endosulfan + Rescate 20 PS presenta 31.76 % de ninfas muertas al cuarto día, lo que indica la pérdida de efectividad en contra de *B. argentifolii* sobre este cultivo (Tabla XI), como se menciona anteriormente la aplicación de insecticidas químicos provoca el desarrollo de poblaciones resistentes, debido a lo lento del proceso de infección que se da con los bioinsecticidas, y a los problemas que puede causar los productos químicos a pesar de actuar más rápido, se podría recomendar la unión de los dos productos como menciona Ávila-Valdez (2000) donde obtiene buenos resultados en el control *B. tabaci* sobre cultivos de tomate, al unir una dosis de Endosulfan (1.0 dosis/ha) + *B. bassiana* (Bea-sin®) (1.0 L/ha), obtiene valores aritméticos similares a los biológicos, mostrando que se puede utilizar el control químico combinado con un insecticida biológico con buenos resultados, con la ventaja de que se está disminuyendo el volumen de ingrediente activo del Endosulfan al 50 %.

En el control de mosquita blanca se reporta la utilización de conidios aéreos (Avilés, 1995) como los propagulos de cultivo sumergido (Butt *et al.*, 1999; Wraight and Carruthers 1999; Wraight *et al.*, 2000); Mientras algunos autores como Fargues *et al.*, 1994 reportan las blastosporas de la cepa 32 de *P. fumosoroseus* aplicadas en dosis de 3×10^3 propagulos/cm² son más virulentas sobre *Spodoptera frugiperda* que los conidios; Por otro lado Vandenberg *et al.*, 1998 reportaron sin diferencias significativas la virulencia de los conidios aéreos y blastosporas, en bioensayos realizados en laboratorio con las cepas 4461, 4491, 4501 y 612 de *P. fumosoroseus*, aplicando dosis de 5 mL con 5×10^4 propagulos/mL sobre adultos de *Diaraphis noxia* Mordvilko.

Lacey *et al.*, 1999 no encontraron diferencias significativas en la virulencia de blastosporas y conidios aéreos de la cepa Pfr-42, que produjeron mortalidades de 68 y 59 %, respectivamente, aplicando 3.8×10^3 propagulos/cm² sobre ninfas de *B. argentifolii* (Bellows & Perring); sin embargo, bajo condiciones similares, estos autores encontraron que las blastosporas de la cepa Pfr97 fueron significativamente más virulentas que sus conidios aéreos, reportando mortalidades de 77 y 27 % respectivamente.

P. fumosoroseus ha tenido gran aceptación dentro de la investigación diversos estudios reportan la efectividad de este hongo solo, o en combinación con otros elementos. Un ejemplo será el uso de *P. fumosoroseus* a partir de cepas nativas donde se reporta hasta un 70 % de control en poblaciones de mosca blanca de invernadero (Sánchez, 1997), así como en bioensayos, con mortalidades del 50 al 80% (Carruthers *et al.*, 1993) su mayor aplicación, sin embargo ha sido como formulados comerciales, con porcentajes de control hasta del 90 % tanto en ninfas de invernadero (Pérez *et al.*, 1999) como en poblaciones de campo donde su uso tiende a incrementarse (Gutiérrez *et al.*, 1996).

De acuerdo al historial de aplicación química contra la mosquita blanca los primeros tóxicos usados fueron cianuro de sodio y el cianuro de calcio (Morrill, 1905; Weigwl, 1925). Posteriormente Holdway, (1945) reporto como efectivos el DDT a dosis de 20 % y la emulsión de aceite blanco comercial, Wilson, (1946) utilizo aspersiones de DDT al 0.1 % y encontró que el insecticida fue efectivo contra todos los estados inmaduros del insecto. Duarte menciona en (1956), que la mosquita blanca era susceptible a los insecticidas organoclorados y organofosforados, por lo que recomendó hacer espolvoreos con una mezcla de insecticidas DDT al 10 % con Paratión metílico al 2 % o este último más Toxafeno al 20 %. En lo que se refiere a la zona aldononera del Soconusco Chiapas, el control de la mosquita blanca se realizaba con Paratión etílico, pero después se efectuó un ensayo en el ciclo 1969-1970, resultando más prometedores el Carbaril, Fosfolán, Monocrotofos, Naled y Oxidemeton metílico (Espinosa, 1970).

Si se toma en cuenta este historial no debería sorprendernos los resultados obtenidos, por la poca efectividad del Endosulfan + Rescate 20 PS, donde al tercer muestreo (Tabla XII) después de seis días de la aplicación logra 42.04 % de mortalidad; Además se ha estimado que a nivel mundial el desarrollo de plagas resistentes a pesticidas ha ido en aumento y en la actualidad se tienen aproximadamente mil especies de organismos plaga que son inmunes a plaguicidas químicos (Wood *et al.*, 2000).

Otro factor de la poca efectividad del Endosulfan pudo haberse dado según Pacheco 1990 citado por Nava *et al.*, 2001 por lo siguiente; 1) Tanto los estadios inmaduros como los adultos se localizan en el envés de la hoja, encontrándose bien protegidos de las aplicaciones convencionales, 2) los estados inmaduros son sésiles (excepto el primer instar durante un periodo de tiempo corto), moviéndose alrededor de la planta y no incrementan su exposición a los tóxicos, 3) el aumento de tolerancia a los insecticidas por las ninfas grandes (susceptibilidad diferencial), 4) Y sobre todo la capacidad de las mosquitas blancas de desarrollar rápidamente resistencia a la mayoría de los grupos toxicológicos de insecticida; señalado anteriormente.

Si se toma en cuenta el ciclo biológico de *B. argentifolii* que se alcanza en un rango de 18 a 31 días; bajo las mismas condiciones de hospedero y temperatura de desarrollo (Bethke, 1991). Y se compara con nuestros resultados, se deberá resaltar que al final de estudio solo se llevo a cabo en un periodo de 8 días, en los cuales se logro reducir la población de mosquita blanca, por consiguiente se podrá tener un control total al utilizar los mejores tratamientos de este, debido a que *P. fumosoroseus* cepa 612 solo tarda entre 48 y 72 h en germinar, como se observo desde la primera fecha de muestreo después de 48 h de su aplicación apareciendo los valores altos de infección, de esta forma se consigue reducir su ciclo biológico.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

8. CONCLUSIONES

1. Se logro obtener una concentración final de 2.3×10^{10} blastosporas/mL con el medio C. Rivas y 2.7×10^8 blastosporas/mL en el medio M. Jackson.
 2. La producción de blastosporas en la fase log se logra en un tiempo de 36 h en medio C. Rivas, menor que en el medio M. Jackson de 60 h.
 3. Se obtuvo el mismo k_{La} de 115.38 h^{-1} en ambos medios de cultivo.
 4. La viabilidad de las blastosporas se mantuvo más alta (65%) en el medio M. Jackson que las obtenidas en el medio C. Rivas (59%), durante un tiempo de (150 días), almacenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y con el soporte (tierra de diatomeas).
 5. La viabilidad de las blastosporas se ve favorecida en un 20 % con el soporte de tierra de diatomeas, en ambos medios de cultivo.
-
6. El control de *B. argentifolii* es más efectivo con las formulaciones de las blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas con los dos medios de cultivo estudiados (M. Jackson y C. Rivas), respecto a la productos comerciales (Specifik® y Endosulfan).
 7. Las formulaciones con blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas en el medio C. Rivas fueron 100 % más efectivas y con mayor poder residual sobre el cultivo de algodón, que las obtenidas en el medio M. Jackson.
 8. El control de *B. argentifolii* sobre el cultivo de algodón fue efectivo con blastosporas de *P. fumosoroseus* producidas en el medio C. Rivas, con formulaciones tanto en polvo como líquido, actuando más rápido sobre los demás tratamientos probados M. Jackson, Specifik®, y Endosulfan.

9. RECOMENDACIONES

- Se propone para posteriores estudios esta correlación para determinar el $k_{L,a}$ ($k_{L,a} = K' (P/V)^a Vg^b \eta^{-\gamma}$) debido a la alta viscosidad que tiene el medio. La viscosidad de los medios de cultivos utilizados aquí, no fue considerada para determinar su $k_{L,a}$, con esta nueva correlación se podrá obtener valores de transferencia de oxígeno tomando en cuenta la potencia por unidad de volumen, velocidad superficial y viscosidad del medio.
 - Realizar el escalamiento (mayores de 100L) del bioproceso, tomando como factor de escalamiento el coeficiente de transferencia de oxígeno ($k_{L,a}$).
 - Probar el potencial el formulado con el medio C. Rivas, contra otros insectos blancos.
 - Probar diferentes condiciones de secado para incrementar la sobrevivencia de las blastosporas de *P. fumosoroseus* obtenidas en el medio de cultivo C. Rivas.
-
- Determinar la ventana de respuesta del insecto al tóxico (el hongo).
-
- Realizar evaluaciones con el mejor tratamiento (C. Rivas) a un nivel comercial. ®
 - Probar un rango más amplio de dosis de los formulados.
 - Continuar con las aplicaciones del producto, sobre otros cultivos que sean afectados por *B. argentifolii*.

10. LITERATURA CITADA

Aiba ST. 1971. Comments on oxygen transfer within a mold pellet. *Biotechnology and Bioengineering*. 13:583-592.

Agudelo F, Falcon L. 1983. Mass production, infectivity and field application studies with the entomopathogenic fungus *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 42: 124-132.

Anónimo 1993. Un hongo que parece controlar a la mosquita blanca. En: *Hortalizas, frutas y flores*. Editado en el 2000. D.F., México, 4:31.

