

Mortalidad de *Galleria mellonella* L. por *Beauveria bassiana* (bálsamo) Vuill (Ascomycota: Hypocreales)

Carmela Hernández-Domínguez^{1,§}

Carmela Zamora-Bernardino²

Fabiel Vázquez-Cruz¹

Delfino Reyes-López¹

Luís A. Domínguez-Perales¹

Fabián Enríquez García¹

1 Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias-Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. Universidad S/N, San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México. CP. 73965.

2 Instituto Tecnológico Superior de Zacapoaxtla. Carretera Acuaco-Zacapoaxtla km 8, Col. Totoltepec, Zacapoaxtla, Puebla, México. CP. 73680.

Autora para correspondencia: carmela.hernandezd@correo.buap.mx.

Resumen

Uno de los hongos más usado en el control de plagas, el cual tienen un amplio rango de hospedantes es *Beauveria bassiana*. Este entomopatógeno se ha adaptado a distintos ambientes y se puede encontrar en varios lugares, por lo que en el presente trabajo se colectaron 60 muestras de suelo en Acatlán de Pérez Figueroa, Oaxaca, por medio de *Galleria mellonella* utilizado como cebo para su aislamiento, en el año 2020. De este procedimiento se obtuvieron cinco aislados los cuales se evaluaron en larvas de *Galleria mellonella* a 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h con el fin de conocer su eficacia en mortalidad y micosis. En la metodología se extrajo el ADN de los hongos y la región ITS del gen 5.8S rRNA fue amplificada por PCR, el producto fue secuenciado y las secuencias fueron comparadas con otras existentes en el centro nacional para la información biotecnológica. El resultado fue un aislado de *Beauveria pseudobassiana* y cuatro de *Beauveria bassiana* de los cuales el 11 presentó 100% de mortalidad y micosis a las 96 h a diferencia del aislado comercial y el testigo los cuales necesitaron 72 h adicionales para matar la totalidad de larvas, además de presentar 20% y 60% de micosis respectivamente. El tiempo de 96 h fue significativamente diferente ($p \neq 0.05$) debido a que en éste murió la mayoría de las larvas y hubo micosis. Identificar hongos entomopatógenos y realizar estudios de su efectividad en larvas facilita el inicio de nuevos experimentos en la investigación.

Palabras clave:

Beauveria bassiana, *Galleria mellonella* L., ADN, aislado, eficacia, tiempo.



Introducción

La efectividad biológica de los microorganismos para el control de plagas es de gran importancia cuando se quiere prevenir, repeler o reducir su daño causado a los cultivos (Castro y Martínez, 2019). Dicha efectividad involucra la acción de organismos como hongos entomopatógenos los cuales fueron los primeros microorganismos que se observaron como causantes de enfermedades en insectos, dado que se podía ver su crecimiento sobre el cuerpo de estos (Van Driesche *et al.*, 2007). Tal es el caso de *Beauveria bassiana*, conocido desde la antigüedad como muscardina blanca, el cual fue uno de los primeros hongos entomopatógenos usado como controlador biológico de insectos (Barbosa *et al.*, 2017; Barbosa *et al.*, 2018).

Este hongo puede causar enfermedad sin ser ingerido ya que pueden entrar a través de la cutícula e invadir la cavidad interna, atacando los tejidos grasos y órganos, por lo que el insecto deja de alimentarse, muere y se multiplica dentro de este y al cabo de un periodo de 4 a 10 días después de la infección muere (Serna-Domínguez *et al.*, 2019; Pacheco *et al.*, 2020). El hongo *Beauveria bassiana* tiene la característica de presentar colonias con apariencia aterciopelada o polvorienta de color blanco y a medida que pasa el tiempo se torna de tonalidad amarillenta (Orduño-Cruz *et al.*, 2011).

El género *Beauveria* actualmente se utiliza para el control de varias especies plaga, tales como; picudo de chile, banano, pulgón del algodón, pulgón del melón, mosquita blanca, broca y gorgojo del café por lo que es considerado como generalista al atacar a varios insectos (Pacheco *et al.*, 2020). Sin embargo, no todas las especies de éste género tienen la misma efectividad de control de plagas por lo que es necesario conocer la efectividad biológica de los aislados antes de utilizarlos para este fin (Ríos *et al.*, 2020).

