

Artículo de investigación

Viabilidad de conidias de hongos biocontroladores frente a surfactantes para su aplicación en formulados agrícolas

Viability of biocontrol fungal conidia against surfactants for application in agricultural formulations

Gustavo Bich^{1,2,3}, Lorena Castrillo^{1,2} y Martha Medvedeff³

¹Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular, Argentina.

²CONICET, Argentina.

³Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Laboratorio de Micología, Argentina.

*Autor de correspondencia: Gustavo Bich; gustavobich@gmail.com

Recibido: 11/03/2024 **Aceptado:** 08/02/2025

Resumen

Los surfactantes son sustancias que forman parte de formulaciones que contienen conidias para lograr suspensiones homogéneas, facilitar la determinación de su concentración y optimizar la aplicación en el biocontrol de plagas. Algunas sustancias tensioactivas también tienen propiedades de protección de las conidias expuestas a altas temperaturas y radiaciones UV. Sin embargo, se ha detectado que estos químicos también podrían actuar negativamente disminuyendo la viabilidad de las conidias fúngicas. El objetivo fue evaluar la viabilidad de suspensiones de esporas de hongos entomopatógenos que fueron adicionadas con los surfactantes polisorbato 80, glicerina o polietilenglicol 400. En general, los tres surfactantes evaluados mantuvieron altos porcentajes de viabilidad de las conidias. Sin embargo, se puede sugerir el empleo de la glicerina y/o el polietilenglicol 400 para el desarrollo de bioformulados dado que con estos surfactantes la disminución de la viabilidad de las conidias fue menor, como así también la cantidad de espuma generada. Finalmente, es necesario evaluar el grado en que un surfactante pueda inhibir o reducir la germinación de conidias de acuerdo con la cepa a utilizar, ya que se observaron diferencias significativas entre los surfactantes empleados en la cepa *M. anisopliae*, y no así cuando se empleó la cepa *B. bassiana*.

Palabras clave: Viabilidad de conidias, surfactantes, hongos biocontroladores.

Abstract

Surfactants are substances included in formulations containing conidia to achieve homogeneous suspensions and facilitate the determination of their concentration and application in pest biocontrol. Some surfactants also possess protective properties for conidia which are exposed to high temperatures and UV radiation. However, it has been observed that these chemicals could negatively affect conidia by reducing their viability. The objective of this study was to evaluate the viability of spore suspensions of entomopathogenic fungi supplemented with the surfactants polysorbate 80, glycerin, or polyethylene glycol 400. In general, the three surfactants evaluated maintained high percentages of conidia viability. However, the use of glycerin and/or polyethylene glycol 400 is recommended for bioformulation development, as these surfactants resulted in lower conidia viability reduction and less foam generation. Finally, it is necessary to assess the extent to which a surfactant can inhibit or reduce conidia germination depending on the fungal strain used, as significant differences were observed between the surfactants employed for the *M. anisopliae* strain but not for the *B. bassiana* strain.

Keywords: Conidial viability, surfactants, biocontrol Fungi.

1. Introducción

En el tratamiento de plagas y enfermedades de los cultivos agrícolas y forestales tradicionalmente se aplican productos químicos de manera masiva que por su composición o uso inadecuado pueden resultar tóxicos e inespecíficos, dado que además de eliminar a los organismos blanco, afectan la microbiota del suelo (1). Es por ello, que la utilización de bioinsumos a base de microorganismos como agentes de control biológico se presenta como un método alternativo, innovador, sustentable y ecoamigable.

Como agentes biológicos controladores de plagas, los hongos poseen mecanismos únicos de invasión, persistencia y propagación (2-5). En la actualidad, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* se encuentran entre las especies de hongos biocontroladores más estudiadas para el control biológico de insectos plagas (3-7).

La mayoría de los bioproductos con agentes de control de plagas se aplican por aspersión en diluciones acuosas concentradas (8). Estas formulaciones están compuestas por el principio activo, los adyuvantes y sus componentes inertes (8, 9). Entre los adyuvantes se encuentran los surfactantes o sustancias tensioactivas, que son agentes que mejoran propiedades tales como estabilidad, dilución y cobertura de los principios activos de algunas formulaciones en la agricultura como son los pesticidas (8, 10, 11). Por ello, la selección de un surfactante adecuado juega un rol crucial en la formulación de bioinsumos para el sector agrícola (12-14). Estas

sustancias inertes protegen a las esporas fúngicas durante el momento de la aplicación y evitan la sedimentación o formación de grumos (15).

