

Virulencia de aislados monospóricos de *Isaria fumosorosea* sobre inmaduros de *Bemisia tabaci**

Virulence of monosporic isolates of *Isaria fumosorosea* on immatures of *Bemisia tabaci*

Esaú Ruiz Sánchez¹, Wilberth Chan Cupul^{2§}, Jairo Cristóbal Alejo¹, José María Tun Suárez¹, Alfonso Pérez Gutiérrez¹ y Joel Lara Reyna³

¹División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Conkal. Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal, km 16.3. Yucatán, México. C. P. 97345. Tel. 01 999 9124130 Ext.121 (esau_ruiz@hotmail.com); (jairoca54@hotmail.com); (tun@colpos.mx); (pega51mx@yahoo.com.mx). ²Laboratorio de Micromicetos, Instituto de Ecología A. C. Carretera antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa, Veracruz, México. C. P. 91070. Tel. 01 228 8421800, Ext. 4404. ³Colegio de Posgraduados, Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná, km 17.5, Sihochac, Municipio de Champotón, Campeche. C. P. 24450. Tel. 01 555 8046800, Ext. 64706 (jlara@colpos.mx). [§]Autor para correspondencia: wilberth.chan@posgrado.inacol.edu.mx.

Resumen

Los hongos entomopatógenos son una alternativa promisoriosa para el control biológico de insectos plaga en la agricultura. En este trabajo se evaluó la virulencia de ocho aislados monospóricos nativos del estado de Yucatán y se usó como referencia un aislado monospórico de una cepa comercial de *Isaria fumosorosea* sobre huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. Los bioensayos de dosis-mortalidad se realizaron con cuatro suspensiones de esporas (1×10^4 a 1×10^7 conidios ml^{-1}). Se evaluó la mortalidad de huevos y ninfas y se calculó la CL_{50} y TL_{50} para todos los aislados. La mortalidad de huevos a los 7 días posinoculación de 1×10^7 conidios ml^{-1} osciló entre 28.6 y 59.1%; los aislados monospóricos nativos If-Hal M1, If-Tim M1 fueron los más virulentos ya que causaron 59.1 y 51.1% de mortalidad, respectivamente. La mortalidad en ninfas a los 12 días de posinoculación de 1×10^7 conidios ml^{-1} , osciló entre 59.6 y 81%; los monospóricos nativos If-Tiz M1 y If-Hal M1 obtuvieron los valores más altos con 81 y 70.5%, respectivamente. La concentración letal media (CL_{50}) más baja fue para el monospórico de la cepa comercial Paesin M1 con 1.4×10^5 conidios ml^{-1} . Con respecto a los tiempos letales medios (TL_{50}), se observó que

Abstract

Entomopathogenic fungi are a promising alternative for the biological control of insect pests in agriculture. In this study, we evaluated the virulence of eight monosporic isolates native to Yucatan, using as a reference a monosporic isolate from a commercial strain of *Isaria fumosorosea* on eggs and nymphs of *Bemisia tabaci*. The dose-mortality bioassays were performed with four spore suspensions (1×10^4 to 1×10^7 conidia ml^{-1}). We evaluated the mortality of eggs and nymphs and calculated the LC_{50} and LT_{50} for all isolates. Egg mortality at 7 days after inoculation of 1×10^7 conidia ml^{-1} ranged between 28.6 and 59.1%; the native monosporic isolates If-Hal M1 and If-Tim M1 were the most virulent, causing 59.1 and 51.1% mortality, respectively. The mortality of the nymphs 12 days after inoculation of 1×10^7 conidia ml^{-1} ranged between 59.6 and 81%; the native monosporic isolates If-Tiz M1 and If-Hal M1 obtained the highest values with 81 and 70.5%, respectively. The median lethal concentration (LC_{50}) was lower for the monosporic isolate of the commercial strain Pae-sin M1 with 1.4×10^5 conidia ml^{-1} . Regarding mean lethal times (LT_{50}), it was observed that the lowest ones

* Recibido: mayo de 2012
Aceptado: enero de 2013

los más bajos fueron para el monospórico comercial Paesin M1 y el nativo If-Hal M1 con 4.9 y 5 días, respectivamente. Dos aislados monospóricos nativos (If-Tim M1 e If-Hal M1) presentaron alta virulencia para ser considerados en un programa de producción de bioplaguicidas a escala regional en la península de Yucatán.

Palabras clave: control biológico, hongo entomopatógeno, mosca blanca.

Introducción

La mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) es una de las especies fitófagas más dañinas a nivel mundial, especialmente en regiones de clima cálido. *Bemisia tabaci* afecta a una gran variedad de cultivos de importancia económica, en particular las hortalizas de las familias solanáceas, cucurbitáceas y leguminosas (Collen *et al.*, 2007; Cabanillas y Jones, 2009). Para el control de *B. tabaci* se ha usado desmesuradamente insecticidas químicos, con efectos perjudiciales, como la contaminación ambiental y de alimentos, aparición de poblaciones resistentes de insectos, daños a la salud del hombre, desequilibrios en funcionamiento de redes tróficas, y el abatimiento de la biodiversidad y el equilibrio de los agroecosistemas (Mier *et al.*, 2004).

El control biológico de insectos plaga mediante hongos entomopatógenos ofrece un método alternativo para el control de las poblaciones de *B. tabaci* en los sistemas de producción agrícola, esta estrategia ha sido integrado satisfactoriamente en los programas de manejo integrado de plagas (MIP) (Kim *et al.*, 2011). El hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* (Wise) Brown y Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae) antes *Paecilomyces fumosoroseus* asignado al clado *Isaria* por Luangsa y colaboradores (2005), es una de las especies más promisorias para el control biológico de la mosquita blanca y otros insectos plaga (Scorsetti *et al.*, 2008). *Isaria fumosorosea* se ha desarrollado exitosamente para el control biológico de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) (Ali *et al.*, 2010), *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) (Avery *et al.*, 2004), *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) (Kim *et al.*, 2008) y *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (Cabanillas y Jones, 2009).

En estudios previos en la búsqueda agentes de control biológico de *B. tabaci*, Panyasiri *et al.* (2007) evaluaron la virulencia de varias especies de hongos entomopatógenos

were those of the monosporic isolate of the commercial strain Pae-sin M1 and of the native isolate If-Hal-M1 with 4.9 and 5 days, respectively. Two native monosporic isolates (If-Tim-M1 and If-Hal-M1) showed high enough virulence to be considered for a regional bio-pesticides production program in the Yucatan Peninsula.

Key words: biological control, entomopathogenic fungus, white fly.