Al respecto, existen insectos como *Galleria mellonella* L., que tienen la ventaja de sobrevivir y reproducirse fácilmente en cautiverio cuando se encuentran en estado de larva por lo que son idóneos para establecer los bioensayos y generar resultados valiosos en horas (Jorjao *et al.*, 2018; Kavanagh y Sheehan, 2018). De esta manera en el presente trabajo de investigación se muestreó suelo e identificaron hongos del género *Beauveria* de los cuales fue evaluada su efectividad biológica con el uso de larvas de *Galleria mellonella* L.

Materiales y métodos

Colecta de muestras de suelo y aislamiento de hongos nativos

Se colectaron 60 muestras de suelo cultivado con caña en Acatlán de Pérez Figueroa, Oaxaca. El muestreo fue realizado en tres temporadas en el año 2016 en las cuales se recogieron 300 g de cada muestra en bolsas siplox que fueron etiquetadas y trasladadas en hieleras al laboratorio de patología de insectos del Colegio de Posgraduados donde fueron aisladas. Para el aislamiento de hongos entomopatógenos se utilizó la técnica del insecto trampa (Zimmermann, 1986), para la cual las muestras de suelo fueron colocadas en vasos de 10 cm de altura por 5 cm de diámetro a los cuales se les colocaron cinco larvas de *Galleria mellonella* y se monitorearon hasta que las larvas pasaron al estado de pupa.

En los vasos con suelo contaminado con esporas de *Beauveria* se observaron larvas con micelio blanco y después de cinco días de estas larvas se aisló el hongo en el medio agar dextrosa saboraud (ADS) (Bioxon®) y se incubó a 32 °C + 2. Todos los hongos crecidos fueron colocados en viales de 20 ml con medio ADS y guardados para la amplificación de su ADN por la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Extracción de ADN y Amplificación de producto por PCR

La extracción de ADN por PCR se hizo en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) en el año 2020. Para lo cual se desarrollaron cinco aislados con características morfológicas de *Beauveria* en papel celofán adherido sobre la superficie del medio de cultivo ADS por cinco días a 30 °C + 2. El micelio obtenido fue cosechado con una espátula y colocado en viales de 1.5 ml y posteriormente fue liofilizado por 24 h.

Posteriormente este micelio fue macerado con un micropistilo y Nitrógeno líquido en viales de 1.5 ml y se siguieron las instrucciones del fabricante del kit (Qiagen®) para extraer el ADN el cual fue visualizado en un gel de agarosa y un transiluminador (UVP, Modelo 3UV-LMS26), cada muestra de ADN obtenida se almacenó en un refrigerador a 7 °C. Para la amplificación de la región ITS del gen 5.8S rRNA por PCR se utilizaron los primers ITS1: 5'-ATTACCGAGTTTTCAACTCCC-3' y ITS2: 5'-ACCTGATTCGAGGT CAACGTTC-3' (White *et al.*, 1990) y un kit (Promega madison), de acuerdo con el procedimiento descrito por Rehner y Bunkley (2005).

La mezcla de reacción se preparó a un volumen final de 50 µl e incluyó 0.2 µM de cada primer; 20 mM de TrisHCl; 50 mM KCl; 2.5 mM MgCl₂; 0.1 mM de cada deoxinucleotido (dATP, dCTP, dGTP y dTTP); 1 U Taq DNA polimerasa y 50 ng de DNA genómico. Las muestras fueron amplificadas mediante un programa de 15 s a 94 °C, seguido por 40 ciclos de 94 °C a 15 s, 50 °C a 30 s, 72 °C a 30 s) y una extensión final de 7 min a 72 °C. El producto amplificado fue secuenciado por los laboratorios Macrogen en Corea. Las secuencias fueron editadas con el programa BioEdit versión 7.1.9 (Hall, 1999) y el árbol filogenético fue generado con el método Neighbor-joining con el programa Mega versión 3.6 (Tamura *et al.*, 2013).

Eficacia de mortalidad y micosis de aislados sobre larvas de *Galleria mellonella*

Para el establecimiento del bioensayo se prepararon concentraciones de 1x10⁶ esporas ml⁻¹ de cada aislado identificado, además se usaron una cepa comercial de *Beauveria bassiana* (PHC) y un testigo, con cada una de estas se inocularon 12 larvas distribuidas sobre seis círculos de papel sanita; es decir, dos larvas por círculo de papel humedecido con 300 µl de agua destilada estéril. Todas las cajas con larvas fueron colocadas a temperatura ambiente y el número de larvas vivas, número de larvas muertas, número de larvas con micosis fueron registrados a las 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168.