Además, debido a las características de alta hidrofobicidad que en general presentan todas las conidias de los hongos biocontroladores, estos surfactantes son empleados para lograr suspensiones homogéneas de conidias, fáciles de titular y de aplicar de manera correcta al momento de realizar el biocontrol de plagas. Incluso, algunas de estas sustancias también tienen propiedades físico-químicas importantes de protección de las conidias frente a altas temperaturas, la desecación y la radiación UV (13, 16).

Entre los surfactantes comúnmente empleados para los ensayos con hongos entomopatógenos se encuentran el polisorbato 80 y la glicerina (10, 17-19); también existen otros posibles surfactantes poco evaluados con biocontroladores fúngicos como es el caso del polietilenglicol 400. Estas sustancias son empleadas como tales usualmente en diversas concentraciones desde títulos tan bajos como 0,01 % hasta proporciones tan altas como 10 % (14, 20, 21).

La persistencia y mantenimiento de la viabilidad de las conidias en el campo son factores críticos que influyen sobre la eficacia de los hongos entomopatógenos, y éstas dependen de variables ambientales como la temperatura y la radiación UV que incide en las conidias (22).

Si bien los surfactantes pueden debilitar las propiedades de adherencia de las conidias al cuerpo de los insectos (23), si no se aplica ningún tipo de coadyuvante en el bioinsumo las conidias pueden ser más propensas de perder su virulencia en menos tiempo (20, 22). Sin embargo, existen estudios como el de Morley-Davies et al. (18) que reportan que algunos adyuvantes en realidad pueden actuar disminuyendo la viabilidad de las conidias, por cuanto ambos tipos de condiciones deberían ser evaluadas para establecer si es conveniente o no la presencia de coadyuvantes en la formulación micoinsecticida del producto biológico.

Asimismo, la importancia de evaluar el grado en que una sustancia pueda inhibir o reducir la germinación de conidias, radica en que los elementos utilizados para una formulación no deben tener actividad biológica contra las esporas fúngicas (24). La viabilidad de las conidias de hongos biocontroladores debe ser de 95 % (20), o bien nunca menor a 80 % (25).

Teniendo en cuenta la importancia y recurrencia del empleo de surfactantes en el manejo de esporas de hongos biocontroladores en los laboratorios, en el presente trabajo se propuso el objetivo de evaluar la viabilidad de suspensiones de conidias de hongos entomopatógenos de las especies *B. bassiana* y *M. anisopliae* que fueron adicionadas con los surfactantes polisorbato 80, glicerina y Polietilenglicol 400.

2. Materiales y Métodos

2.1. Material biológico

Se emplearon dos cepas fúngicas biocontroladoras presentes en el cepario de hongos de interés biotecnológico del Instituto de Biotecnología Misiones de la Universidad Nacional de Misiones: una cepa de *Beauveria bassiana* (Nº de acceso LBM216) y una cepa de *Metarhizium anisopliae* (Nº de acceso LBM217). Estas cepas fueron reactivadas por 7 días en placas de Petri con Papa Dextrosa Agar 3,9 % g/L (PDA-Britania Lab) a 28 ± 1 °C con fotoperíodo – escotoperíodo: 12 h:12 h hasta que lograron una esporulación suficiente.

2.2. Surfactantes evaluados

Se evaluaron tres surfactantes comúnmente empleados en los laboratorios de microbiología agrícola como dispersantes de esporas fúngicas: Tween 80 (también conocido como polisorbato 80, Biopack®), Glicerina anhidra (Cicarelli®) y Polietilenglicol 400 (PEG - Biopack®). Todos fueron preparados a una concentración de 0,1 %, el pH se ajustó a $5,3 \pm 0,1$ y se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 1 atm, durante 15 minutos.

2.3. Prueba de viabilidad de conidias

Se utilizó como base la metodología propuesta por Teixeira y Farias (25), cada tratamiento correspondió a una de las sustancias empleadas como surfactante preparadas a una concentración final de 0,1 %. Cada surfactante fue empleado para preparar suspensiones con *B. bassiana* y con *M. anisopliae*. A cada tratamiento se le agregó una cantidad suficiente de conidias como para lograr una suspensión con una concentración aproximada de 10^6 conidias/mL y luego se homogeneizó con vortex durante 15 segundos y se registró la aparición de espuma. Como control negativo se empleó una suspensión de 10^6 conidias/mL de cada una de esas cepas fúngicas biocontroladoras en agua destilada estéril.