Introduction

The whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) is one of the most damaging phytophagous species worldwide, especially in hot climates. *Bemisia tabaci* affects a wide range of economically important crops, including vegetables from the solanaceae, cucurbit and legume families (Collen *et al.*, 2007; Cabanillas and Jones, 2009). The excessive use of chemical insecticides for controlling *B. tabaci* has had adverse effects such as the pollution of the environment and food, the emergence of resistant insect populations, damages to human health, functional imbalances of trophic networks, and the devastation of the biodiversity and balance of agricultural ecosystems (Mier *et al.*, 2004).

Biological control of pest insects using entomopathogenic fungi offers an alternative method for controlling populations of *B. tabaci* in agricultural production systems; this approach has been successfully integrated into the programs of integrated pest management (IPM) (Kim *et al.*, 2011). The entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* (Wise) Brown and Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae), previously *Paecilomyces fumosoroseus* assigned to the clade *Isaria* by Luangsa and colleagues (2005), is one of the most promising species for biological control of the whitefly and other insect pests (Scorsetti *et al.*, 2008). *Isaria fumosorosea* has been successfully developed for the biological control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) (Ali *et al.*, 2010), *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) (Avery *et al.*, 2004), *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) (Kim *et al.*, 2008) and *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (Cabanillas and Jones, 2009).

In previous studies that searched for biological control agents of *B. tabaci*, Panyasiri *et al.* (2007) evaluated the virulence of several species of entomopathogenic fungi on

sobre ninfas de *B. tabaci*, encontrando el mayor porcentaje de mortalidad con *I. fumosorosea* (76.7%) al aplicar una suspensión de 1×10^7 conidios ml^{-1} . Scorsetti *et al.* (2008) evaluaron la virulencia de aislados fúngicos del sureste de Argentina sobre ninfas de *B. tabaci*, destacando *I. fumosorosea* como el más patogénico con 76.7% de mortalidad a los 7 días posinoculación de una suspensión de 1×10^7 conidios ml^{-1} . En el sureste de China Zhu y Jun (2011) evaluaron la patogenicidad de diversas especies de hongos entomopatógenos en ninfas de *B. tabaci*, resultando la especie *I. fumosorosea* la más patogénica con 97% de mortalidad a los 6 días de posinoculación de una suspensión de 1×10^8 conidios ml^{-1} .

La búsqueda y evaluación de aislamientos nativos de *I. fumosorosea* con potencial biocida sobre *B. tabaci*, adaptados a las condiciones locales es una de las actividades a considerar dentro del desarrollo de un insecticida microbiano para el manejo integrado de *B. tabaci* en regiones de interés. Los aislados fúngicos obtenidos en campo de insectos micosados presentan un germoplasma propio con alta variabilidad intraespecífica, debido a su amplio rango de hospederos, patogenicidad y características morfológicas y fisiológicas, por lo que un proceso de selección puede ser llevado a cabo mediante la obtención de cultivos monospóricos para seleccionar cepas con alta virulencia sobre *B. tabaci* (Mier *et al.*, 2004; Ayala *et al.*, 2005; Cortez, 2007).

El objetivo de este estudio fue evaluar la virulencia de aislados monospóricos de *I. fumosorosea* en estadios inmaduros de *B. tabaci*. La hipótesis del presente trabajo establece que al menos un aislado monospórico nativo de *I. fumosorosea* es igual de virulento que el aislado comercial obtenido del producto Paesin (Agrobionsa® México).

Materiales y métodos

Nomenclatura de los aislamientos

Los aislamientos polisporicos originales de *I. fumosorosea* se obtuvieron de insectos micosados colectados en zonas hortícolas del estado de Yucatán, México (Cuadro 1) y fueron mantenidos y conservados por el laboratorio de reproducción de hongos entomopatógenos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal del estado de Yucatán (CESVY). Éstos aislados polisporicos que originaron los monospóricos objetos de estudio del presente trabajo, se evaluaron y caracterizaron *in*

nymphs of *B. tabaci*, finding the highest mortality rate with *I. fumosorosea* (76.7%) when applying a suspension of 1×10^7 conidia ml^{-1} . Scorsetti *et al.* (2008) evaluated the virulence of fungal isolates from southeastern Argentina on nymphs of *B. tabaci*, among which *I. fumosorosea* stood out as the more pathogenic, with 76.7% mortality 7 days after inoculation of a suspension of 1×10^7 conidia ml^{-1} . In southeastern China and Jun Zhu (2011) evaluated the pathogenicity of various species of entomopathogenic fungi nymphs *B. tabaci*, proving the species *I. fumosorosea* the most pathogenic with 97% mortality at 6 days after inoculation of a suspension of 1×10^8 conidia ml^{-1} .

The search and evaluation of native isolates of *I. fumosorosea*, adapted to local conditions and with biocide potential against *B. tabaci*, is one of the activities to be considered in the development of a microbial insecticide for the integrated management of *B. tabaci* in regions of interest. Because of their wide host range, pathogenicity and morphological and physiological characteristics, the fungal isolates obtained from mycotic insects have their own germplasm with high intraspecific variability. Thus, obtaining monosporic cultures may allow to carry out a process for selecting strains with high virulence against *B. tabaci* (Mier *et al.*, 2004; Ayala *et al.*, 2005; Cortez, 2007).

The aim of this study was to assess the virulence of monosporic isolates of *I. fumosorosea* in immature stages of *B. tabaci*. The hypothesis of this study states that at least one native monosporic isolate of *I. fumosorosea* is as equally virulent as the commercial isolate obtained from the Paesin product (Agrobionsa® México).

Materials and methods

Nomenclature of isolates

The original polysporic isolates of *I. fumosorosea* were obtained from mycotic insects collected in horticultural areas of Yucatan, Mexico (Table 1), and were maintained and preserved by the laboratory for the reproduction of entomopathogenic fungi of the Plant Health Committee of the State of Yucatán (CESVY). These polysporic isolates from which the monosporic isolates that are the objects of this study originated, were evaluated and characterized previously *in vitro* by Chan *et al.* (2010). The identification

vitro previamente por Chan *et al.* (2010). La identificación de los hongos se realizó mediante características morfológicas de acuerdo a Samson (1974) y Domsch *et al.* (1980). Dentro de los experimentos se incluyó una cepa de referencia comercialmente Paesin (Agrobionsa® México). Los aislamientos fueron reactivados y conservados en Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck®, Alemania) adicionado con 0.5 ppm de cloranfenicol (Lab. Sophia S. A. de C. V. México).