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento fue completamente al azar con siete tratamientos (cinco aislados comparados más un aislado comercial y un testigo) donde la unidad experimental fue una larva y se repitió dos veces en el tiempo para disminuir el error estándar que se pudiera generar en el análisis estadístico y obtener resultados confiables. Con los resultados obtenidos del experimento se realizó un análisis estadístico con el paquete estadístico SAS para Windows 9.0 en un arreglo factorial (dos factores; factor= aislado y factor= tiempo de muerte y micosis). Se llevó a cabo una comparación de medias con la prueba Tukey para determinar si hubo diferencia significativa entre los resultados de las variables (número de larvas muertas y número de larvas con micosis).

Resultados y discusión

Se obtuvieron cinco aislados (6, 7B, 11, 18, 21) de 60 muestras analizadas, estos presentaron características morfológicas que concuerdan con la descripción de *Beauveria* hecha por Humber (1996); Bustillos (2001); Rodríguez y Del Pozo (2003) en medio PDA. El micelio presentó una tonalidad blanca de textura suave parecido a polvo. El crecimiento de cada una de los aislados no fue uniforme, mientras que las formas de las colonias fueron elevadas y delgadas. En el microscopio las células conidiogénicas presentaron ápice denticulado y extendido, en formas repetidas que crecieron en un conidio justo debajo del conidio nuevo. Los conidios fueron de formas redondas y adheridas sobre los conidióforos ramificados.

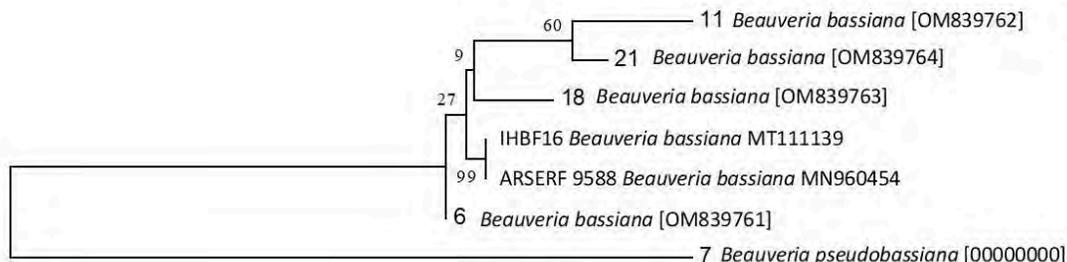


Amplificación por PCR del ADN de los aislados nativos

Se logró amplificar por PCR el ADN de cinco aislados con características morfológicas al género *Beauveria*. El ADN amplificado fue visualizado entre 200 a 350 bp al ser comparadas con un marcador de peso molecular de manera similar a los resultados de la amplificación de la región ITS obtenidos por Rehner y Buckle (2005); Zhang *et al.* (2020) para identificar especies de *Beauveria bassiana* extraídas de diferentes regiones y estudiar su diversidad.

Los números de accesiones al banco de genes generados con el registro de los aislados se muestran en la Figura 1, en la cual también se observa la posición filogenética de cada uno ellos dentro de árbol el cual se obtuvo de los datos ITS del gen 5.8S rRNA por el método de Neighbor-joining (Tamura *et al.*, 2013). Los resultados de este análisis posicionaron a todos los aislados en el género *Beauveria* con cuatro aislados de *Beauveria bassiana* y una de *Beauveria pseudobassiana* (Figura 1).

Figura 1. Filogenia de aislados de *Beauveria*. Se usó como referencia secuencias de la colección USDA-ARS de números de acceso: MT111139.1 y MN960454.1 de cultivos fúngicos. Se muestran los valores de bootstrap por arriba de 80%.