Luego se inocularon en placas de Petri con medio de cultivo PDA 3,9 % p/v (Britania Lab). Se incubaron las placas en condiciones controladas de temperatura a 28 ± 1 °C por 24 horas. Cumplido ese periodo, se adicionó una gota del colorante lactofenol azul de algodón sobre la superficie del medio de cultivo, y siguiendo metodología estandarizada se observó al microscopio óptico con los oculares de 400 X y 1000 X y se registró la viabilidad. el porcentaje de conidias fúngicas germinadas sobre el total de conidias contabilizadas por 100; entendiéndose como conidia germinada aquella que emitió un tubo germinativo de al menos dos veces el diámetro de la espora (26, 27). Para cada réplica se registró la viabilidad de las conidias presentes en 15 campos del microscopio o de al menos 300 conidias. Los tratamientos se llevaron a cabo con tres repeticiones. Posteriormente se llevó a cabo el análisis estadístico.

2.4. Análisis estadísticos

Los datos de viabilidad, se expresaron en porcentajes, se analizaron con ANOVA de una vía y se graficaron los datos de las medias obtenidas por los distintos tratamientos. En todos los casos el umbral de significancia estadística fue $p < 0,05$.

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurion XV (StatPoint, Inc., 2006).

3. Resultados y Discusión

Un surfactante adecuado debería reunir cualidades como ser antiespumante, humectante y emulsificante (28), y en el caso en particular de estudio de este trabajo formar suspensiones o mezclas con poca espuma para no dificultar las tareas subsecuentes de determinación de concentración y aplicación en los cultivos. Al elaborar las suspensiones de conidias con los distintos surfactantes se pudo observar que el tratamiento con glicerina formó muy poca espuma, al igual que el polietilenglicol que formó poca espuma y de poca consistencia que al cabo de algunos minutos desapareció. Sin embargo, el Tween 80 formó bastante cantidad de espuma persistente que demoró varios minutos más en disminuir.

Según autores como Monzón (20) y Teixeira y Faria (25), al emplear distintos aditivos en las suspensiones de conidias de hongos entomopatógenos, la viabilidad del principio activo (conidias fúngicas) en las pruebas de germinación idealmente debe ser superior al 80 % - 95 %. En la Figura 1 se presentan los resultados de la viabilidad de conidias encontradas para *B. bassiana*, *M. anisopliae* y HEP (hongos entomopatógenos) que corresponde a la combinación de los datos de ambas cepas.

En el ensayo realizado con la cepa *B. bassiana* se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la germinación de conidios cuando se utilizó el surfactante PEG con respecto a los demás surfactantes y el control negativo (agua estéril). Se pudo observar que los porcentajes de viabilidad de conidias más altos (>96%) se encontraron para el surfactante PEG. Estos índices de viabilidad son buenos; investigadores como Luz y Batagin (29) en sus ensayos con una cepa de *B. bassiana* evaluaron diferentes surfactantes, y encontraron que el surfactante Tween 80 fue el que presentó menores índices de reducción de viabilidad. Sin embargo, para estos investigadores el surfactante Tween 80 solo obtuvo una viabilidad cercana al 20 % para esa cepa de *B. bassiana*, lo que resalta la importancia de evaluar la viabilidad y compatibilidad de cada cepa biocontroladora en el desarrollo de un bioinsumo agrícola. Asimismo, otros autores utilizando otra cepa de *B. bassiana* encontraron porcentajes de viabilidad del 50 % para una concentración del 0,1 % del surfactante Tween 80 (30).

Por otro lado, en el ensayo realizado con la cepa de *M. anisopliae* se pudo observar que todos los ensayos realizados presentaron índices de viabilidad superiores a 92 % y los distintos

surfactantes presentaron diferencias significativas respecto al control negativo (agua estéril). Con agua estéril como control negativo se obtuvo el mayor porcentaje de viabilidad, indicando que para esta cepa todos los surfactantes disminuyen en bajo porcentaje la viabilidad de los conidios. Asimismo, se pudo observar que el ensayo con glicerina presentó un valor medio de viabilidad elevado del 97,8%, con diferencias significativas con el ensayo con Tween y sólo 1 % de viabilidad menor al ensayo del control negativo. Sin embargo, hay autores que ensayando compatibilidad de algunos surfactantes con una cepa de *M. anisopliae*, hallaron a la carboximetilcelulosa como surfactante adecuado, ya que el Tween 80 les provocó una reducción del 33% en el crecimiento fúngico (31). Estos resultados obtenidos refuerzan el fundamento y la necesidad de evaluar el grado en que un surfactante pueda inhibir o reducir la germinación de conidios, y que esta evaluación dependerá también del tipo de cepa biocontroladora a aplicar.