Ávila-Valdez J. Hinojosa-Reyes I. 2000. Evaluación de la efectividad biológica de dos formulaciones comerciales de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* en poblaciones de mosca blanca *Bemisia tabaci*, Genn. (Homoptera:Aleyrodidae) en el sur de Tamaulipas. En: *Memorias XXIII Congreso Nacional de Control Biológico*. Noviembre 2000. pp.119-121.

Avilés M. 1995. Evaluación de Pae-sin (*Paecilomyces fumosoroseus*) contra *Bemisia* spp. En cultivos de tomate de Valle de Culiacán. Informe técnico CIRNO-INIFAP-VC/95 pp. 46-49.

Bartholmew WH. 1950. Oxygen transfer and agitation in submerged fermentation. *Industrial Chemistry and Engineering*. 42:2802-2809.

Bateman, RP. 1995. Formulation and application of mycopathogens for locust and grasshopper control. Lomer (eds). New York, USA, pp. 67.

Bland CE, Couch, JN, Newell, SY. 1998. Identification of *Paecilomyces saprolegniales* and *lagenidiales*. pp. 129-158.

Belova RN. 1979. Development of the technology of Boverin production by the submersion method. Proc First joint US/USSR. Conference of the production, selection and standardization of entomopathogenic fungi of project V, Microbiological control of insect pest of the US/USSR Joint Working Group on the production of Substances by Microbiological Means (SSR); 102-119.

Bethke JA. 1991. Comparative biology, morphometrics, and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. In: *Annals of the Entomological Society of America*. Vol 84. pp 407-411.

Bidochka MJ, Low NH, Khacatourians GG. 1990. Carbohydrate storage in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(10): 3186-3190.

Bisaria V, Panda A. 1991. Large-scale plant cell culture: methods, applications and products. *Current Opinion Biotechnol* 2:370-374.

Bolívar FZ. 2004. Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna. Editorial El Colegio Nacional. México. pp. 219-230.

Boyetchko S, Pedersen E, Punja Z, Reddy M. 1998. Formulations of Biopesticides. Hall F.R. & Barry JW. Editors in *Methods in Biotechnology*. Humana Press, Totowa, N. J. Vol. 5:487-508.

Bujalski W, Cox PW, Thomas CR, Nienow AN, Priede MA, Viesturs UE. 1997. Mixing in fungal (*A. niger*) fermentations using dissimilar impeller systems. *Procc. 4th International conference on Bioreactors & Bioprocess fluid dynamics*. Nienow AW. (Ed) Edinburgh, UK. pp. 9-25.

Bunnell JE. 1995. Isozyme analysis of *Paecilomyces farinosus* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) two potential biological control agents of the sweet potato and silverleaf whiteflies (*Bemisia* spp). Thesis (Master of Science). Montana State University. Montana, U.S.A. pp. 79.

Bustillo A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: *seminario Uso de entomopatógenos en Colombia*. Sociedad Colombiana de entomología. Bogota. pp. 30-53.

Butt TM, Harris JG, Powell KA. 1999. Microbial Biopesticides: The European Science. In: *Biopesticides "Use and Delivery"*, Hall FR and Menn JJ (eds). Humana Press. Totowa. New Jersey. USA. pp. 23-24.

Calderbank PH. 1967. Mass transfer in fermentation equipment. *Biochem and Biol. Eng. Sc.* N. Blakebrough, (Ed) Academic Press. New York. 1:101.

Cano-Ríos P, Ávila-García MR, Nava-Camberos U, Sánchez-Galván H, López-Ríos E, Rangel-Santos M, Blanco-Contreras E, Jiménez-Ríos F. 2001. Plantas hospederas de la mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) (Homóptera: Aleyrodidae) en la comarca lagunera, México. 40 (1): 53-65.

Casamayor A. 1998. Control Microbiológico de las Plagas. Instituto Albert Einstein. Venezuela. pp. 56.

Castrillo LA, Wiegmann BM, Brooks WM. 1999. Genetic variation in *Beauveria bassiana* populations associated with the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Journal Invertebrate Pathology*. 73:269-275.

Carruthers RI, Wraight SP, Jones WA. 1993. An overview of biological control of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. Proceeding Beltwide cotton conferences 46th cotton insect research and control conference. pp. 680-685.

Clark TB, Kellen WR, Fukunda T, Lindengren E. 1968 Field and laboratory studies on the pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to three genera of mosquitoes. *Journal Invertebrate Pathology*. 11:1-7.

Clerk GC, Madelin MF. 1965. The longevity of conidia of three insect-parasitizing hyphomycetes. *Transactions of the British Mycological Society*. 48:193-209.

Cliffe K. 1997. Biorreactores. En: *Biología para ingenieros. Sistemas biológicos en procesos tecnológicos*, Scragg A (Editor). Editorial LIMUSA. México. pp. 287-309.

Cliquet S, Jackson MA. 1999. Influence of conditions on production and freeze-drying tolerance of *Paecilomyces fumosoroseus* blastospores. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 23: 97-102.

Cooper CM, Ferstron GA, and Miller SA. 1944. Performance of agitated Gas-Liquid Contractors. *Industrial Engineering Chemistry*. 36:504.

Couch TL, Ignoffo CM. 1981. Formulation of insect pathogens. In: *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. Burges HD (ed). Academic Press, New York. pp. 621-634.

Cui YQ, Yan der Lans RG, Luyben K, CH.A.M. 1998. Effects of dissolved oxygen tension and mechanical forces on fungal morphology in submerged fermentation. *Biotechnology Bioengineering*. 57(4):409-419.

Crueger W, Crueger A. 1989. *Biotechnology A textbook of Industrial Microbiology*. Second Edition. New York, USA, pp. 77-79.

Damsteegt VD. 1999. New and emerging plant viruses. *American Phytopathological Society Net*. pp. 1-12.

Daoust RA, Pereira RM. 1986. Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metharizium anisopliae* on beetle-attracting tubers and cowpea foliage in Brazil. *Environmental Entomology*. 15:1237-1243.

De la Rosa RW, López MM. 1998. Producción de unidades infectivas de *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliceae) en medios líquidos y determinación de parámetros de control de calidad de productos biológicos. Memoria. XX1. Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Tapachula Chiapas. pp. 244-246.

De la Torre M, Cárdenas Cota HM. 1996. Production of *Paecilomyces fumosoroseus* conidia in submerged culture. Entomophaga. 41:443-453.

De Quattro JD, Senft D, Wood M. 1997. The whitefly plan 5-year update. Agricultural Research. 6:4-12

Eliás-Santos M. 2002. Efecto de las Condiciones Operacionales en la producción de *Paecilomyces fumosoroseus* cepa 612 en cultivo sumergido. Tesis (Doctorado). Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. pp. 5-64. [inédita]

Esquivel GE. 2002. Efectividad de insecticidas a base de hongos entomopatógenos para el control de mosquita blanca del melón en la Comarca lagunera. Tesis (Maestría). Universidad FAZ-UJED pp. 60.

Espinosa CP. 1970. Ensayo de insecticidas sobre la mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Genn). En el cultivo de algodónero, región de Soconusco, Chiapas. Tesis (Licenciatura), México.

Fargues J, Maniania NK, Delmas JC. 1994. Leaf consumption of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogens *Beauveria bassiana*. Journal of invertebrate Pathology. 64:173-178.

Fargues J, Rougier M, Goujet R, Smits N, Coustere C. 1997. Inactivation of conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* by near-ultraviolet (UVB and UVA) and visible radiation. Journal of invertebrate Pathology. 69:70-78.

Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current status. Biocontrol Science and Technology. 4:3-34.

Feren CJ. 1969. The relationship between critical oxygen level and antibiotic synthesis. Biotechnology and Bioengineering. 11:583-587.

Ferron P. 1978. Lutte biologique contre les insectes ravageurs des culture au moyen de champignons entomopathogenes. L4- Agro-436, B. T. I. pp. 332-333.

Ferron P. 1981. Pest control by *Beauveria* and *Metarhizium*. Burges, H. D. (eds). Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Academic Press, New York. pp. 465-482.

Ferron P. 1985. Fungal control. *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. GA. Kerkurl, LT. Gilbert (eds). Pergamon Press, U.K. Vol. 12: 214-346.

For DE. 1972. Mixing times in Newtonian and Non-Newtonian fluids. *Chemical Engineering Science*. 17: 803-807.

Flores C, Larralde P, Serrano CL, Galindo E. 1997. Morfología y crecimiento de *Trichoderma harzianum* cultivado bajo diferentes condiciones hidrodinámicas. Departamento de bioingeniería. Instituto de biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos.

Frang, OV., Zho, Hu Yum. Yangand SF. Gong 1985. Selection and cultivation of enforced strain of *Paecilomyces fumosoroseus* to control *T. vaporarium* inst. *Plant. Protection*. Begin Acad. Agris For. Sci. China.

Frasen, J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi pp. 187-211. In: *Whiteflies: their biomics, pest status and management*. Gerling D (ed). Intercept, U.K. pp 187-205.

Galindo EF. 1985. Polisacáridos microbianos. En: *Prospectiva de la Biotecnología en México*, Quintero R (ed). CONACYT. FJBS. México D.F., pp. 65-92.

Galindo EF. 1993. Mezclado y Transferencia de Oxígeno en Fermentadores. En: *Curso de Biorreactores*. Galindo EF y Quintero R (eds). Instituto de Biotecnología. UNAM: Cuernavaca, México, pp. 2-18.

Gallegos MG, Cepeda SM, Olayo PR. 2003. *Entomopatógenos*. Editorial Trillas. México. pp.79-80.