Obtención de cultivos monospóricos

Los cultivos monospóricos se obtuvieron a partir de una suspensión de esporas de cada aislado original, considerado como polisporico; la suspensión de esporas se preparó agregando 10 ml de agua destilada estéril más 5 µl de Tween 80 a las colonias polisporicas de 7 días establecidas en cajas de Petri. Las colonias se rasparon con espátula estéril, los productos se filtraron a través de una gasa esterilizada para separar las esporas del micelio y fragmentos del medio de cultivo (Gindin *et al.*, 2000). La suspensión de esporas obtenida se ajustó a una concentración de 100 conidios ml⁻¹ empleando una cámara de Neubauer® (Marienfeld, Alemania). Se depositaron 200 µl de esta suspensión en cajas de Petri con SDA vaciado en capa fina, al reverso de la caja de Petri se trazaron cuadros de 0.5 cm², las cajas se incubaron a 25 °C y se revisaron cada 12 h al microscopio compuesto 4 x-40 x, para marcar con un punto el cuadrante donde se encontraba una sola espора con tubo germinativo, el cual se cortó y transfirió a una caja nueva con SDA para su desarrollo (Ayala *et al.*, 2005).

Colonia de *Bemisia tabaci*

Se estableció una colonia de cría de *B. tabaci* en el invernadero de adaptación del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán (ITC), se emplearon jaulas construidas con aluminio y malla antiáfidos de 1.2 x 1.2 x 1.2 m. Los adultos de *B. tabaci* se colectaron en cultivos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) del área de producción del ITC. Los insectos fueron confinados con plántulas de *C. chinense* de 30 días de edad, establecidas en macetas de plástico con Cosmopeat (Cosmocel®, Canadá). Los adultos ovipositaron por dos días sobre plantas de *C. chinense* y fueron retirados para iniciar la colonia con los huevos ovipositados en las hojas. Una vez establecida la colonia, las plantas de *C. chinense* fueron sustituidas cada 30-40 días para proveer nuevos hospederos a *B. tabaci*.

of the fungi was made using morphological characteristics according to Samson (1974) and Domsch *et al.* (1980). A commercial strain Pae-sin was included in the experiments as a reference (Agrobionsa® Mexico). The isolates were reactivated and preserved in Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck®, Germany) supplemented with 0.5 ppm of chloramphenicol (Lab. Sophia S. A. de C. V., Mexico).

Cuadro 1. Clave de identificación y origen geográfico de los aislamientos polisporico de *Isaria fumosorosea* aislados sobre adultos muertos de *Bemisia tabaci*.

Table 1. Identification key and geographical origin of polysporic isolates of *Isaria fumosorosea* isolated from dead adults of *Bemisia tabaci*.

Aislamiento	Origen
If-Tim	Timucuy, Yucatán, México
If-Tiz	Tizimin, Yucatán, México
If-Hal	Halacho, Yucatán, México
If-Tic	Ticul, Yucatán, México
Paesin®	Cepa comercial

Obtention of monosporic cultures

Monosporic cultures were obtained from a spore suspension of each original isolate, which were considered as polysporic; the spore suspension was prepared by adding 10 ml of sterile distilled water and 5 µl of Tween 80 to the 7-day polysporic colonies growing in Petri dishes. The colonies were scraped with a sterile spatula, and the products were filtered through a sterile gauze to separate the mycelium spores from fragments of the culture medium (Gindin *et al.*, 2000). The spore suspension obtained was adjusted to a concentration of 100 conidia ml⁻¹ using a Neubauer chamber® (Marienfeld, Germany). 200 µl of this suspension were deposited in a Petri dish with SDA poured in a thin layer. On the back of the Petri dish were drawn 0.5 cm² squares; the dishes were incubated at 25° C and were checked every 12 h under a compound microscope 4 x -40 x to mark with a point the quadrant where a single spore with germ tube was found; the quadrant was cut and transferred to a new dish with SDA for further development (Ayala *et al.*, 2005).

Colony of *Bemisia tabaci*

A breeding colony of *B. tabaci* was established in the adaptation greenhouse of the Institute of Technology of Conkal, Yucatan (ITC); aluminium cages with an anti-aphid

Obtención de huevos y ninfas de *B. tabaci*

Se empleó la metodología descrita por Muñiz y Nombela (2001), se tomaron diez insectos adultos de la colonia de cría con un aspirador, se depositaron en una micro jaula de 1 cm de diámetro y se sujetaron en una hoja extendida de *C. chinense*, la microjaula con los adultos fueron retirados a las 24 h, los huevos ovipositados se emplearon de inmediato para los bioensayos respectivos. Para el caso de los bioensayos con ninfas, los huevos ovipositados se dejaron en las hojas por un periodo de 7-8 días hasta obtener ninfas de segundo instar. Únicamente se dejaron 30 huevos o ninfas por hoja como unidad experimental.

Bioensayos de patogenicidad

Para los bioensayos, únicamente se emplearon dos cultivos monospóricos de cada aislamiento polispórico nativo denominados con las iniciales M1 y M2. Se usó como referencia un aislado monospórico de la cepa comercial Paesin con un porcentaje promedio de germinación $12.1\% \text{ h}^{-1}$ (Chan *et al.*, 2010). De éstos cultivos se obtuvieron suspensiones de esporas como se describió anteriormente (Ayala *et al.*, 2005), las suspensiones de esporas fueron ajustadas a cuatro concentraciones 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 y 1×10^7 conidios ml^{-1} empleando una cámara de Neubauer®, la viabilidad de los conidios estuvo en un rango de 11.9 a $12.5\% \text{ h}^{-1}$ (Chan *et al.*, 2010).

Las suspensiones de esporas fueron inoculadas por inmersión de hojas de *C. chinense* que contenían huevos o ninfas de *B. tabaci* durante un periodo de 15 segundos, el testigo se trató con agua destilada estéril más Tween 80® al $0.05\% \text{ V/V}$. Las plantas con las hojas tratadas fueron encubadas bajo condiciones de laboratorio a $27 \pm 3^\circ \text{C}$, $75 \pm 8\%$ de humedad relativa y fotoperiodo de 12 L: 12O, las evaluaciones de mortalidad en huevos y ninfas se llevaron a cabo diariamente por 7 y 12 días, respectivamente.

Los inmaduros de *B. tabaci* muertos fueron contabilizados usando un microscopio estereoscópico; se contabilizaron los huevos micosados, necrosados y no eclosionados (Gindin *et al.*, 2000); para el caso de las ninfas, se consideraron como muertas aquéllas con cambios de coloración, brillo, forma y crecimiento de micelio sobre éstas (Ruiz *et al.*, 2011). Para confirmar la muerte de los inmaduros de *B. tabaci* por efecto de los conidios de *I. fumosorosea*, las hojas con huevos y ninfas muertas fueron lavadas con hipoclorito de sodio 2% y enjuagadas con agua destilada estéril, para posteriormente

mesh of $1.2 \times 1.2 \times 1.2 \text{ m}$ were used. Adults of *B. tabaci* were collected in cultures of chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) from the production area of the ITC. The insects were confined with 30 days old seedlings of *C. chinense* grown in plastic pots with Cosmopeat (Cosmoce1®, Canada). Adults oviposited for two days on plants of *C. chinense* and were then retired in order to start the colony with eggs laid on the leaves. Once the colony was established, the plants of *C. chinense* were replaced every 30-40 days to provide new hosts to *B. tabaci*.