Para la combinación de datos de ambas cepas (HEP), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos surfactantes con el control negativo (agua estéril), y el surfactante que conservó la viabilidad de conidias más alta, con menos desvío, fue glicerina. Por cuanto, teniendo en cuenta los datos de viabilidad de ambas cepas de hongos entomopatógenos se podría sugerir la posibilidad de emplear cualquiera de los surfactantes evaluados en la preparación de suspensiones de conidias; sin embargo, si se consideran globalmente todas las cualidades de un surfactante de uso agrícola adecuado, se podría recomendar a la glicerina y/o el PEG como los surfactantes que mantienen la mayor viabilidad de conidias y que además producen la menor cantidad de espuma.

También se deben considerar que los surfactantes utilizados comúnmente en la agricultura pueden tener algún grado de toxicidad sobre los cultivos vegetales o forestales en los cuales se aplica. Así, por ejemplo, Gálvez et al. (32) encontraron que el surfactante Sulfato de Sodio Dodecil era uno de los más fitotóxicos, y recomendaban en concentraciones bajas al Tween 80 como adecuado como surfactante en agricultura.

Posteriores investigaciones se pueden enfocar en evaluar a la glicerina como surfactante con otras capacidades como protección a condiciones de estrés como radiación UV o temperaturas extremas.