García SJ, Gutiérrez BA. 1998. Impacto de *Paecilomyces fumosoroseus* contra la mosca blanca *Bemisia tabaci* en Quintana Roo. In: *Memorias XXI Congreso Nacional de Control Biológico*. Del 5 al 6 de Noviembre. Rio Bravo, Tamaulipas, México pp. 189-192.

Garza GE. 1996. Control microbiano de plagas agrícolas en México. En *Memorias del II Curso Taller de Producción Masiva de Agentes de Control Microbiano*, SMCB, Tecomán, Colima. pp. 1-5.

Gill RJ. 1990. The morphology of whiteflies. In: *Whiteflies: their bionomic, pest status and management*, Gerling (ed). Andover, Intercept, UK, pp. 13-45.

Golob P. 1997. Current status and future prospects for inert dusts for control of stored product insect. *Journal of Stored Products Research*. 33:69-79.

Gómez M B. 1999. Producción de blastosporas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en dos diferentes medios de cultivo líquidos. Tesis (Licenciatura). Facultad de ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. pp. 16. [inéedita]

Guerrero PJ. 2002. Evaluación de la efectividad de hongos entomopatógenos e insecticidas convencionales en el control del pulgón del melón (*Aphis gossypil* GLOVER) y mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) en el cultivo del melón (*Cucumis melo* L.). Tesis (Licenciatura). Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".

Gutiérrez J, Grueninger KK Martinez J. 1996. Naturalis-L insecticida biológico a base de *Beauveria bassiana* In: Arredondo B. H, Jones WA, Alatorre RR. (eds). XIX Congreso Nacional de Control Biológico Simposium: control biológico de mosquita blanca Culiacán, Sinaloa. pp. 44-45.

Gunnarsson SG. 1988. Infection of *Schistocerca gregaria* by the fungus *Metarhizium anisopliae*: cellular reactions in the integument studied by scanning electron and light microscopy. *Journal of invertebrate Pathology*. 52:9-17.

Gupta SC, Leathers TD, El-Sayed, GN, Ignoffo CM. 1994. Relationships among enzyme activities and virulence parameters in *Beauveria bassiana* infections of *Galleria mellonella* and *Trichoplusia ni*. *Journal of invertebrate Pathology*. 64:13-17.

Hajek, AE. 1993. New Options for insect control using fungi. Lumsden (ed). American Chemical Society. Washington, pp. 54-62.

Hernández VV, Berlanga PA. M. 1996. Control microbiano con hongos entomopatógenos. CNRB (Ed). II Curso de actualización de control biológico. 28 – 29 de Noviembre de 1996. pp. 94–106.

Hernández V V, González GM, Berlanga PA. 1997. Control microbial de mosquita blanca con *Paecilomyces* spp. Memoria del Simposium sobre control biológico de la mosquita blanca. Tapachula, Chiapas. pp. 36.

Holdaway FG. 1945. Research on data for the control of the agriculture insects in Hawaii. In: Proc. Hawaii ent. Soc., Vol. 12. pp. 302-308.

Hudcova V. 1989. Gas-Liquid dispersions with dual Rushton turbina impellers. *Biotechnology and Bioengineering*. 34:617-628.

Humber RA. 1992. Collection of entomopathogenic fungal cultures: Catalog of strains, 1992. U.S. Department of agriculture – Agricultural Research Service, ARS. USA, pp. 110-117.

Humphreys AM, Matewele P, Trinci APJ. 1989. Effects of water activity on morphology, growth and blastospore production of *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus* in batch and fed-batch culture. *Mycological Research* 92(3):257-264.

Humphreys AM, Matewele P, Cunliffe B, Trinci PA. 1990. Comparisons of sporulation of *Paecilomyces farinosus* and *Beauveria bassiana* in batch and fed-batch culture. *Mycological Research*. 94:1046- 1050.

Jackson M, McGuire M, Lacey L, Wraight S. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycological Research*. 101(1): 35-41.

Jackson M, Lacey LA, Vandenberg JD. 1998. Relative efficacy of blastospores and aerial conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* against the Russian wheat aphid. *Journal of Invertebrate pathology*. 72: 181-183.

Jackson MA. 1999. Method for producing desiccation tolerant *Paecilomyces fumosoroseus* spores. U.S. Patent # 5,968,808. Oct.19.1999.

Justen P, Paul GC, Nienow AW, Thomas CR. 1996. Dependence of mycelial morphology on impeller type and agitation intensity. *Biotechnology Bioengineering*. 52(6):672-684.

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

Karow EO. 1953. Oxygen transfer and agitation in submerged fermentations. *Agriculture and Food Chemistry*. 1:302-307.

Korunic Z. 1998. Diatomaceous earths a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research*. 35:87-97.

Inch JM, Humphreys MA, Trinci PJ, Gillespie T. 1986 Growth and blastospore formation by *Paecilomyces fumosoroseus*, a pathogen of brown planthopper (*Rilaparvata lugens*) *Transactions of the British Mycological Society*. 87(2):215-222.

Inglis GD, Duke GM, Kawchuk LM, Goettel MS. 1999. Influence of oscillating temperatures on the competitive infection and colonization of the migratory grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. *Biological Control*. 14: 111-120.

Lacey LA, Goettel MS. 1995. Current developments in microbial control of insects pests and prospects for the early 21st Century. *Entomophaga* 40:3-27.

Lacey LA, Kira AA, Millar L, Mercadier G, Vidal C. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera:Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. *Biocontrol Science and Technology*. 9:9-18.

Lane BL, Trinci PJ, Gillespie AT. 1991 Endogenous Reserves and Survival of blastospores of *Beauveria bassiana* Harvested from Carbon and nitrogen limited batch cultures. *Mycology Research* 95: 821-828.

Latgé JP, Jall RA, Cabrera RI, Kerwin JC. 1986. Liquid fermentation of entomopathogenic fungi. In: Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology. Samson R.A, Vlack J.M. and Peters D (eds). Fourth International Coloquio of Invertebrate Pathology, Wageningen, Netherlands.

LeGry GA, Solomon GL. 1977. Patent application. pp. 231-238.

León RM, Sánchez JB. 1996. Monitoreo regional de Mosca Blanca en algodónero y toma de decisiones. DDR 002, Río Colorado 1996. En: Memorias II Reunión Binacional sobre control de la mosquita blanca y otras plagas de algodónero". Publicación especial No. 5. Mexicali B. C. México. pp. 25-31.

Lezama GR, Molina OJ, Rebolledo DO. 1997. Evaluación de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga de importancia agrícola. En: Memoria del XX Congreso Nacional de Control Biológico. pp. 220-226.

Lezama-Gutiérrez R. 2002. Aplicación y evaluación de hongos entomopatógenos en plagas de hortalizas. En: Memorias XXV Congreso Nacional de Control Biológico. pp 88-92.

Linek, V, Sinkule, J. 1991. The influence of gas and liquid axial dispersion an determination of k_{La} in fermentors. *Biotechnology and Bioengineering*. 38: 323-330.

Lindquist KR. 1993. Biological control of *Bemisia tabaci*. First annual review of the 5-year national research and action plan for development of management and control of the sweetpotato whitefly. *EUA*. pp. 111.

Liu TX, Stansly PA. 1998. Life history of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae). *Florida Entomologist*. 81: 437-444.

López CA. 1994. Efectividad de insecticidas biorracionales en adultos y ninfas de la mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) en melón en la región de Caborca, Sonora. In: Memoria Científica, mosquita blanca en el noreste de México. pp. 43.

López-López EV, Chavarria-Hernández N, Fernández-Sumano P, De la Torre M (2000). Fermentation processes for bioinsecticide production. An overview. *Recent Res. Devel. Biotechnol & Bioeng.* 3:1–20.

Lozano MC. 2001. Producción de blastoesporas de *Paecilomyces fumosoroseus* cepa 612 en dos medios de cultivo a nivel matraz y biorreactor de 14 litros. Tesis (Licenciatura). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. [inédita]

Lumsden RD, Lewis JA, Fravel DR. 1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens. In: *Biorational Pest Control Agents: Formulation and delivery.* Hall FR & Barry J W (eds). American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 362-366.

Malsam, O. Kilian, M., Hain R., Berg D. 1997. Fungal Insecticides. In: *Fungal Biotechnology.* Anket (eds). USA., pp. 27-37.

Makgianser HY, Ayazi Shamlou P, Thomas CR, Lilly MD. 1993, The influence of mechanical forces on the morphology and Penicillin production of *Penicillium chrysogenum*. *Bioproc. Eng;* 9: 83-90.

Medrano RH. 1992. Estudio sobre los parámetros de fermentación de importancia industrial durante la propagación de *Bacillus thuringiensis* var. *Kumamotoensis* C-4 para producción de Bioinsecticidas. Tesis (Doctoral). Facultad De Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. pp. 16-18.

Metz B Kossen NW, Van Suidam JC. 1979. The rheology of mould suspensions. *Advances in Biochemical Engineering.* 11:103-150.

McAuslane HJ. 1996. Influence of leaf pubescence on ovipositional preference of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on soybean. *Environmental Entomology.* 25:834-841.

McCoy CW. 1974. Fungal pathogens and their use in the microbial control of insects and mites. In: "Proceedings of the Summer Institute on biological control of plants insects and diseases". Maxwell FG. y Harris FA (eds). University Press of Mississippi. U.S.A., pp 564-575.

McCoy CW. 1990. Entomopathogenic fungi as microbial pesticides. *New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases.* Lis, New York. pp. 13-159.

McCoy CW. 1991. Potencial for controlling the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* with the fungus *Paecilomyces fumosoroseus* in IV Colloquium. International of invertebrate Pathology and microbial control symposium. Vol. 23 pp. 386-390.