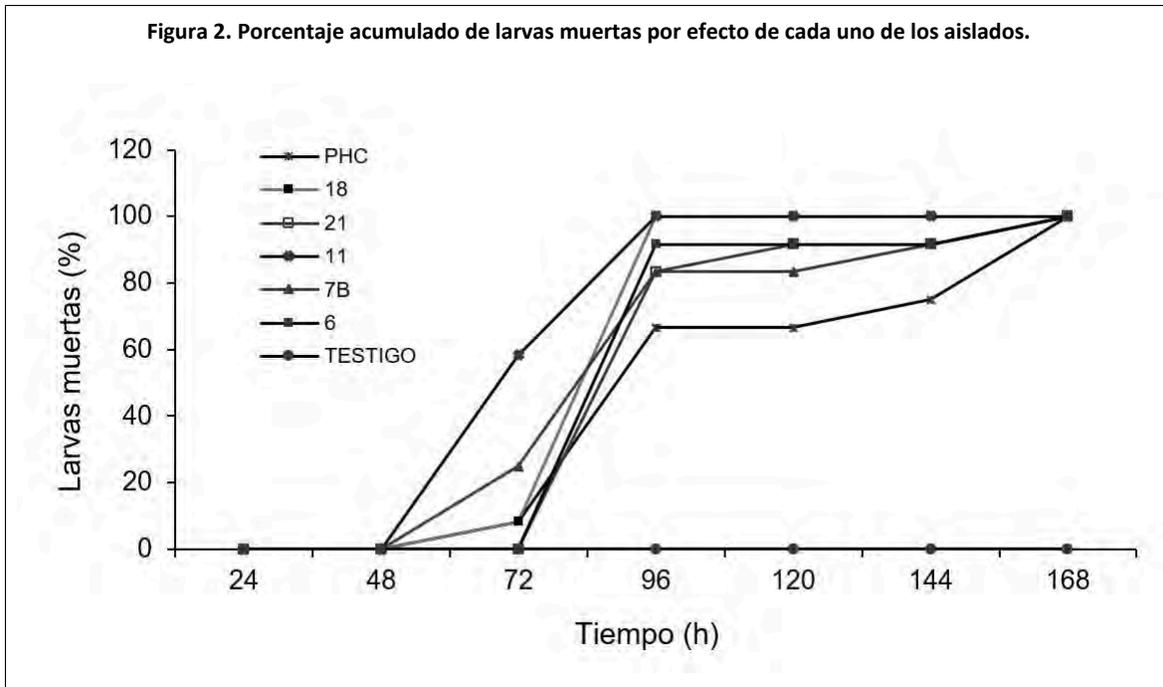
Este resultado mostró bajo número de aislamientos extraídos, además de baja diversidad, a diferencia de los resultados obtenidos por Pérez-González *et al.* (2014); Medo *et al.* (2016); Serna-Domínguez *et al.* (2019), quienes encontraron mayor diversidad de este género en diferentes sitios, así mismo, esto autores mencionan la asociación de grupos genéticos de *Beauveria bassiana* con el origen geográfico y tipos de hábitats, factores que podría estar implicado en la baja diversidad en este caso, debido a que sólo se tuvieron muestras de un lugar.

Por otra parte, de acuerdo con Serna-Domínguez *et al.* (2019); Toledo *et al.* (2019) es común detectar diversidad intraespecífica en este género de hongo además de dominancia de algunos de ellos en suelos agrícolas, y aunque en este caso no se analizó diversidad dentro de la especie si hubo dominancia de la especie *Beauveria bassiana* en este lugar de estudio.

Mortalidad y micosis de aislados sobre larvas de *Galleria mellonella*

Mortalidad de *Galleria mellonella* causada por aislados nativos de *Beauveria*: el análisis estadístico de los datos mostró diferencia significativa entre las interacciones de los factores, aislados x tiempo ($p \leq 0.05$) y aunque se observó diferencia en el aislado 11 (100% de mortalidad a las 96 h) (Figura 2).





Estadísticamente no se observó diferencia significativa entre los aislados, pero si con el testigo, incluso con el aislado identificado como *Beauveria pseudobassiana* y el aislado comercial los cuales tuvieron el 100% de la mortalidad hasta las 168 h. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ibrahim *et al.* (2016); Tuncsoy *et al.* (2020) quienes reportan mortalidad hasta de 98 y 100% con 1×10^6 esporas ml^{-1} de *Beauveria bassiana* después de 1.7 días de la aplicación. Asimismo, Vertyporokh *et al.* (2019) mencionan que *Beauveria bassiana* mata al huésped infectado por destrucción mecánica de sus tejidos con el micelio en crecimiento y por la acción de metabolitos secundarios secretados.

Por otra parte, hubo diferencia en los tiempos en que murieron las larvas ($p \leq 0.05$), donde se observó que la mayor cantidad de larvas murió a las 96 h; es decir, que al aplicar esporas de los aislados sobre larvas de *Galleria mellonella* L., se debe esperar su efecto después de 72 h y mayor mortalidad a las 96 horas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Larvas muertas por efecto de esporas de diferentes aislados de *B. bassiana* y *B. pseudobassiana* en diferentes tiempos.