Obtention of eggs and nymphs of *B. tabaci*

We used the method described by Muñiz and Nombela (2001); ten adult insects were taken from the breeding colony with an aspirator, placed in a microcage with a diameter of 1 cm and attached to an extended leaf of *C. chinense*. The microcage with the adults was removed after 24 h, but the eggs laid were used immediately for the respective bioassays. In the case of bioassays with nymphs, the oviposited eggs were left on the leaves for a period of 7-8 days until obtaining second-stage nymphs. Only 30 eggs or nymphs were left per leaf as a experimental unit.

Pathogenicity bioassays

Only two monosporic cultures of each native polysporic isolate (designated M1 and M2) were used for the bioassays. A monosporic isolate of the commercial strain Pae-sin with an average percentage of germination of $12.1\% \text{ h}^{-1}$ was used as a reference (Chan *et al.*, 2010). Spore suspensions were obtained from these crops as described previously (Ayala *et al.*, 2005); the spore suspensions were adjusted to four concentrations: 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 and 1×10^7 conidia ml^{-1} , using a Neubauer chamber®; the viability of the conidia ranged from 11.9 to $12.5\% \text{ h}^{-1}$ (Chan *et al.*, 2010).

The spore suspensions were inoculated by immersing the leaves of *C. chinense* containing eggs or nymphs of *B. tabaci* during a period of 15 seconds; the control was treated with sterile distilled water plus Tween 80® $0.05\% \text{ V/V}$. The plants with treated leaves were incubated under laboratory conditions at $27 \pm 3^\circ \text{C}$, $75 \pm 8\% \text{ RH}$ and a photoperiod of 12 L: 12O; assessments of mortality in eggs and nymphs were performed daily for 7 and 12 days, respectively.

Dead immature *B. tabaci* were counted using a stereoscopic microscope; mycotic, necrotic and unhatched eggs were counted (Gindin *et al.*, 2000). In the case of nymphs, those

colocarse en cámaras húmedas. Los huevos y ninfas se observaron diariamente hasta la aparición de micelio. Cabe mencionar que no en todos los casos se observó la producción de micelio en los huevos y ninfas.

Análisis de datos

Se empleó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Los resultados de mortalidad en huevos y ninfas bajo la concentración de 1×10^7 conidios ml^{-1} se analizaron con un análisis de varianza y comparación de medias Tukey $p \leq 0.05$ empleando el programa GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., 2000). Con los datos de mortalidad de las cuatro concentraciones de esporas se calculó la concentración letal media (CL_{50}) y el tiempo letal medio (TL_{50}) de cada aislado monospóricos usando programa estadístico SAS ver. 8 e para Windows (SAS Institute Inc., USA)

Resultados y discusión

Mortalidad en huevos

La Figura 1 muestra el porcentaje de mortalidad en huevos de *B. tabaci* por efecto de la aplicación de una suspensión de 1×10^7 conidios ml^{-1} de nueve aislados monospóricos de *I. fumosorosea*. Los aislados If-Hal M1 (59.1%) y If-Tim M1 (51.1%) fueron más virulentos que los aislados If-Tiz M2 (33.2%) y If-Tic M1 (28.6%); sin embargo, If-Tiz M2 y If-Tic M1 fueron estadísticamente igual de virulentos que el resto de los aislados monospóricos evaluados.

En *B. tabaci* se ha descrito que el estadio de huevo es uno de los menos susceptibles al ataque de hongos entomopatógenos; sin embargo, en este estudio algunos monospóricos de *I. fumosorosea* causaron porcentajes de mortalidad en huevos mayor a 50%, valores mucho más altos que los reportados por Lacey *et al.* (1999), quienes encontraron porcentajes de mortalidad menores a 20% al inocular una suspensión de 1×10^3 conidios cm^2 de *I. fumosorosea* en huevos de *B. tabaci*. En otro estudio de patogenicidad, Espinel *et al.* (2009) observaron 50.5% de mortalidad en huevos de *B. tabaci* por efecto de la inoculación de 1×10^7 conidios ml^{-1} de *I. fumosorosea*.

Los resultados del presente estudio también sugieren que los monospóricos de *I. fumosorosea* sobresalientes, son más virulentos en huevos de *B. tabaci* que otras especies de

which presented changes in color, brightness, shape and mycellium growth were considered as dead (Ruiz *et al.*, 2011). To confirm the death of immature *B. tabaci* by effect of the conidia of *I. fumosorosea*, the leaves with dead eggs and nymphs were washed with 2% sodium hypochlorite and rinsed with sterile distilled water, and subsequently placed in moist chambers. Nymphs and eggs were observed daily until the appearance of mycelium. It worth noting that the production of mycelium in eggs and nymphs was not observed in all cases.

Data analysis

We used a completely randomized design with four replications. The mortality results for eggs and nymphs under the concentration of 1×10^7 conidia ml^{-1} were analyzed using an analysis of variance and Tukey mean comparisons $p = 0.05$ using the GraphPad InStat program (GraphPad Software Inc., 2000). The median lethal concentration (LC_{50}) and the median lethal time (LT_{50}) of each monosporic isolate were calculated with the mortality data of the four concentrations of spores using the SAS statistical software, ver. 8, for Windows (SAS Institute Inc., USA).

Results and discussion

Mortality in eggs

Figure 1 shows the mortality rate of *B. tabaci* eggs by effect of the application of a suspension of 1×10^7 conidia ml^{-1} from nine monosporic isolates of *I. fumosorosea*. The If-Hal M1 (59.1%) and If-Tim M1 (51.1%) isolates were more virulent than the If-Tiz M2 (33.2%) and If-Tic M1 (28.6%) isolates; however, If-Tiz M2 and If-Tic M1 were equally virulent statistically than the other monosporic isolates tested.

The egg stage of *B. tabaci* has been described as one of the least susceptible to the attack of entomopathogenic fungi; however, in this study some monosporic isolates of *I. fumosorosea* caused egg mortality rates greater than 50%, much higher values than those reported by Lacey *et al.* (1999), who found mortality rates below 20% when inoculating a suspension of 1×10^3 conidia/ cm^2 of *I. fumosorosea* in eggs of *B. tabaci*. In another study of pathogenicity, Espinel *et al.* (2009) observed a 50.5% mortality rate in eggs of *B. tabaci* by effect of the inoculation of 1×10^7 conidia ml^{-1} of *I. fumosorosea*.

hongos entomopatógenos como *Lecanicillium lecanii* que han mostrado un rango de 14 a 26% de mortalidad (Gindin *et al.*, 2000). Para el caso de *Metarhizium anisopliae* se han reportado tasas de mortalidad variables en huevos, por ejemplo Skrobek (2001) observó valores de 33-45% y Ruiz *et al.* (2011) encontró 9.9-32.2%. Para el caso de otro hongo comúnmente usado en *B. tabaci*, como *Beauveria bassiana*, también se ha observado baja patogenicidad en huevos, por ejemplo Al-Deghairi (2008) reportó 5% de mortalidad, por su parte Espinel *et al.* (2009) reportaron 30% de mortalidad, ambos estudios emplearon una suspensión de conidios similar a la evaluada en el presente trabajo. La actividad ovicida de los aislados monospóricos de *I. fumosorosea* permitiría una reducción de la población inicial de la plaga lo que repercutiría en obtener densidades poblacionales bajas y en consecuencia menores daños a los cultivos.