Malloch D. 1997. Moulds: Isolation, cultivation, identification. [en línea] Department of Botany, University of Toronto. Disponible en el sitio de red: <http://www.botany.utoronto.ca/researchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Moulds.html>[Revisado en marzo del 2003].

Moore D, Lord JC, Smith S. 2000. Alternatives to pesticides in stored-product In: IPM. Pathogens. Subramanyan BH. and Hagstrum DW (eds). Klumer, New York pp. 193-227.

Morrill AW. 1905. The greenhouse whitefly *Aleyrodes vaporariorum* Westwood In: U.S. bur. Entomol. Circ., EUA pp. 57.

Montemayor SG. 2004. Elaboración de formulados de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* a partir de polímeros naturales. Tesis (Licenciatura). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. [Inédita]

Monzón A 2001. Producción, uso y control de calidad e hongos Entomopatógenos en Nicaragua. In: Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. (Manejo integrado de plagas) No. 63. Colombia, pp. 95-103.

Nava CU, Pacheco JJ, Byerly M. 1998. (a) Manejo integrado de la mosquita blanca de la hoja plateada, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. In: Memoria 4ª Asamblea anual del CONACOFI. 27-28 de febrero, 1997. Peña A. y Téliz DO. (eds). Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Montecillo, Edo. De México. pp. 215-253.

Nava CU, Cano PR. 1998. (b) Predicción de la fenología de cultivos y plagas mediante acumulación de unidades calor In: Memoria métodos alternativos para el control de plagas insectiles. Vázquez N. J. M. Editor. 9-13 de marzo. FAZ, UJED-ITESMCL Venecia Durango, México. pp.107.

Nava CU, Cano P. 2000. (c) Umbral económico para la mosquita blanca de la hoja plateada en melón en la comarca lagunera, México. Agro ciencia 34: 227-234.

Nava CU, Cano PR, Martínez LC. 2001. Manejo integrado de la mosca blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. In: García GC y Medrano HR. (eds). Estrategias para el control de plagas de hortalizas, estudios de identificación y control. COCYTED, SAGDR, CIIDIR-IPN Durango, Ed. Docuimagen, Durango. pp. 19-75.

Nienow AW. 1984. mixing studies on high viscosity fermentation processes xanthan gums. In: The world Biotech. Report. (Europe): London: online Pub. Vol 1. pp. 239-304.

Norman JW, Riley Jr DG, Stansly PA, Ellsworth PC, Toscazo, NC. 1997. Management of silverleaf whitefly: A comprehensive manual on the biology, economic impact and control tactics. USDA / CSREES. pp. 19.

Oldshue JY. 1966. Fermentation Mixing Scale-Up Techniques. *Biotechnology and Bioengineering*. 8:3-24.

Olsvik EG, Kristiansen B. 1994. Rheology of Filamentous Fermentations. *Biotechnology Advances*. 12:1-39.

Ortega AL. 1997. Control alternativo de la mosca blanca. RAPAM. Boletín de la red de acción de plaguicidas y alternativas en México (RAPAM). pp. 12.

Ortiz - Catón M, Alatorre - Rosas R. 1998. Efectividad biológica de hongos contra mosquitos *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homóptera: Aleyrodidae). En: *Memorias del XXI Congreso Nacional de Control Biológico*. Rio Bravo, Tamps. pp. 196-198.

Osborne LS, Storey GK, McCoy CW, Walter JF. 1990. Potential of controlling the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci*, with the fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. In: "Proceedings and abstracts of 5th International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control". Adelaide, Australia. pp. 386-390.

Osborne LS, Landa Z. 1992. Biological Control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist*. 75:456-471.

Osuna-Paéz AG, Estrada-Ramírez FJ, Caro-Macías PH, Galván-Piña B, Cardenas-Cota HM. 2003. Virulencia de conidios aéreos y de propagulos de cultivo sumergido de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith contra ninfas de *Bemisia* (Gennadius) spp. En un cultivo de berenjena (*Solanum melongena* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 292-299.

Ott L. 1988. An Introduction to statistical Methods and Data Analysis. Third Edition. Pws-Kent Publishing Co. Boston, Massachusetts, USA. pp. 945.

Pacheco CJ. 1997. Parasitismo de la mosca blanca de la hoja plateada (*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring), en maleza y otros hospedantes, en el valle del Yanqui, Sonora. In: *Mosquita blanca en el noreste de México. Memoria científica Número 4*. CIRNO-INIFAP-SAGAR. Cd Obregón, Sonora, México. pp. 32:33.

Pacheco CJ, Pacheco FM. 1998. Temas selectos para el manejo integrado de la mosca blanca. INIFAP. *Memorias Científicas* N° 16 ISSN 1405-373X. pp. 1-155.

Palumbro JC, Tonhasca Jr, Byrne DN. 1994. Sampling plans and action thresholds for whiteflies on spring melons. The University of Arizona, IPM Series No1.

Pérez VA, Martínez J, Resendiz B. 1999. Identificación y efectividad biológica de dos productos comerciales a base de *Beauveria bassiana* (Bals) Willd ene. Control de la mosquita blanca (Homoptera:Aleyrodidae) en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), Willd en Xochimilco D. F. en condiciones de invernadero. Memorias del XXXIV Congreso Nacional de Entomología Aguascalientes, Aguascalientes. pp. 443-446.

Pereira BA. 2000. Los micoinsecticidas: Avances y Alternativas. En: Fundamentos y Perspectivas de Control Biológico. Badii MH, Flores AE, Galán WL (eds). Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, pp.325-330.

Quintero-Zapata I. 2001. Producción en diferentes medios de cultivo y sobrevivencia de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (Deuteromycotina:Hyphomycetes) Tesis (Doctorado) Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. [inérita]

Quintero RR. 1981. Ingeniería bioquímica (Teorías y aplicaciones). Editorial Alambra Mexicana, S.A. México, pp. 45-107.

Ramírez GM. 1996. Evaluación de insecticidas para el control químico de la Mosquita Blanca *Bemisia tabaci* Genadius y *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) en el cultivo de algodón en la Comarca lagunera. Tesis (Licenciatura) Departamento de zonas áridas, Universidad Autónoma de Chapingo, Bermejillo, Durango. pp. 45.

Ramírez TO. 2004. Ingeniería Bioquímica. En: Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna. Bolívar ZF (ed). Editorial El Colegio Nacional. México, D.F., pp. 249-292.

Rocha-Valadez JA. 1999. Efecto de la configuración tetra-básico de "*Trichoderma harzianum*" Tesis (Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos. pp. 5-10.

Roberts DW, Yendol WG. 1971. Use of fungi for microbial a control of insects. In: "Microbial control of insects and mites". (Burges, H. D. y Hussey, N. H. (eds.). Academic Press New York. pp. 125-149.

Roels JA, Van Den Berg J, Voncken RM. 1974. The rheology of mycelial broths. Biotechnology Bioengineering. 16:181-208.

Rodríguez del Bosque LA, Arredondo-Bernal HC. 1999. Quien es quien en control biológico en México. Folleto Técnico No. 23, División agrícola, SAGAR-INIFAP-Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria IICA, México. pp. 147.

Rombach MC. 1989. Production of *Beauveria bassiana* (Deuteomycotina:Hyphomycetes) sympodulo conidia in submerged culture: Entomopha 34: 45-52.

Ruiz JV, Ibarra JE, Pérez RP. 1995. Bioensayos con hongos entomopatógenos de mosquita blanca a distintas humedades relativas. En: "Memorias del XVIII Congreso Nacional de Control Biológico". Tapachula, Chiapas, México. pp. 72-73.

Salas J, Mendoza O. 1995. Biology of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. Florida. Entomologist. 78: 154-159.

Samsinakova A. 1966. Growth and sporulation of submersed culture of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. Journal of invertebrate Pathology 8:395-400.

Sánchez PS. 1997. Actividad de cepas nativas de hongos entomopatógenos y del producto Mycontrol contra mosca blanca en invernadero. Memoria del XX congreso nacional de control biológico. Guadalajara, Jalisco. pp. 76-78.

Sandoval-Coronado CF, Luna-Olvera HA, Arévalo-Niño K, Jackson M A, Poprawski TJ, Galán W L. 2001. Drying and formulation of blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Hyphomycetes) produced in two different liquid media. World Journal of Microbiology & Biotechnology 17: 423-428.

Santibáñez GE. 1992. La Comarca Lagunera. Ensayo Monográfico. Tipográfica Reza. Torreón, Coahuila. México. pp. 265.

S. A. R. H. 1991. Plan de emergencia contra mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Genadius). México. Mimeógrafo.

SAS. Institute. Inc. 1998. SAS User guide. Statistics. SAS Inst., Inc. Cary, N. C.

Shimizu S, Nishida Y, Yoshioka H, Matsumoto T. 1991. Separation of chromosomal DNA molecules from *Paecilomyces fumosoroseus* by pulsed-field electrophoresis. Journal of invertebrate Pathology. 58:461-463.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Smith P. 1993. Increased infectivity of oil and emulsifiable oil formulations of *Paecilomyces fumosoroseus* conidia to *Bemisia tabaci*. Imperial College of Science. Silwood Park. p. 82.

Soto, E. T. 2003. Efectividad de insecticidas a base de hongos entomopatógenos en el control de la mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) en el cultivo del melón. Tesis (Licenciatura). Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". pp. 20-26.

Stathers RL, Liu C.L, Marrone PG. 1993. History, use, and future of microbial insecticides. Amer. Entomol. 39: 83-91.

Steinhaus EA. 1960. The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. Journal Insect Pathology 2: 255-258.