Especie	Aislados	\bar{X} del factor aislado	Tiempo (h)	\bar{X} del factor tiempo
<i>Beauveria bassiana</i>	PHC	0.15476 a	24	0 c
<i>Beauveria bassiana</i>	18	0.15476 a	48	0 c
<i>Beauveria bassiana</i>	21	0.14286 a	72	0.14286 b
<i>Beauveria bassiana</i>	11	0.14286 a	96	0.14286 a
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	7B	0.14286 a	120	0.0119 c
<i>Beauveria bassiana</i>	6	0.14286 a	144	0.02381 c
	Testigo	0 b	168	0.07143 cb

Resultados similares fueron obtenidos por Alcazar (2007) en un estudio realizado con seis aislados en los cuales la mortalidad fue a las 72 h en todos los aislados probados, excepto en uno que presentó mayor actividad enzimática a las 48 h. También Vertyporokh *et al.* (2019) observaron

actividad antifúngica en la hemolinfa de larvas infectadas por *Beauveria bassiana* a las 96 h después de la infección.

En adición, de acuerdo con los resultados alcanzados en este estudio, Vertyporokh *et al.* (2019); Boston *et al.* (2020); Zhang *et al.* (2020) mencionan que a pesar que en las poblaciones de *Beauveria* se ha encontrado una baja diversidad genética, las especies muestran diferencia en su virulencia la cual está directamente relacionada con la mortalidad y aquellos organismos cuyos mecanismos de defensa o virulencia parecen ser más efectivos pueden sobrevivir a cierta dosis de esporas.

Micosis de los aislados nativos de *Beauveria* sobre larvas de *Galleria mellonella*: se observó diferencia significativa en las interacciones de los factores micosis y tiempo ($p \leq 0.05$). Asimismo, también se observó el efecto de micosis de los aislados de manera independiente, donde el aislado 11 identificado como *Beauveria bassiana* fue diferente ($p \leq 0.05$) al testigo con 100% de micosis, incluso fué diferente al aislado comercial PHC (20% de micosis) y *Beauveria pseudobassiana* (60% de micosis).

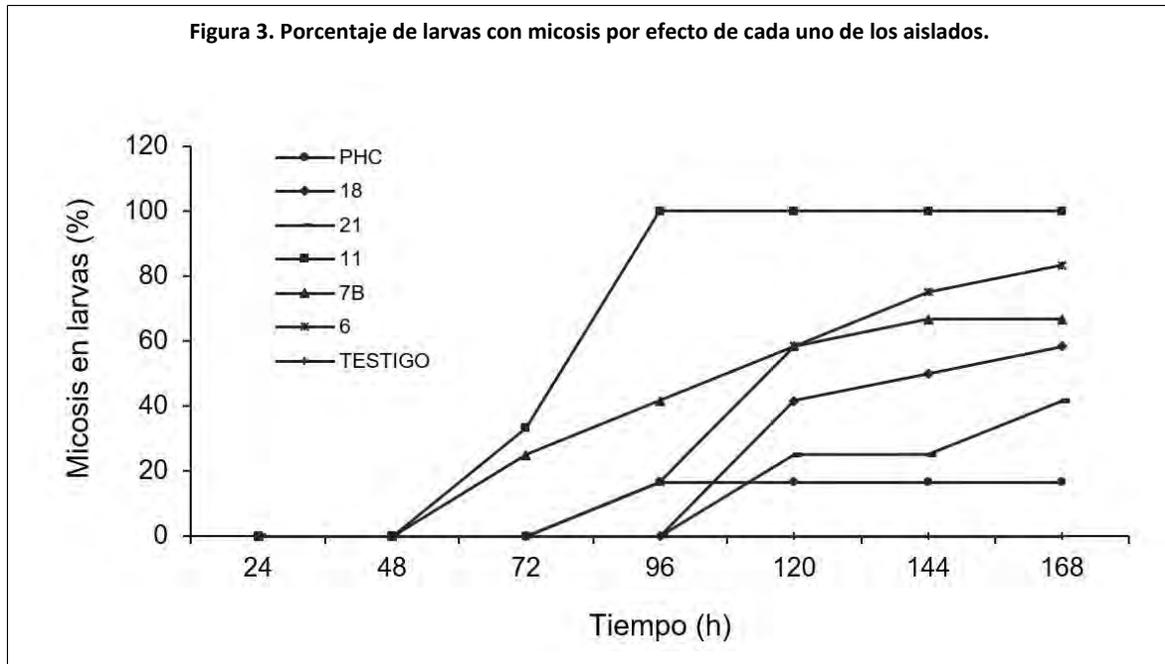
Algunos autores como Hajek *et al.* (2018); Hajek *et al.* (2021) mencionan ventajas en la capacidad de micosis de aislados de hongos ya ésta representa una oportunidad de dispersión de esporas para provocar epizootias y reducir poblaciones de insectos. Por otra parte, hubo diferencia significativa en los tiempos en que se presentó la micosis de larvas ($p \leq 0.05$) (Cuadro 2) y la mayor cantidad de larvas con micosis se observó a las 96 h (Figura 3).