Mortalidad en ninfas

Los aislados monospóricos If-Tiz M1 y If-Hal M1 causaron los porcentajes más altos de mortalidad con 81.0 y 70.5%, respectivamente, resultando estadísticamente igual al aislamiento monospórico de la cepa comercial Paesin M1 (70.6%). La buena actividad insecticida de *I. fumosorosea* en ninfas de *B. tabaci* ha sido previamente reportada. Por ejemplo, Scorsetti *et al.* (2008) encontraron mortalidades de ninfas *B. tabaci* de 76.6% por efecto de la inoculación de 1×10^7 conidios ml^{-1} de *I. fumosorosea*.

Panyasiri *et al.* (2007) encontraron resultados similares al evaluar la patogenicidad de *I. fumosorosea* bajo condiciones controladas (30 °C, 80-85% HR), donde los porcentajes de mortalidad en ninfas oscilaron entre 36.7 a 76.7%. Es probable que los porcentajes de mortalidad aumenten si se incrementan las concentraciones de esporas. Al respecto, Saito y Sugiyama (2005) evaluaron la patogenicidad de aislados de *I. fumosorosea* en ninfas de *B. tabaci* aplicando una concentración de 0.6×10^8 conidios ml^{-1} , y encontraron una mortalidad promedio de 98%.

Los resultados del presente trabajo confirman la patogenicidad de *I. fumosorosea* sobre inmaduros de *B. tabaci*, los cultivos monospóricos If-Tiz M1 y If-Hal M1 fueron igual de virulentos que los cultivos monospóricos de la cepa comercial Paesin; sin embargo, las cepas nativas tienen la ventaja de estar adaptadas a la región de estudio y se esperaría que bajo condiciones de campo su actividad fuera mayor que la actividad de la cepa comercial Figura 2.

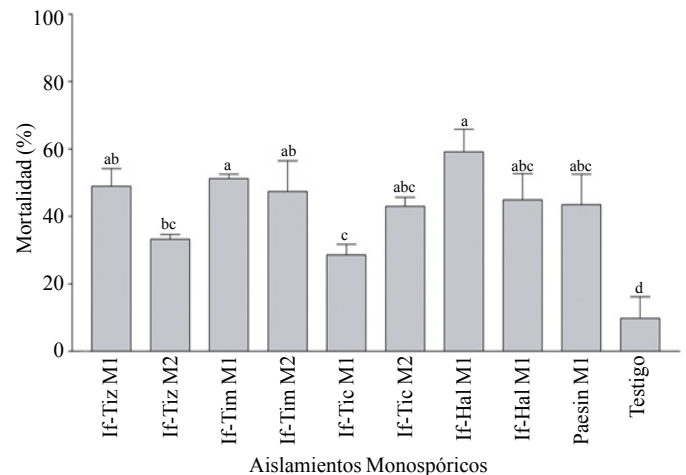


Figura 1. Mortalidad en huevos de *Bemisia tabaci* por efecto de una suspensión de 1×10^7 conidios mL^{-1} de *Isaria fumosorosea* (27±3 °C, 75±8% de HR y 10: 14 h L:O). Barras con la misma letra no presentan diferencias significativas según Tukey ($p=0.05$).

Figure 1. Mortality in eggs of *Bemisia tabaci* by effect of a suspension of 1×10^7 conidia mL^{-1} of *Isaria fumosorosea* (27±3° C, 75±8% of RH and 10:14 h L:O). The bars with the same letter are not significantly different according to Tukey ($p=0.05$).

The results of the present study also suggest that monospore isolates of *I. fumosorosea* are more virulent in eggs of *B. tabaci* than other species of entomopathogenic fungi such as *Lecanicillium lecanii*, which have produced a mortality rate ranging from 14 to 26% (Gindin *et al.*, 2000). In the case of *Metarhizium anisopliae*, variable mortality rates have been reported in eggs; for example, Skrobek (2001) observed values of 33-45%, and Ruiz *et al.* (2011) found values of 9.9-32.2%. A low pathogenicity in eggs was also observed in the case of another fungus commonly used against *B. tabaci*, *Beauveria bassiana*. Al-Deghairi (2008), for example, reported a 5% mortality rate, while Espinel *et al.* (2009) reported a 30% mortality rate; both studies used a conidia suspension similar to the one evaluated in this study. The ovicidal activity of the monospore isolates of *I. fumosorosea* would reduce the initial population of the pest, which would have the effect of having low population densities and, therefore, less damage to crops.

Mortality in nymphs

The monospore isolates If-Tiz M1 and If-Hal 1 caused the highest mortality rates, 81.0 and 70.5%, respectively; these were statistically equal to the mortality rate caused by monospore isolates of the commercial strain Pae-sin M1

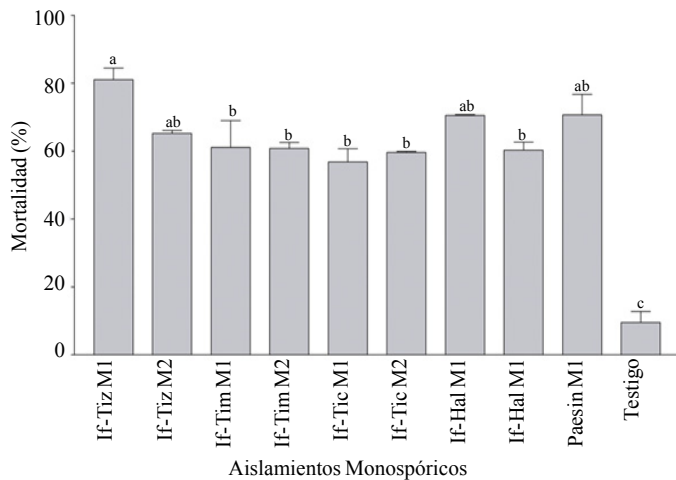


Figura 2. Mortalidad en ninfas de *Bemisia tabaci* por efecto de una suspensión de 1×10^7 conidios mL^{-1} de *Isaria fumosorosea* ($27 \pm 3^\circ \text{C}$, $75 \pm 8\%$ de HR y 10: 14 h L:O). Barras con la misma letra no presentan diferencias significativas según Tukey ($p=0.05$).