St Leger RJ, May B, Allen LL, Frank DC, Staples RC y Roberts DW. 1992. Genetic differences in allozymes and in formation of infection structures among isolates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 60:89-101.

Stevens III TJ, Kilmer RL, Glenn SJ. 2000. An economic comparison of biological and conventional control strategies for whiteflies (Homoptera:Aleyrodidae) in greenhouse poinsettias. *Journal Econ. Entomol.* 93:623-629.

Stirling GR. 1991 Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems, and prospects. CAB International, Wllingford, Oxon, pp.282.

Taguchi H. and Humphery, AE. 1966. Dynamic measurement of volumetric oxygen transfer coefficient in fermented systems. *Journal Ferm. Technol.* 44:881-889.

Taguchi H. 1968. Scale-up of glucoamylase fermentation by *Encomyces* sp. *Journal Ferm. Technol.* 46:823-831.

Tako M. 1984. Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media. *Agricultural and Biological Chemistry*. 48:2987-2993.

Tako M. 1987. Rheological properties of salt of xanthan in aqueous media. *Agricultural and Biological Chemistry*. 51:2919-2923.

Tanda Y, Kaya HK. 1993. *Insect pathology*. Academia Press. San Diego. CA, U.S.A., pp. 66.

Trevañ MD, Boffey S, Goulding KH, Stanbury P. 1990. *Biotechnology: Principios biológicos*. Editorial ACRIBA, S.A. Zaragoza, España. pp. 95-102.

Tsai JH, Wang K. 1996. Development and reproduction of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on five host plant. *Environmental Entomology*. 25: 810-816.

Thomas KC, Khachatourians GG, Ingledew WM. 1987. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia in submerged culture. *Canadian Journal of Microbiology*. 33:12-20.

Thomas CR. 1993. Image analysis of filamentous fermentation broths. *Journal of Chemical Technology, Biotechnology*. 52(2): 204-207.

Vandenberg JD, Jackson MA, Lacey LA. 1998. Relative efficacy of blastospores and aerial conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* against the Russian wheat aphid. *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 181-183.

Van Suidam JC, Dusseljee PJB. 1987. Physical aspects of bioreactor performance. Crueger W (ed). New York, USA., pp. 107-120.

Vázquez N, García C. 2001. In: Estrategias para el control de plagas de hortalizas. Facultad de agricultura y Zootecnia. Universidad de Juárez del Estado de Durango. pp. 8-17.

Veen KH. 1967. A technique for monospore culture and the determination of nucleus numbers in *Metarhizium anisopliae*. *Journal of invertebrate Pathology*. 9: 276-278.

Vega FE, Dowd PF, McGuire MR, Jackson MA, Nelsen TC. 1997. In vitro effects of secondary plant compounds on germination of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of invertebrate Pathology*. 70:209-213.

Vélez P, Posada F, Marin P, Gonzalez M, Osorio E, Bustillo A. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café Pedro Uribe Mejía. CENICAFE. Chinchina, Caldas (Colombia). p 37.

Vidal C, Fargues J, y Lacey AL. 1997. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of temperature on vegetative growth. *Journal of invertebrate Pathology*. 70:18-26.

Walter JF, Pauu AS. 1993. Microbial Inoculant Production and Formulation. Metting, F. B. (ed). In: Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural & Environmental Management. Marcel Dekker, Inc. New York, USA., pp. 646.

Wright SP, Carruthers RI. 1999. Production delivery and use of mycoinsecticides for control of insect pest on field crops. pp 233- 269. In: Biopesticides "Use and Delivery". Franklin R, Hall J, Mean J (eds). Humana Press. Totowa, New Jersey, USA., pp. 625.

Wright SP, Carruthers RI, Jaronski ST, Bradley O, Garza CJ, Galaini W. 2000. Evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17:203-217.

Walstad JE, Anderson RF, Stambaugh WJ. 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). *Journal of invertebrate Pathology*. 16:221-226.

Weigwl CA. 1925. Futher data on the use of calcium cyanide as a greenhouse fumigant. In; *Journal Econ. Entomol.* Vol. 18. pp. 137-141.

Wilson GF. 1946. DDT: Investigations on its effects upon some. In: Horticulture pest. Vol. 71. pp. 6-13.

Wittler R, Baumgartl H, Lubbers BW, Schügerl K. 1986. Investigations of oxygen transferring *Penicillium chysogenum* pellets by microprobe measurements. Biotechnology Bioengineering. 28:1024-1036.

Wood S, Sebastian K, Scherr SJ. 2000. Pilot analysis of global ecosystems, agro ecosystems. International Food Policy Research Institute and World Resources Institute, Washington, D.C. USA. pp. 678

Zimmerman G. 1986. Insect pathogenic fungi as pest control agents. In: Biological blant and Health Protection. Franz. G (ed). Springer, Srurgart., pp 217-231.

<http://www.naturalmentepuresa.com> visitada 2005.

<http://www.senasa.gob.pe/control-biologico/especies/hongosentomopatogenos.htm>.
visitada 2004.

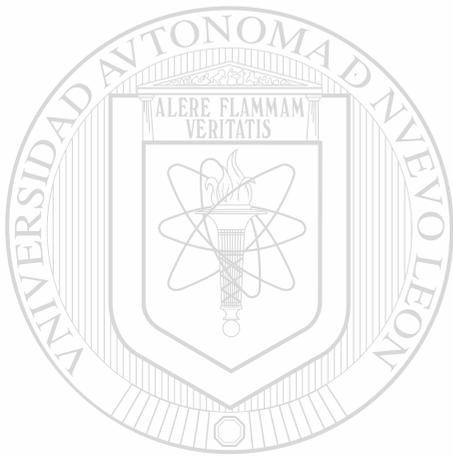


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APÉNDICES

UANL

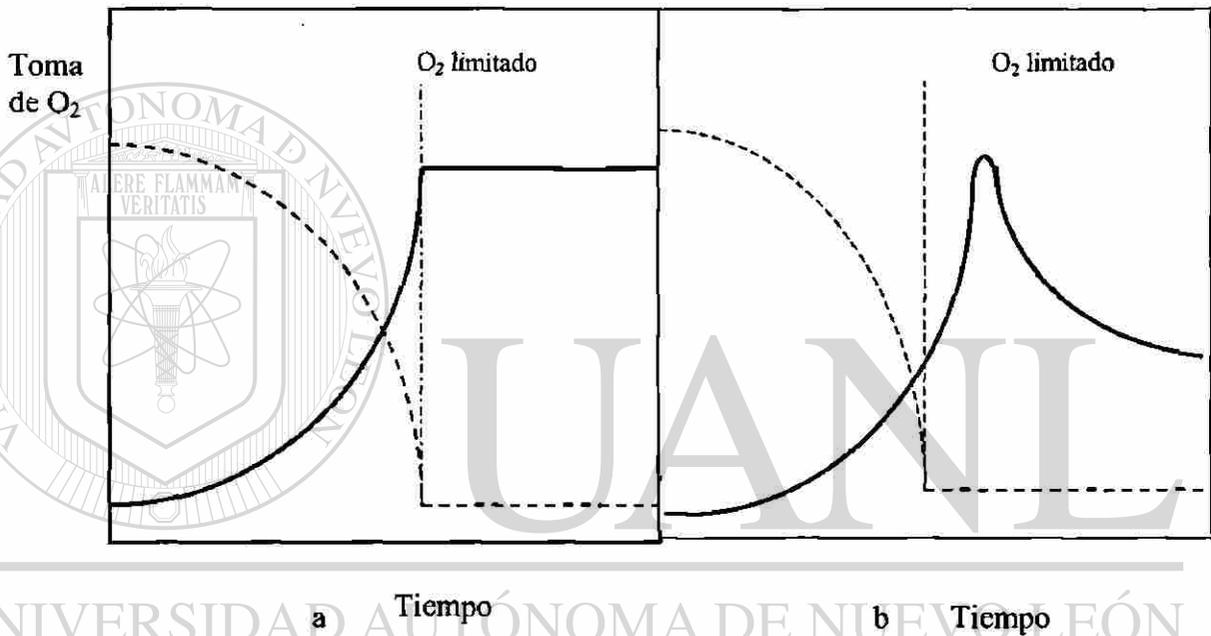
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE A

Velocidad de toma de oxígeno y concentración de oxígeno disuelto en condiciones de O_2 limitado, (a) Cultivo bacteriano, (b) Fermentación fúngica; ____ velocidad de absorción de O_2 ; - - - - - CL, concentración de O_2 disuelto