Cuadro 2. Micosis por efecto de esporas de diferentes aislados de *Beauveria bassiana* y *Beauveria pseudobassiana* a diferentes tiempos.

Especie	Aislado	\bar{X} del factor aislado	Tiempo (h)	\bar{X} del factor tiempo
<i>Beauveria bassiana</i>	PHC	0.02381 bc	24	0 c
<i>Beauveria bassiana</i>	18	0.08333 bac	48	0 c
<i>Beauveria bassiana</i>	21	0.05952 bac	72	0.08333 bc
<i>Beauveria bassiana</i>	11	0.14286 a	96	0.22619 a
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	7B	0.09524 bac	120	0.11905 ba
<i>Beauveria bassiana</i>	6	0.11905 ba	144	0.04762 bc
	Testigo	0 c	168	0.04762 bc

Valores con letras diferentes son significativamente diferentes.





El tiempo de micosis reportado por Quintero-Zapata *et al.* (2020) fue de 48 h en larvas de mosquito *Aedes Aegypti*; sin embargo, este tipo de larvas son de menor tamaño y diferente especie lo que puede influir en el periodo de micosis a diferencia de *Galleria mellonella*. Al respecto, Rohrllich *et al.* (2018) de acuerdo con un estudio realizado al medir severidad de la enfermedad basada en la mortalidad y micosis observaron diferencia en micosis que dependía del rango de hospedantes de cada especie de *Beauveria* por lo que sugieren variación en el tiempo de micosis entre diferentes tipos de insectos.

Conclusión

Los aislados de *Beauveria bassiana* y *Beauveria pseudobassiana* pueden tener diferencias en capacidad de causar muerte en larvas de *Galleria mellonella*, incluso entre aislados de una misma especie de *Beauveria bassiana*. De esta manera, al conocer dichas diferencias podemos seleccionar aquellos aislados que sean potenciales para el control de otras larvas. Asimismo, el realizar estudios de identificación y mortalidad en tiempo con aislados nativos es de gran importancia ya que de acuerdo con estos resultados se puede tener un control efectivo de insectos de la región, además de servir como base para la investigación de nuevos experimentos.

Bibliografía

- Alcazar, P. A. G. 2007. Obtención de mutantes de *Beauveria bassiana* sobre productoras de proteasas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Tesis para obtener el grado de doctor en Ciencias con Especialidad en Biotecnología. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. 7-60 pp.
- Barbosa, P. R.; Angeli, A. L. F.; Mamprim, A. P. and Kusumota, B. A. 2017. Alternative phytosanitary products against to white muscardine in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Agricultural entomology. 84(1):1-7. Doi: 10.1590/18081657000642015. <https://www.scielo.br/j/aib/a/7FkbXWgJYn3Vh93 PkHZ5xt/?lang=en&format=pdf>.
- Barbosa, T. D. S.; De Andrade, D. J.; Polanczyk, R. A. and Duarte, R. T. 2018. Susceptibility of *Tetranychus ogmophallos* (Acari: Tetranychidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Fla Entomol. 101(2):249-253. <https://doi.org/10.1653/024.101.0215>.