Figure 2. Mortality in nymphs of *Bemisia tabaci* by effect of a suspension of 1×10^7 conidia mL^{-1} of *Isaria fumosorosea* ($27 \pm 3^\circ \text{C}$, $75 \pm 8\%$ de RH and 10:14 h L:O). The bars with the same letter are not significantly different according to Tukey ($p=0.05$).

Concentración letal medio (CL_{50}) en ninfas

El Cuadro 2 muestra la concentración letal media (CL_{50}) de los aislados monospóricos evaluados. Se consideran que los valores son significativamente diferentes cuando no se traslapan los intervalos de confianza (Cabanillas y Jones, 2009). El aislado comercial Pae-sin M1 fue más patógeno al obtener la CL_{50} más baja con 1.4×10^5 conidios mL^{-1} ; seguido del aislado If-Tiz M1 con una CL_{50} de 3.2×10^5 conidios mL^{-1} . Existen varios reportes sobre la virulencia de *I. fumosorosea* en *B. tabaci* que pueden ser comparados con el presente trabajo por emplear protocolos similares; por ejemplo Hernández y Garza (1994) reportaron una CL_{50} de 4.3×10^8 conidios mL^{-1} para el aislamiento PF2 de *I. fumosorosea* en ninfas de *B. tabaci*, valor substancialmente mayor a los valores observados en el presente estudio. Vidal *et al.* (1997) encontraron una CL_{50} en rango de 2.6×10^4 a 2.3×10^6 conidios mL^{-1} de *I. fumosorosea* sobre ninfas de *B. tabaci*. Por el contrario, Panyasiri *et al.* (2007) encontraron una CL_{50} más baja (9.41×10^4 conidios mL^{-1}) con una cepa de *I. fumosorosea* nativa de Tailandia.

Algunos autores mencionan que *I. fumosorosea* es un hongo con mayor especificidad hacia *B. tabaci*, ya que los valores obtenidos de CL_{50} son menores comparado con las CL_{50} de otros hongos entomopatógenos u otras especies de

(70.6%). The good insecticidal activity of *I. fumosorosea* on nymphs of *B. tabaci* has been previously reported. For example, Scorsetti *et al.* (2008) found mortality rates of 76.6% in *B. tabaci* nymphs by effect of the inoculation of 1×10^7 conidia mL^{-1} of *I. fumosorosea*.

Panyasiri *et al.* (2007) found similar results when evaluating the pathogenicity of *I. fumosorosea* under controlled conditions (30°C , 80-85% RH), with mortality rates in nymphs ranging from 36.7 to 76.7%. Mortality rates are likely to increase when the concentrations of spores increase. In this regard, Saito and Sugiyama (2005) evaluated the pathogenicity of isolates of *I. fumosorosea* in nymphs of *B. tabaci* using a concentration of 0.6×10^8 conidia mL^{-1} , and found an average mortality rate of 98%.

The results of the present study confirm the pathogenicity of *I. fumosorosea* on immature *B. tabaci*. Monospore cultures If-Tiz M1 and If-Hal M1 were as virulent as monospore cultures of the commercial strain Pae-sin; however, the native strains have the advantage of being adapted to the study area, and it would be expected that, under field conditions, they would show greater activity than the commercial strains (Figure 2).

Mean lethal concentration (LC_{50}) for nymphs

Table 2 shows the median lethal concentration (LC_{50}) of the monospore isolates tested. The values are not considered significantly different when the confidence intervals do not overlap (Cabanillas and Jones, 2009). The commercial isolate Pae-sin M1 was more pathogenic, having the lowest LC_{50} with 1.4×10^5 conidia mL^{-1} , followed by the isolate If-Tiz M1 with an LC_{50} of 3.2×10^5 conidia mL^{-1} . There are several reports on the virulence of *I. fumosorosea* in *B. tabaci* that can be compared with the present work as we all use similar protocols; for example, Hernández and Garza (1994) reported an LC_{50} of 4.3×10^8 conidia mL^{-1} for the PF2 isolate of *I. fumosorosea* in nymphs of *B. tabaci*, a value substantially higher than the values observed in the present study. Vidal *et al.* (1997) found an LC_{50} ranging from 2.6×10^4 to 2.3×10^6 conidia mL^{-1} of *I. fumosorosea* in nymphs of *B. tabaci*. On the contrary, Panyasiri *et al.* (2007) found a lower LC_{50} (9.41×10^4 conidia mL^{-1}) with a strain of *I. fumosorosea* strain native to Thailand.

Some authors state that *I. fumosorosea* is a fungus with greater specificity to *B. tabaci*, since the LC_{50} values obtained are smaller compared with the LC_{50} of other entomopathogenic

Isaria. En este contexto, Negasi *et al.* (1998) estudiando la patogenicidad de *Isaria farinosus* sobre ninfas de *B. tabaci*, encontró una CL₅₀ de 3.1 x 10⁶ conidios ml⁻¹.

fungi or other species of *Isaria*. In this context, Negasi *et al.* (1998), studying the pathogenicity of *Isaria farinosus* in nymphs of *B. tabaci*, found an LC₅₀ of 3.1 x 10⁶ conidia ml⁻¹.

Cuadro 2. Concentración letal media (CL₅₀) de aislados monospóricos de *Isaria fumosorosea* en ninfas de *Bemisia tabaci* sobre hojas de *Capsicum chinense*.

Table 2. Mean lethal concentration (LC₅₀) of monosporic isolates of *Isaria fumosorosea* for nymphs of *Bemisia tabaci* on leaves of *Capsicum chinense*.

Aislamiento	CL ₅₀ (IC al 95%) ^a	Pendiente (ES) ^b	Ecuación Probit ^c	χ^2	Pr> χ^2
If-Tiz M1	3.2x10 ⁵ (2.3x10 ⁵ -4.3x10 ⁵) b	0.48 (0.030)	Y=-2.69+0.48 log ₁₀ C	251.23	0.0001
If-Tiz M2	1.3x10 ⁶ (8.7x10 ⁵ -2.4x10 ⁶) c	0.33 (0.029)	Y=-2.03+0.33 log ₁₀ C	126.73	0.0001
If-Tim M1	2.0x10 ⁶ (1.1x10 ⁶ -4.1x10 ⁶) cd	0.28 (0.028)	Y=-1.81+0.28 log ₁₀ C	98.51	0.0001
If-Tim M2	2.8x10 ⁶ (1.9x10 ⁶ -4.4x10 ⁶) cd	0.47 (0.031)	Y=-3.04+0.47 log ₁₀ C	222.00	0.0001
If-Hal M1	5.7x10 ⁵ (3.9x10 ⁵ -8.3x10 ⁵) b	0.41 (0.029)	Y=-2.37+0.41 log ₁₀ C	193.23	0.0001
If-Hal M2	1.8x10 ⁶ (1.1x10 ⁶ -3.0x10 ⁶) c	0.37 (0.029)	Y=-2.36+0.37 log ₁₀ C	159.31	0.0001
If-Tic M1	7.2x10 ⁶ (3.7x10 ⁶ -1.7x10 ⁷) d	0.30 (0.029)	Y=-2.05+0.30 log ₁₀ C	101.07	0.0001
If-Tic M2	3.3x10 ⁶ (2.1x10 ⁶ -5.5x10 ⁶) cd	0.42 (0.030)	Y=-2.74+0.42 log ₁₀ C	186.65	0.0001
Paesin M1	1.4x10 ⁵ (9.4x10 ⁴ -2.1x10 ⁵) a	0.36 (0.029)	Y=-1.88+0.36 log ₁₀ C	152.24	0.0001