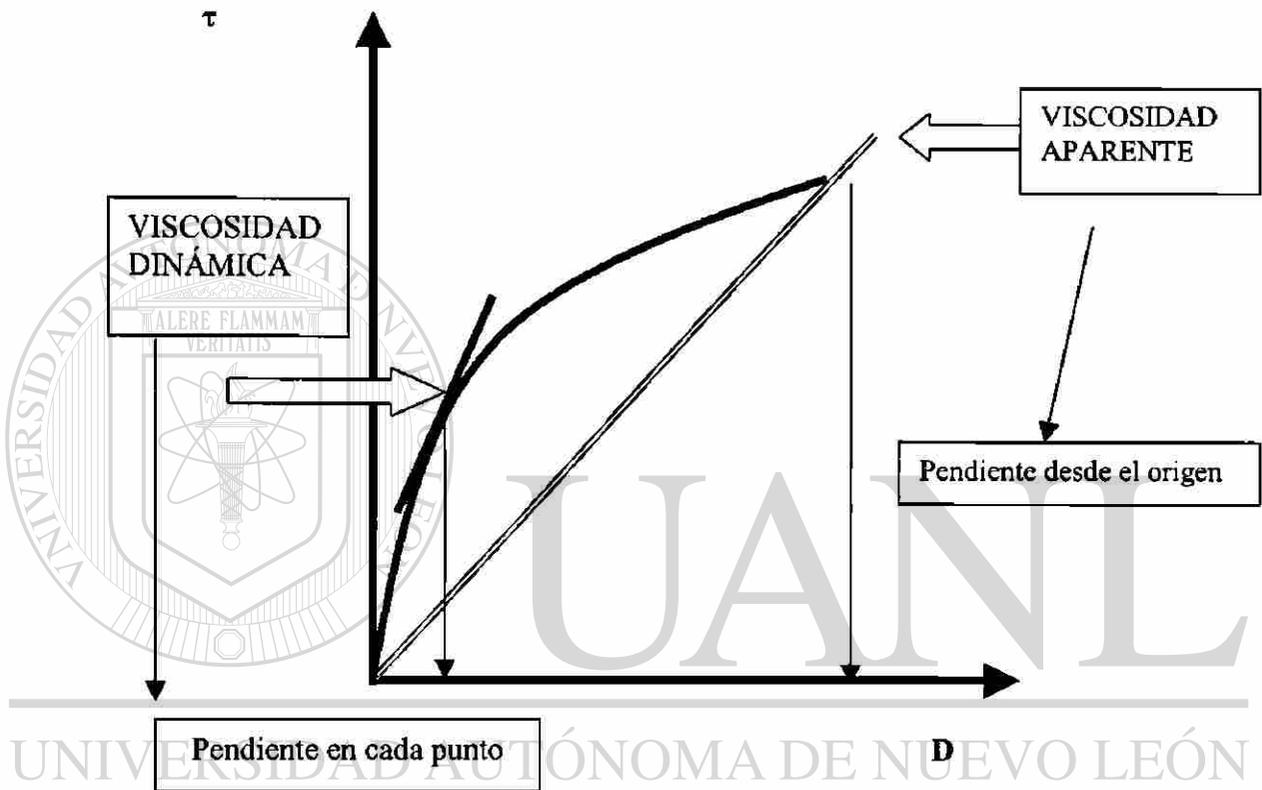


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE B

Curva de fluidez para representar la viscosidad dinámica y aparente



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE C

Cálculos del k_La de la fermentación

Cuando el fermentador se encuentra aireado y la concentración de oxígeno disuelto esta cambiando con respecto al tiempo, la transferencia de oxígeno esta dada por:

$$(dC/dt) = k_La(Cg^* - C_L) - QO_2^j$$

Se realizo la integración (ver la solución de la integración en apéndice D) de la ecuación anterior y se obtuvo

$$\ln [(Cg^* - C_2)/(Cg^* - C_1)] = -k_La(t)$$

Como se muestra en el apéndice E se representan los pasos del método indirecto de desgasificación para la medición experimental del k_La en nuestros medios de estudio, se saturo con oxígeno (concentración 100 %), posteriormente se elimina el oxígeno y se burbujea nitrógeno en lugar de aire. Una vez que C_L es casi cero, se introduce oxígeno y se toman lecturas de concentración de oxígeno a diferente tiempo.

Posteriormente se determino el logaritmo a las concentraciones obtenidas de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\ln [(Cg^* - C_2)/(Cg^* - C_1)]$$

Donde:

Cg^* concentración del oxígeno disuelto en equilibrio con el oxígeno de la fase gaseosa (Constante 100 %)

C_L concentración del oxígeno disuelto en el seno del líquido

C_1 concentración inicial del oxígeno disuelto (primera concentración determinada en todo el cálculo)

C_2 concentración del oxígeno disuelto en el tiempo t, tiempo (h)

Por ultimo se grafican los resultados obtenidos de la ecuación: $\ln [(Cg^* - C_2) / (Cg^* - C_1)]$ (los valores negativos) contra el tiempo en horas. Donde el valor absoluto de la pendiente de la recta interior ajustada es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_La) en h^{-1} , determinado para la condición de operación como se muestra en el apéndice F.

APÉNDICE D

Integración de la ecuación de transferencia de oxígeno disuelto

$$(dC/dt) = k_L a (C_g^* - C_L) \dots\dots\dots 1$$

Despejando y reacomodando la ecuación 1 se tiene:

$$(dC) (C_g^* - C_L) = k_L a dt \dots\dots\dots 2$$

Integración definitivamente de C1 a C2 la ecuación 2 se obtiene:

$$\int_{C_1} (dC) / (C_g^* - C_L) = \int k_L a dt \dots\dots\dots 3$$

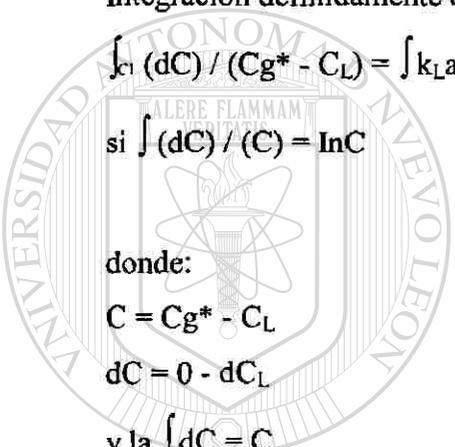
si $\int (dC) / (C) = \ln C$

donde:

$$C = C_g^* - C_L$$

$$dC = 0 - dC_L$$

y la $\int dC = C$



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Ayres y Mendelson (1991)

entonces la ecuación 3 se transforma en :

$$\int_{C_1} (- dC) / (C_g^* - C_L) = k_L a \int dt$$

La solución de la integral definida es:

$$- \ln [C_g^* - C_L]_{C_1} = k_L a (t)$$

$$\ln [C_g^* - C_L]_{C_1} = - k_L a (t)$$

$$\ln(C_g^* - C_L) - \ln (C_g^* - C_1) = - k_L a (t)$$

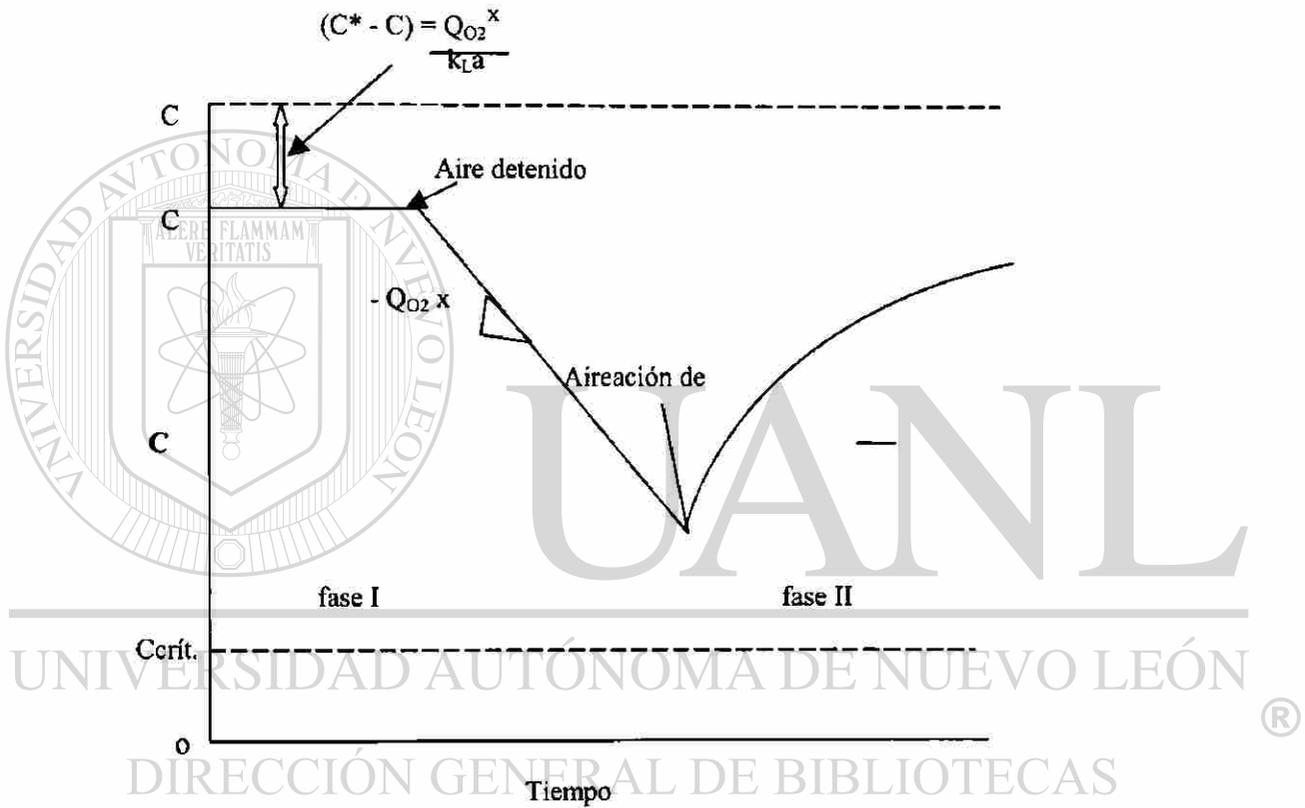
si $\ln (C_g^* - C_2) - \ln (x) - \ln (y)$