- 4 Boston, W.; Leemon, D. and Cunningham, J. P. 2020. Virulence Screen of *Beauveria Bassiana* Isolates for Australian Carpophilus (Coleoptera: Nitidulidae). *Agronomy*. 10(8):2-10. <https://doi.org/10.3390/agronomy10081207>.
- 5 Bustillo, P. A. E. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: *Uso de entomopatógenos en Colombia*. Eds. Comité Regional de Cundinamarca SOCOLEN. 1^{ra} Ed. Publicado por Instituto de Ciencias Naturales. Bogotá, Colombia. 30-54 pp. <https://www.researchgate.net/publication/275462138-hongos-en-insectos-y-posibilidades-de-uso-en-el-control-biologico-de-plagas-en-colombia>.
- 6 Castro, L. M. A. y Martínez, O. J. W. 2019. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con *Chrysoperla externa* depredador de *Trialeurodes vaporariorum*. *Chilean J. Agric. Anim. Sci. Agro-Ciencia*. 35(1):38-48. <https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S0719-38902019000100038>.
- 7 Hajek, A. E.; Diss-Torrance, A. L.; Siegert, N. W. and Liebhold, A. M. 2021. Inoculative Releases and Natural Spread of the Fungal Pathogen *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) into US. Populations of gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae). *Environmental Entomology*. 50(5):1007-1015. <https://academic.oup.com/ee/article/50/5/1007/6329249>.
- 8 Hajek, A. E.; Steinkraus, D. C. and Castrillo, L. A. 2018. Sleeping Beauties: horizontal transmission via resting spores of species in the Entomophthoromycotina. *Insects*. 9(3):2-23. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6165266/pdf/insects-09-00102.pdf>.
- 9 Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*. 41(1):95-98. <https://www.academia.edu/2034992/BioEdit-a-user-friendly-biological-sequence-alignment-editor-and-analysis-program-for-Windows-95-98-NT>.
- 10 Humber, R. A. 1996. Fungi-Preservation. *In: Biological techniques in invertebrate pathology* lacey LA. Ed. Academic Press. London. 269-279 pp. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123868992/manual-of-techniques-in-invertebrate-pathology>.
- 11 Ibrahim, A. A.; Mohamed, H. F.; El-Naggar, S. E. M.; Swelim, M. A. and Elkhawaga, O. E. 2016. Isolation and selection of entomopathogenic fungi as biocontrol agent against the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Egypt J. Biol. Pest. Co.* 26(2):249-253. <https://www.researchgate.net/publication/306059663-isolation-and-selection-of-entomopathogenic-fungi-as-biocontrol-agent-against-the-greater-wax-moth-galleria-mellonella-l-lepidoptera-pyralidae>.
- 12 Jorjao, A. L.; de Oliveira, F. E.; Leao, M. V. P.; Jorge, A. O. C. and De oliveira, L. D. 2018. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on the response of *Galleria mellonella* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* infections. *Arch. Microbiol.* 200(3):383-389. <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/175561/2-s2.085035143871.pdf;jsessionid=D5C559F229879A4BD784671CCEFD763F?sequence=1>.
- 13 Kavanagh, K. and Sheehan, G. 2018. The use of *Galleria mellonella* Larvae to identify novel antimicrobial agents against Fungal species of medical Interest. *J. Fungi*. 4(3):1-13. <https://www.mdpi.com/2309-608X/4/3/113>.
- 14 Medo, J.; Michalko, J.; Medová, J. and Cagá#, L. 2016. Phylogenetic structure and habitat associations of *Beauveria* species isolated from soils in Slovakia. *Journal of Invertebrate Pathology*. 140(1):46-50. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.009>.
- 15 Orduño-Cruz, N.; Guzmán-Franco, A. W.; Rodríguez-Leyva, E.; López-Collado, J.; Valdéz-Carrasco, J. M and Mora-Aguilera, G. 2011. Susceptibility of the cactus weevil *Metamasius spinolae* to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* under laboratory and field conditions. *Journal Applied Microbiol.* 111(4):939-948. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21722279/>.