^aConcentración letal media (conidios ml⁻¹) de las ninfas tratadas con un intervalo de confianza (IC) al 95%, los valores dentro de una columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes en función del traslape de los niveles de confianza. ^b(ES)= error estándar de la pendiente. ^cRespuestas generales de mortalidad de las ninfas (Y) en función de la concentración de esporas (C).

Tiempo letal medio (TL₅₀) en ninfas

La virulencia de un determinado aislamiento no solo es indicada por su CL₅₀, si no también por el tiempo en días requerido para causar 50% de mortalidad de las ninfas tratadas (TL₅₀). El Cuadro 3 muestra el TL₅₀ de los aislados monospóricos sobre ninfas de *B. tabaci*; estadísticamente el aislamiento comercial Paesin M1 y el monospórico If-Hal M1, obtuvieron los valores más bajos con 4.6 y 5.0 días, respectivamente; el TL₅₀ del resto de los aislamientos osciló entre 5.3 y 6.7 días. En estudios previos Zhu y Jun (2011) y Saito y Sugiyama (2005) reportaron valores de TL₅₀ de 4.4 y 4.1 días, respectivamente, al aplicar una suspensión de 1 x 10⁷ conidios ml⁻¹ de *I. fumosorosea* sobre ninfas de *B. tabaci*. Por el contrario, Cabanillas y Jones (2009) encontraron un TL₅₀ más bajo, 3 días, al emplear un aislado de *I. fumosorosea* aplicando 1 000 esporas/mm² sobre ninfas de *B. tabaci*; el resultado de este último

Mean lethal time (TL₅₀) for nymphs

The virulence of a given isolate is indicated not only by its LC₅₀, but also by the time in days required to cause a 50% mortality rate in treated nymphs (LT₅₀). Table 3 shows the LT₅₀ of monosporic isolates in nymphs of *B. tabaci*; statistically, the commercial isolate Pae-sin and the monosporic isolate If-Hal M1 had the lowest values with 4.6 and 5 days, respectively; the LT₅₀ of the rest of the isolates ranged between 5.3 and 6.7 days. In previous studies, Zhu and Jun (2011) and Saito and Sugiyama (2005) reported LT₅₀ values of 4.4 and 4.1, respectively, by applying a suspension of 1 x 10⁷ conidia ml⁻¹ of *I. fumosorosea* on nymphs of *B. tabaci*. On the contrary, Cabanillas and Jones (2009) found a lower LT₅₀ of 3 days by using an isolate of *I. fumosorosea* applying and applying 1 000 spores/mm² on nymphs of *B. tabaci*; the results of this latest

estudio pudo ser favorecido por la reactivación del hongo en un medio de cultivo suplementado con adultos de *B. tabaci*.

study could have been favored by the reactivation of the fungus in a culture medium supplemented with adults of *B. tabaci*.

Cuadro 3. Tiempo letal medio (TL₅₀) de aislados monospóricos de *Isaria fumosorosea* en ninfas de *Bemisia tabaci* sobre hojas de *Capsicum chinense*.

Table 3. Mean lethal time (TL₅₀) of monosporic isolates of *Isaria fumosorosea* for nymphs of *Bemisia tabaci* on leaves of *Capsicum chinense*.

Aislamiento	TL ₅₀ (IC al 95%) ^a	Pendiente (ES) ^b	Ecuación Probit ^c	χ^2	Pr> χ^2
If-Tiz M1	5.39 (5.03-5.84) b	4.00 (0.34)	Y=-8.45+4.00 log ₁₀ T	133.52	0.0001
If-Tiz M2	5.56 (5.23-5.97) b	3.91 (0.31)	Y=-8.32+3.91 log ₁₀ T	155.72	0.0001
If-Tim M1	6.08 (5.67-6.64) bc	4.46 (0.44)	Y=-9.65+4.46 log ₁₀ T	99.23	0.0001
If-Tim M2	5.54 (5.25-5.87) b	3.78 (0.25)	Y=-8.04+3.78 log ₁₀ T	219.60	0.0001
If-Hal M1	5.08 (4.63-5.66) ab	3.26 (0.33)	Y=-6.81+3.26 log ₁₀ T	93.97	0.0001
If-Hal M2	6.13 (5.58-6.90) bc	2.89 (0.27)	Y=-6.27+2.89 log ₁₀ T	113.85	0.0001
If-Tic M1	6.01 (5.54-6.66) bc	3.86 (0.40)	Y=-8.34+3.86 log ₁₀ T	90.27	0.001
If-Tic M2	6.71 (6.21-7.42) c	4.03 (0.38)	Y=-8.90+4.03 log ₁₀ T	107.68	0.0001
Paesin M1	4.69 (4.44-4.97) a	4.02 (0.28)	Y=-8.26+4.02 log ₁₀ T	196.03	0.0001

^aTiempo letal medio (días) de las ninfas tratadas con un intervalo de confianza (IC) al 95%, los valores dentro de una columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes en función de los niveles de confianza. ^b(ES)= error estándar de la pendiente. ^cRespuestas generales del tiempo de mortalidad de 50% de las ninfas tratadas (Y) en función al tiempo (T) de exposición a una concentración de 1x10⁷ esporas ml⁻¹.

Conclusiones

Los aislados monospóricos nativos de *I. fumosorosea* resultaron igual de virulentos que la cepa comercial estudiada. Los aislados If-Hal M1 y If-Tim M1 fueron los más virulentos en huevos. En ninfas el monospórico nativo If-Hal M1 junto con If-Tiz M1 resultaron los más virulentos. Los aislados monospóricos por ser cepas nativas adaptadas a las condiciones ambientales de la región son potencialmente los candidatos idóneos para el desarrollo de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el control biológico de *B. tabaci* en la península de Yucatán.

Conclusions

The native monosporic isolates of *I. fumosorosea* were as virulent as the commercial strain studied. Isolates If-Hal M1 and If-Tim M1 were the most virulent in eggs. The native monosporic isolate If-Hal-M1, together with If-Tiz M1, were the most virulent in nymphs. The monosporic isolates, being native strains adapted to the environmental conditions of the region, are potentially the best candidates for the development of biopesticides based on entomopathogenic fungi for the biological control of *B. tabaci* in the Yucatan Peninsula.