La solución de la ecuación 3 (integral definida) es:

$$\ln (C_g^* - C_2) / (C_g^* - C_1) = - k_L a (t)$$

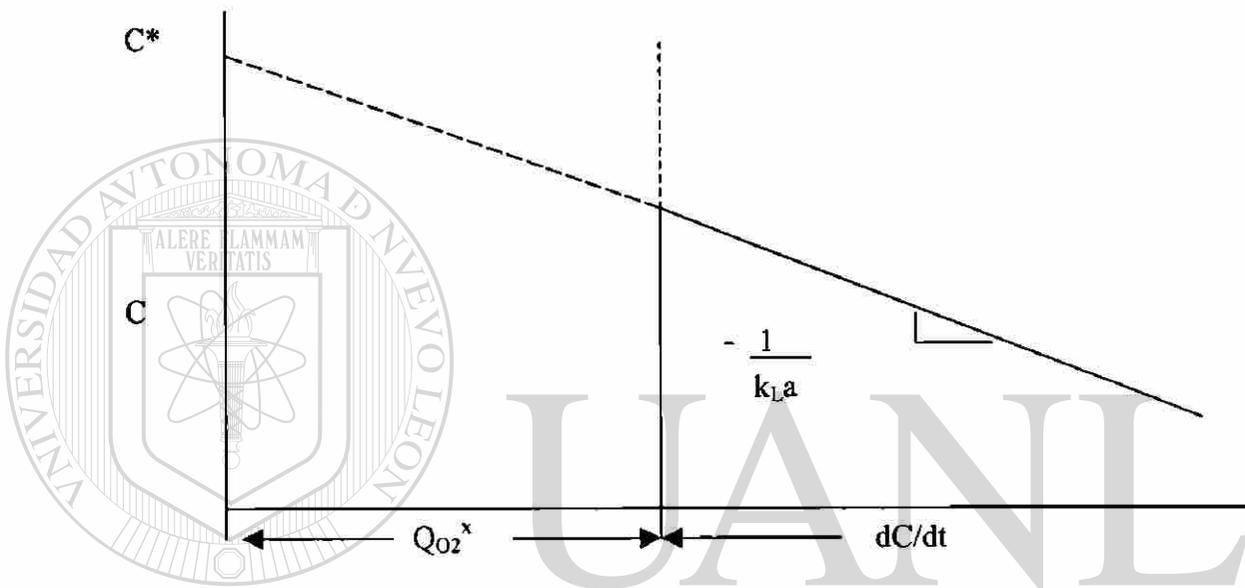
APÉNDICE E

Pasos para evaluar el $k_L a$ por el método de desgasificación



APÉNDICE F

Determinación de $k_L a$



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE G

Secuencia de cálculo de la correlación para estimar k_{La} .

Con los valores de k_{La} experimental evaluado en el apéndice C y la potencia gaseada volumétrica y velocidad superficial del gas, se procedió a la determinación de la constante k , α y β son los coeficientes y para estimar k_{La} de acuerdo a la ecuación empírica:

$$k_{La} = K (Pg/V)^\alpha (Vs)^\beta$$

Para encontrar los valores de k , α y β de nuestra ecuación $k_{La} = K (Pg/V)^\alpha (Vs)^\beta$, se realizó una regresión lineal a las tres series de datos, empleando el método de mínimos cuadrados, descrito en el apéndice H. Esto es debido a que para resolver la ecuación empírica del k_{La} se resuelven tres ecuaciones simultáneas por el siguiente método:

A nuestra ecuación:

$$k_{La} = K (Pg/V)^\alpha (Vs)^\beta$$

Aplicamos el logaritmo en ambos lados y se obtiene:

$$\ln(k_{La}) = \ln K + \alpha \ln(pg/v) + \beta \ln(Vs)$$

Siguiendo el razonamiento del apéndice H se puede llegar a las ecuaciones normales:

$$\sum \ln(k_{La}) = nk^* + \alpha \sum \ln(Pg/V) + \beta \sum \ln(Vs) \dots\dots\dots 1$$

$$\sum (Pg/V) \ln(k_{La}) = k^* \sum \ln(Pg/V) + \alpha (\sum \ln(Pg/V))^2 + \beta \sum \ln(Pg/V) \ln(Vs) \dots\dots\dots 2$$

$$\sum (Vs \ln(k_{La})) = k^* \sum \ln(Vs) + \alpha \sum \ln(Pg/V) \ln(Vs) + \beta \sum (\ln(Vs))^2 \dots\dots\dots 3$$

Se determinan las sumatorias y se resuelve por ecuaciones simultáneas las expresiones normales (1, 2 y 3) para finalmente obtener los valores de k , α y β . Puesto que el valor de k^* para obtener la constante k , determinamos el exponencial al valor de k^* para obtener la constante k .

APÉNDICE H

Método de mínimos cuadrados

Curva de ajuste. A menudo, en la práctica se encuentra que existe una relación entre dos o más variables, y se desea expresar esta relación en forma matemática, determinando una ecuación que conecte las variables.

Regresión. Uno de los propósitos principales de la curva de ajuste es estimar una de las variables (la variable dependiente) de la otra (la variable independiente). El proceso de estimación se conoce como regresión. Si y se va a estimar a partir de x por medio de alguna ecuación, la llamamos ecuación de regresión de y sobre x y a la curva correspondiente, la curva de regresión de y sobre x.

Método de mínimos cuadrados. Generalmente, más de una curva de un tipo dado parece ajustar un conjunto de datos. Para evitar el juicio individual en la construcción de rectas, parábolas, u otras curvas de aproximación, es necesario obtener una definición de la “mejor recta de ajuste”, “mejor parábola de ajuste”, etc.

De todas las curvas de aproximación de un conjunto de puntos de datos, la curva que tenga la propiedad de que

$$d_1^2 + d_2^2 + \dots + d_n^2 = \text{mínimo}$$

por definición, es la mejor curva de ajuste (Spiegel, 1988; Maisel, 1973).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Siendo “ d_i ” la distancia vertical entre el punto (x_i, y_i) y la curva propuesta. Una curva con esta propiedad se dice que ajusta los datos en el sentido de mínimos cuadrados y se llama curva de regresión de mínimos cuadrados o simplemente curva de mínimos cuadrados.

Línea de regresión. Si la curva que se propone es una recta, la distancia vertical del punto (x_i, y_i) hasta la recta $y = a + bx$, es:

$$d = | y_i - a - bx_i |$$

Por lo tanto, los cuadrados de las distancias verticales de los n puntos de una muestra a la recta, tiene la suma:

$$\sum_{i=1}^n d^2 = u \sum (y_i - a - bx_i)^2 \dots\dots\dots 4$$

donde “u” es función de a y de b. Para que la ecuación 1 tenga un mínimo, es necesario que:

$$(\partial u / \partial a) = 0 \quad \text{y} \quad (\partial u / \partial b) = 0$$

por lo tanto:

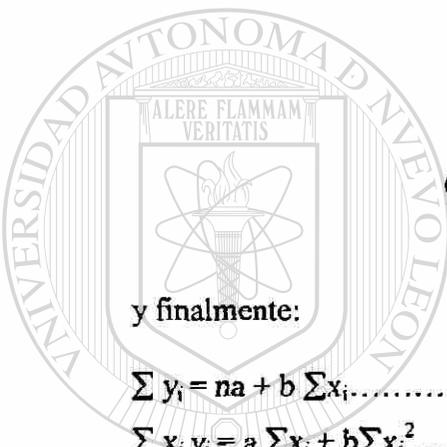
$$(\partial u / \partial a) = -2 \sum (y_i - a - bx_i)^2 = 0$$

$$(\partial u / \partial b) = -2 \sum x_i (y_i - a - bx_i)^2 = 0$$

y finalmente:

$$\sum y_i = na + b \sum x_i \dots\dots\dots 5$$

$$\sum x_i y_i = a \sum x_i + b \sum x_i^2 \dots\dots\dots 6$$



U A N L

Las ecuaciones 5 y 6 se conocen como ecuaciones normales para la recta de mínimos cuadrados, las cuales, resolviéndolas por simultáneas, se determinan las constantes a y b, quedando de esta forma determinada la recta que se propuso.

Curva de regresión múltiple. Las definiciones anteriores también pueden generalizarse a más variables. Si hay una relación lineal entre una variable dependiente z y dos variables independientes x, y, entonces se buscara una ecuación conectando las variables que tenga la forma:

$$z = a + bx + cy \dots\dots\dots 7$$

Puesto que la ecuación 7 representa un plano en un sistema de coordenadas rectangulares tridimensional, se llama, con frecuencia, plano de regresión. Para hallar el plano de regresión de mínimos cuadrados determinamos a, b y c de la ecuación 7.