- 16 Pacheco, H. M. L.; Reséndiz, M. J. F. y Arriola, P. V. J. 2020. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 10(56):5-21. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>.
- 17 Pérez-González, V. H.; Guzmán-Franco, A. W.; Alatorre-Rosas, R.; Hernández-López, J.; Hernández-López, A.; Carrillo-Benítez, M. G. and Baverstock, J. 2014. Specific diversity of the entomopathogenic fungi *Beauveria* and *Metarhizium* in Mexican agricultural soils. *Journal of Invertebrate Pathology* . 119(1):54-61. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.04.004>.
- 18 Quintero-Zapata, M. S.; Flores-González, E. J.; Luna-Santillana, N.; Arroyo-González, C. and Gandarilla-Pacheco, F. L. 2020. Late effects of *Beauveria bassiana* on larval stages of *Aedes aegypti* Linneo, 1762 (Diptera: Culicidae). *Brazilian Journal of Biology*. 82(1):1-8. <https://www.scielo.br/j/bjb/a/gWZ7hDm5R8vmcbxHVQWgyf/?format=pdf&lang=en>.
- 19 Rehner, S. A. and Buckley, E. 2005. A *Beauveria* Phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-# Sequences: Evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* Teleomorphs. *Mycologia*. 97(1):84-98. <http://dx.doi.org/10.3852/mycologia.97.1.84>.
- 20 Ríos, D. R.; Vargas-Flores, J.; Sánchez-Choy, J.; Oliva-Paredes, R.; Alarcón-Castillo, T. y Villegas-Panduro, P. P. 2020. *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. *Scientia Agropecuaria*. 11(3):419-426. Doi: 10.17268/sci.agropecu.2020.03.14.
- 21 Rodríguez, D. A. y Del pozo, N. E. 2003. Aislamiento de hongos entomopatógenos en Uruguay y su virulencia sobre *Trialeurodes vaporariorum* (West). *Agrociencia*. 7(2):71-78. <http://www.acuedi.org/ddata/5564.pdf>.
- 22 Rohrlisch, C.; Merle, I.; Mze Hassani, I.; Verger, M.; Zuin, M. and Besse, S. 2018. Variation in physiological host range in three strains of two species of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. *Plos One*. 13(7):1-15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6033404/pdf/pone.0199199.pdf>.
- 23 SAS Institute Inc. 2002. The SAS system for windows version 9.0. North Carolina: SAS Institute Inc. Cary.
- 24 Serna-Domínguez, M. G.; Andrade-Michel, G. Y.; Rosas-Valdez, R.; Castro-Félix, P.; Arredondo-Bernal, H. C. and Gallou, A. 2019. High genetic diversity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in Colima, Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology*. 163(1):67-74. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.03.007>.
- 25 Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12):2725-2729. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24132122/>.
- 26 Toledo, A. V.; Franco, M. E. E.; Medina, R.; Marino de Remes, L. A. M. and Balatti, A. P. 2019. Assessment of the genetic diversity of Argentinean isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) using ISSR markers. *Journal of king saud University-Science*. 31(4):1264-1270. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.02.006>.
- 27 Van Driesche, R. G.; Hoddle, M. S.; Center, T. D.; Ruíz, C. E.; Coronada, B. J. y Manuel, A. J. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. Washington. U. S. D. A: 3-46. 1^{ra} Ed. Forest Health Technology Enterprise Team (FHTET) USDA ; 1400 independence Avenue, SW, Washington, DC. 1-765 pp. <https://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/vandriesche-control-y-plagas-web.pdf>.
- 28 Vertyporokh, L.; Hulas, S. M. and Wojda, I. 2019. Host pathogen interaction after infection of *Galleria mellonella* with the filamentous fungus *Beauveria bassiana*. *Insect Science*. 27(5):1079-1089. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12706>.
- 29 White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: PCR Protocols: a guide to methods and*

- applications. Ed. Academic Press, New York, USA. 315-322 pp. <https://www.researchgate.net/publication/262687766-amplification-and-direct-sequencing-of-fungal-ribosomal-rna-genes-for-phylogenetics>.
- 30 Zhang, Z.; Lu, Y.; Xu, W.; Sui, L.; Du, Q.; Wang, Y. and Li, Q. 2020. Influence of genetic diversity of seventeen *Beauveria bassiana* isolates from different hosts on virulence by comparative genomics. BMC Genomics. 21(451):2-12. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06791-9>.
- 31 Zimmermann, G. 1986. The "Galleria" bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of applied entomology. 102(2):213-215. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00912.x>.





Mortalidad de *Galleria mellonella* L. por *Beauveria bassiana* (bálsamo) Vuill (Ascomycota: Hypocreales)

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 February 2024
Date accepted: 01 April 2024
Publication date: 11 June 2024
Publication date: May-Jun 2024
Volume: 15
Issue: 4
Electronic Location Identifier: e3146
DOI: 10.29312/remexca.v15i4.3146

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Beauveria bassiana
Galleria mellonella L.
ADN
aislado
eficacia
tiempo.

Counts

Figures: 3
Tables: 2
Equations: 0
References: 31
Pages: 0