End of the English version

Literatura citada

- Al-Deghairi, M. A. 2008. Bioassay evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* Vuillemin against eggs and nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). Pakistan J. Biol. Sci. 11(12):1551-1560.
- Ali, S.; Zhen, H. and Ren, S. 2010. Production of cuticle degrading enzymes by *Isaria fumosorosea* and their evaluation as a biocontrol agent against diamondback moth. J. Pest Sci. 83:361-370.

- Avery, P. B.; Faull, J. and Simmonds, M. S. 2004. Effect of different photoperiods on the growth, infectivity and colonization of Trinidadian strains of *Paecilomyces fumosoroseus* on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, using a glass slide bioassay. J. Insect Sci. 4(38):1-10.
- Ayala, M. A.; Mier, T., Sánchez, R. y Toriello, C. 2005. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. Rev. Mex. Micol. 20:93-97.

- Cabanillas, E. H. and Jones, A. W. 2009. Effects of Temperature and culture media on vegetative growth of an entomopathogenic fungus *Isaria* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) Naturally Affecting the Whitefly, *Bemisia tabaci* in Texas. *Mycopathologia* 167:263-271.
- Castellanos, M. J.; Cruz, C. R.; Aranda, E.; Mier, T. and Toriello, C. 2008. Relationship between protease and chitinase activity and the virulence of *Paecilomyces fumosoroseus* in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Rev. Mex. Micol.* 28:71-80.
- Chan, C. W.; Ruiz, S. E.; Cristóbal, A. J.; Pérez, G. A.; Munguía R. R. y Lara, R. J. 2010. Desarrollo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Agrociencia* 44:587-597.
- Collen, R. A.; Marks, S. G.; Bernard, D. R. and Gillespie, R. D. 2007. Combined effects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* Apopka-97, and the generalist predator, *Dicyphus hesperus*, on whitefly populations. *BioControl* 52:669-681.
- Cortez, M. H. 2007. Producción de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* en diferentes sustratos y patogenicidad. *Agric. Téc. Méx.* 33(1):83-87.
- Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. Compendium of soil fungi. Volumen I. Academic Press, London, UK.
- Espinel, C. C.; Torres, T. L. and Cotes, P. A. M. 2009. Effect of entomopathogenic fungi over development stages of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 35(1):18-21.
- Fatiha, L.; Ali, S.; Ren S. and Afzal, M. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on eggplant. *Pak. Entomol.* 29(2):63-72.
- Gindin, G.; Geschtovt, N. U.; Raccah, B. and Barash, I. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica* 28(3):1-11.
- GraphPad InStat. 2000. GraphPad Software. La Joya, California, USA. Software en CD.
- Kim, J. S.; Ho, J. Y.; Ok, W. E. and Sung, P. J. 2011. Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 Conidia in Corn Oil-Based Suspension. *Mycopathologia* 171:67-75.
- Kim, J. S.; Roh, J. Y.; Choi, J. Y.; Shin, S. C.; Jeon, M. J. and Je, Y. H. 2008. Insecticidal activity of *Paecilomyces fumosoroseus* SFP-198 as a multi-targeting biological control agent against the greenhouse whitefly and the two-spotted spider mite. *Int. J. In. Entomol.* 17:181-187.
- Lacey, L. A.; Kirk, A. A.; Millar, L.; Mercadier, G. and 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 Sci. Technol.* 9(1):9-18.
- Luangsa, A. J. J.; Hywel, J. N. L.; Manoch, L. and Samson, R. A. 2005. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species. *Mycol. Res.* 109:581-589.
- Mier, T.; Castellanos, M. J.; García, G. K.; Ayala, Z. M.; Fernández, V. V. y Toriello, N. C. 2004. Valoración de hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas agrícolas. *Soc. Rur. Prod. Medio Amb.* 5(8):57-67.
- Muñiz, M. and Nombela, G. 2001. Differential variation in development of the B- and Q- biotypes of *Bemisia tabaci* on sweet pepper *Capsicum annum* L. at constant temperatures. *Environ. Entomol.* 30(4):720-727.
- Negasi, A.; Parker, L. B. and Brownbridge, M. 1998. Screening and bioassay of entomopathogenic fungi for the control of silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolli*. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 18:37-44.
- Osuna, P. A. G.; Estrada, R. F. J.; Caro, M. P. H.; Galván, P. B. y Cárdenas, C. M. 2003. Virulencia de conidios aéreos y de propágulos de cultivo sumergido de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown y Smith contra ninfas de *Bemisia* (Gennadius) spp. *Rev. Mex. Fitopat.* 21(3):292-299.
- Panyasiri, C.; Attathom, T. and Poehling, H. M. 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pest on tomato under protected cultivation in Thailand. *J. Plant Dis. Protect.* 114(6):278-287.

- Hernández, V. M. y Garza, E. 1994. Patogenicidad de *Paecilomyces fumosoroseus* a mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera, Aleyrodidae). XVII Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca. Oax. México, Octubre, 1994. Sociedad Mexicana de Control Biológico. 42-43. pp.
- Quesada, M. E.; Maranhao, E. A. A.; Valverde, G. P. and Santiago, A. C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control* 36:274-287.
- Ruiz, S. E.; Chan, C. W.; Pérez, G. A.; Cristobal, A. J.; Uch, V. B. y Tun, S. J. Ma. 2011. Crecimiento, esporulación y germinación *in vitro* de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. *Rev. Mex. Micol.* 33:9-15.
- Saito, T. and Sugiyama, K. 2005. Pathogenicity of three Japanese strains of entomopathogenic fungi against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Appl. Entomol Zool.* 40(1):169-172.
- Samson, R. A. 1974. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. *Studies in Mycology, Baarn* 6:1-119.
- SAS Institute. 2000. The SAS System for Windows 8e. Cary, NC. USA. Software en CD.
- Scorsetti, A. C.; Humber, A. R. and De Gregorio, C. 2008. New records of entomopathogenic fungi infecting *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum*, pests of horticultural crops, in Argentina. *BioControl* 53:787-796.
- Skrobek, A. 2001. Investigations on the effect of entomopathogenic fungi on whiteflies. Dissertation, Institut für Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Doktorwürde der Agrarwissenschaften. 114 pp. <<http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/landw_fak/2001/skrobek_anke/text.pdf>>. (consultado diciembre, 2010).
- Vidal, C.; Fargues, J. and L. A. Lacey. 1997. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: effect of temperature on vegetative growth. *J. Invert. Pathol.* 70(1):18-26.
- Zhu, H. and Jun, K. 2011. Susceptibility of the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype Q to entomopathogenic fungi. *Biocontrol Sci. Technol.* 21(12):1471-1483.