APÉNDICE I

Análisis de Varianza Factorial obtenidos en la producción de las blastosporas
de *P. fumosoroseus* a nivel fermentador con ambos tratamientos.

| Tiempo | t | Sig. |
|--------|---------|------|
| 12 | 2.4568 | NS |
| 24 | 14.8807 | AS |
| 36 | 10.7589 | AS |
| 42 | 48.1595 | AS |
| 60 | 34.0501 | AS |
| 72 | 24.1904 | AS |

Prueba t (student) α 0.01
 AS=Alta diferencia significativa
 NS=No existe diferencia significativa

APÉNDICE J

Análisis de Varianza Factorial obtenidos del peso seco de las blastosporas
a nivel fermentador con ambos tratamientos.

| Tiempo | t | Sig. |
|--------|---------|------|
| 0 | 3.461 | NS |
| 12 | 1.5613 | NS |
| 24 | 10.1129 | AS |
| 36 | 8.5395 | DS |
| 42 | 9.0312 | DS |
| 60 | 23.8629 | AS |
| 72 | 25.5339 | AS |

Prueba t (student) α 0.05

AS=Alta diferencia significativa DS= Diferencia significativa

NS=No existe diferencia significativa

APÉNDICE K

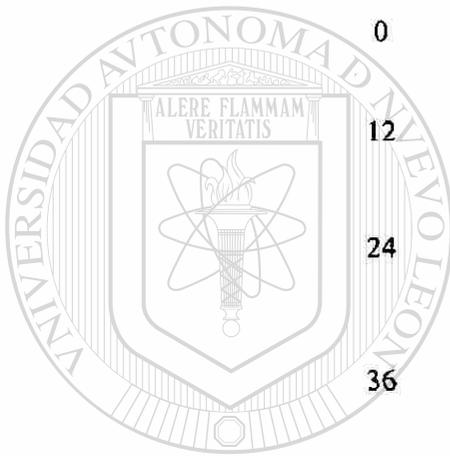
Análisis de Varianza Factorial obtenidos del consumo de azúcares de *P. fumosoroseus* a nivel fermentador con ambos tratamientos.

| Tiempo | t | Sig. |
|--------|---------|------|
| 0 | 2.0000 | NS |
| 12 | 0.0000 | NS |
| 24 | 3.4641 | NS |
| 36 | 55.0000 | AS |
| 42 | 15.5855 | AS |
| 60 | 8.0000 | DS |
| 72 | 1.0000 | NS |

Prueba t (student) α 0.05

AS=Alta diferencia significativa DS= Diferencia significativa

NS=No existe diferencia significativa



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APÉNDICE L

Análisis de varianza factorial de los resultados de sobrevivencia de las blastosporas
formuladas con tierra de diatomeas, con ambos tratamientos.

| *Tiempo (días) | F. calculada | P. error | Significancia |
|-------------------|--------------|----------|---------------|
| 7 | 42.250 | .003 | AS |
| 14 | 25.00 | .007 | AS |
| 21 | 25.00 | .007 | AS |
| 28 | 42.250 | .003 | AS |
| 60 | 13.141 | .022 | AS |
| 90 | 156.800 | .000 | AS |
| 120 | 529.000 | .000 | AS |
| 150 | 3364.000 | .000 | AS |

Prueba t (student) α 0.05

*Análisis entre los dos tratamientos

AS=Alta diferencia significativa

NS=No existe diferencia significativa

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE M

Análisis de varianza factorial de los resultados de sobrevivencia de las blastosporas
formuladas sin tierra de diatomeas, con ambos tratamientos.

| *Tiempo (días) | F. calculada | P. error | Significancia |
|-------------------|--------------|----------|---------------|
| 7 | 1.600 | .275 | DS |
| 14 | 4.900 | .091 | NS |
| 21 | 2.273 | .206 | DS |
| 28 | .346 | .588 | DS |
| 60 | 1.143 | .345 | DS |
| 90 | 28.409 | .006 | DS |
| 120 | 18.270 | .013 | DS |
| 150 | 1.923 | .238 | NS |

Prueba t (student) α 0.05

*Análisis entre los dos tratamientos

AS= Alta diferencia significativa

NS= No existe diferencia significativa

DS= Diferencia significativa

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APÉNDICE N

Valores de las diferentes dosis empleadas

| Medio | Dosis | Concentración | Concentración |
|---------------------|-------|-------------------|-----------------|
| | | Líquida mL / L | Sólida g / L |
| **M. Jackson | 1 | 0.7 | 5.5 |
| | 2 | 1.4 | 11 |
| | 3 | 2.1 | 16.5 |
| *C. Rivas | 1 | 0.3 | 1.6 |
| | 2 | 0.6 | 3.2 |
| | 3 | 0.9 | 4.8 |
| Specifik® | --- | --- | 1 |
| Endosulfan | única | 6 | --- |
| Testigo | + | --- | --- |

1-Dosis baja, 2-Dosis media, 3-Dosis alta

+ Aplicación con agua solamente

*C. Rivas 2.3×10^{10} blastosporas/mL **M. Jackson 2.7×10^8 blastosporas/mL

--- Dosis recomendada por el fabricante (Specifik® 1×10^{11} esporas/ha) (Endosulfan)

APÉNDICE O

Comparación de medias de los tratamientos con *P. fumosoroseus* 612 aplicados
contra *B. argentifolii* en cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al segundo día
después de la aplicación

| Variable | Suma de Cuadrados | g.l | Fc | P>F | CVx100 |
|---|-------------------|-----|-------|--------|--------|
| Ninfas vivas | 201,932.50 | 14 | 5.16 | 0.0001 | 172.2 |
| Ninfas vivas (Transf. log) | 78.2 | 14 | 5.08 | 0.0001 | 34.9 |
| Ninfas infectadas | 49,092.37 | 14 | 3.91 | 0.0001 | 93.4 |
| Ninfas infectadas (Transf. log) | 117.85 | 14 | 11.22 | 0.0001 | 29.2 |
| Ninfas parasitadas | 47,853.76 | 14 | 5.06 | 0.0001 | 126.36 |
| Ninfas parasitadas (Transf. log) | 84.61 | 14 | 10.25 | 0.0001 | 30.65 |
| Total de ninfas | 48,1987.0 | 14 | 4.19 | 0.0001 | 96.2 |
| Total de ninfas (Transf. log) | 26.9 | 14 | 3.52 | 0.0001 | 17.6 |
| Porcentaje de ninfas infectadas | 63,998.7 | 14 | 10.4 | 0.0001 | 40.9 |
| Porcentaje de ninfas infectadas (Transf. arcoseno) | 9.2 | 14 | 10.9 | 0.0001 | 30.9 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas | 17,341.1 | 14 | 8.6 | 0.0001 | 55.0 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas (Transf. arcoseno) | 2.6 | 14 | 8.6 | 0.0001 | 31.8 |

APÉNDICE P

Comparación de medias de los tratamientos con *P. fumosoroseus* 612 aplicados contra *B. argentifolii* en cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al cuarto día después de la aplicación

| Variable | Suma de Cuadrados | g.l | Fc | P>F | CVx100 |
|---|-------------------|-----|------|--------|--------|
| Ninfas vivas | 29,760.9 | 14 | 1.9 | 0.0300 | 102.5 |
| Ninfas vivas (Transf. log) | 16.4 | 14 | 2.0 | 0.0100 | 23.8 |
| Ninfas infectadas | 75,152.3 | 14 | 7.9 | 0.0001 | 80.1 |
| Ninfas infectadas (Transf. log) | 139.5 | 14 | 21.1 | 0.0001 | 22.9 |
| Ninfas parasitadas | 23,293.3 | 14 | 4.8 | 0.0001 | 99.9 |
| Ninfas parasitadas (Transf. log) | 60.3 | 14 | 5.6 | 0.0001 | 35.5 |
| Total de ninfas | 169,905.5 | 14 | 3.9 | 0.0001 | 66.2 |
| Total de ninfas (Transf. log) | 22.5 | 14 | 3.8 | 0.0001 | 15.6 |
| Porcentaje de ninfas infectadas | 45,594.8 | 14 | 12.0 | 0.0001 | 34.0 |
| Porcentaje de ninfas infectadas (Transf. arcoseno) | 6.3 | 14 | 13.8 | 0.0001 | 23.8 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas | 15,082.0 | 14 | 6.6 | 0.0001 | 60.7 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas (Transf. arcoseno) | 2.2 | 14 | 6.4 | 0.0001 | 35.2 |

APÉNDICE Q

Comparación de medias de los tratamientos con *P. fumosoroseus* 612 aplicados contra *B. argentifolii* en cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al sexto día después de la aplicación

| Variable | Suma de Cuadrados | g.l | Fc | P>F | CVx100 |
|---|-------------------|-----|------|--------|--------|
| Ninfas vivas | 25,851.8 | 14 | 2.3 | 0.008 | 85.0 |
| Ninfas vivas (Transf. log) | 20.4 | 14 | 2.5 | 0.004 | 23.7 |
| Ninfas infectadas | 59,364.76 | 14 | 7.8 | 0.0001 | 65.6 |
| Ninfas infectadas (Transf. log) | 138.4 | 14 | 29.6 | 0.0001 | 18.2 |
| Ninfas parasitadas | 29,440.40 | 14 | 3.2 | 0.0002 | 128.0 |
| Ninfas parasitadas (Transf. log) | 63.6 | 14 | 6.7 | 0.0001 | 32.4 |
| Total de ninfas | 188,747.8 | 14 | 3.6 | 0.0001 | 68.6 |
| Total de ninfas (Transf. log) | 23.8 | 14 | 4.5 | 0.0001 | 14.4 |
| Porcentaje de ninfas infectadas | 37,369.5 | 14 | 11.3 | 0.0001 | 30.2 |
| Porcentaje de ninfas infectadas (Transf. arcoseno) | 5.4 | 14 | 13.6 | 0.0001 | 21.2 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas | 14,028.1 | 14 | 9.9 | 0.0001 | 50.8 |
| Porcentaje de ninfas parasitadas (Transf. arcoseno) | 2.0 | 14 | 9.4 | 0.0001 | 28.2 |

RESUMEN CURRICULAR

Mónica Guadalupe Lozano Contreras

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Biotecnología

Tesis: PRODUCCIÓN DE *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith Y
EVALUACIÓN DE SU EFECTIVIDAD BIOLÓGICA CONTRA *Bemisia*
argentifolii Bellows & Perring EN CULTIVO DE ALGODÓN *Gossypium*
hirsutum L

Campo de Estudio: Biotecnología

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, el 8 de Abril de 1978

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido
Químico Bacteriólogo Parasitólogo en 2001

Experiencia Profesional: Jefe de la Unidad de Ingeniería Bioquímica, del
Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey
campus Monterrey, desde 2007, asistente de investigación en
la Unidad de Bioprocesos de la Facultad de Ciencias Biológicas
desde 2001.