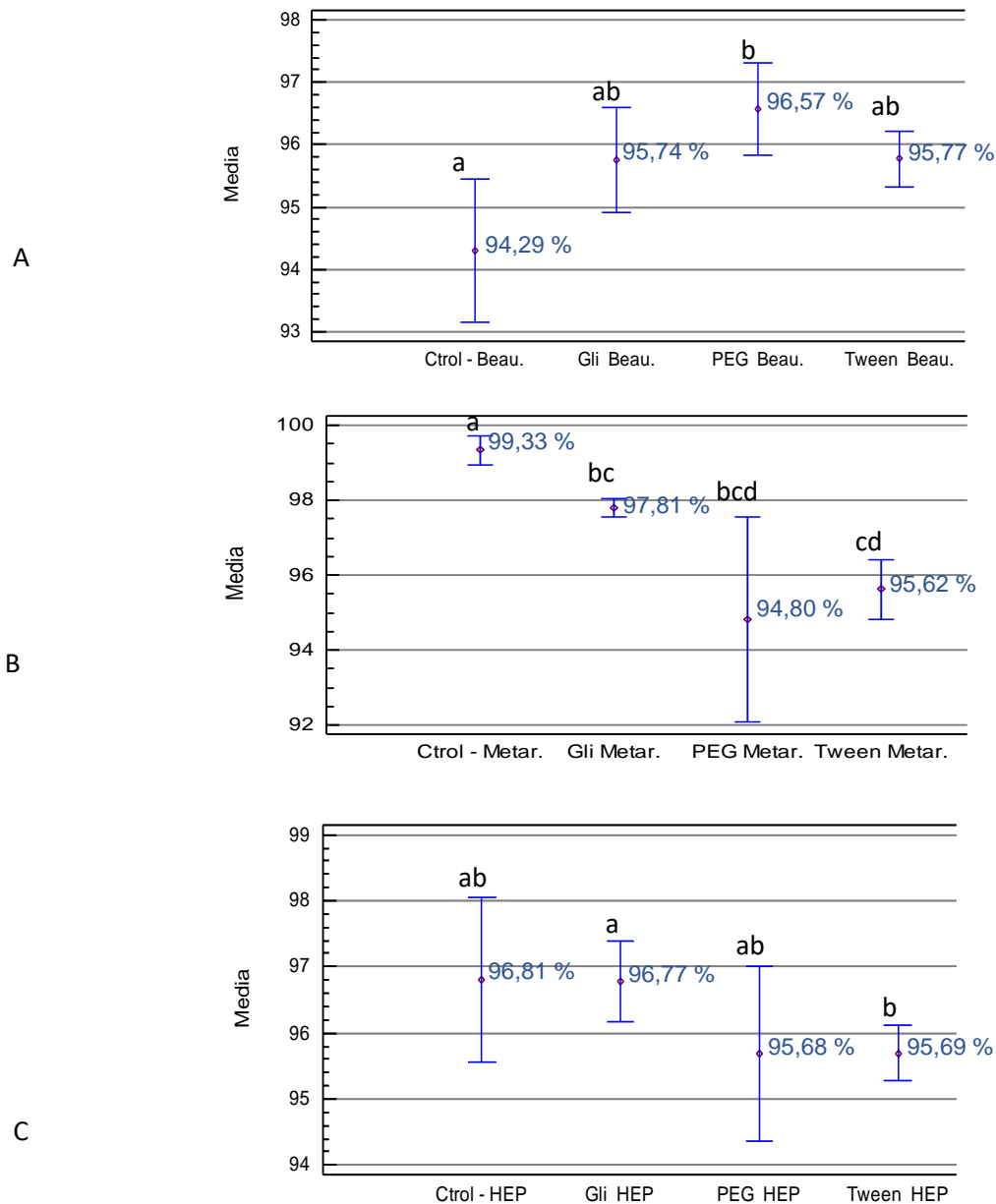


Figura 1. Viabilidad de conidias de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y su combinación frente a los surfactantes Glicerina, Polietilenglicol y Polisorbato. **A-** Determinaciones con *B. bassiana* (Beau), **B-** Determinaciones con *M. anisopliae* (Metar), **C-** Determinaciones con la combinación *B. bassiana* y *M. anisopliae* (HEP). Abreviaturas: **Ctrl**: Control negativo. **Gli**: Glicerina. **PEG**: Polietilenglicol. **Beau.**: *Beauveria*. **Metar.**: *Metarhizium*. **HEP**: Hongos entomopatógenos. Las barras indican las Medias y error estándar. A la derecha de cada barra en azul se indica el valor de la Media estadística.

4. Conclusiones

Todas las sustancias empleadas como surfactantes (Polisorbato 80, glicerina o polietilenglicol 400) mantuvieron índices de viabilidad de conidias elevados, por lo cual cualquiera de ellas puede emplearse como surfactante en las suspensiones de conidias en las concentraciones propuestas. Sin embargo, se puede sugerir a la glicerina y/o el polietilenglicol 400) como los

surfactantes evaluados que mantuvieron altos índices de viabilidad de las conidias y que además generaron la menor cantidad de espuma para su aplicación agrícola.

Además, los resultados obtenidos con la cepa de *M. anisopliae* refuerzan la necesidad de evaluar el grado en que un surfactante pueda inhibir o reducir la germinación de conidias, ya que se pudo observar que esta evaluación va a depender del tipo de cepa biocontroladora a aplicar.

Conflicto de interés: Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés con respecto a la publicación de este artículo.

Bibliografía

1. BURGOS, O., LOPEZ, R., y RAMIREZ, A. La revolución verde, el desarrollo agrícola, la industria y la economía en Ecuador. Provincia El Oro. Estudio de caso. 2018. Revista Científica Agroecosistemas, 6(2), 178-184.
2. MANFRINO, R. G., D'ALESSANDRO, C. P., LECUONA, R. E. y LOPEZ LASTRA, C. C. Uso de los hongos entomopatógenos para el control microbiano de artrópodos en cultivos hortícolas. 2020. p. 188-216. ISBN: 978-987-8333-43-4
3. TELES, A. M., CASTRO, A. y ALMEIDA-SOUZA, F. Entomopathogenic fungi as biological control agents. 2024. Biorationals and Biopesticides: Pest Management, 181: 181-198. <https://doi.org/10.1515/9783111204819-009>
4. ALARCÓN, L. E. Efecto *Beauveria bassiana* a21 y *Metarhizium anisopliae* a13 sobre *Rhipicephalus microplus* (garrapatas de ganado bovino) en laboratorio y campo. Tesis de Ingeniería en Biotecnología Ambiental. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2023.
5. DELGADO BURGOS, K. A. Producción y uso del hongo *Metarhizium anisopliae* Mestsh Sor 1879 en el control del picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus* Germar 1824. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. 2024.
6. BAPFUBUSA NIYIBIZI, I. A., HANNA, R., KEKEUNOU, S., MEMBANG, G., FIABOE, K. K. M., MAHOT, H. C., ABANG, A.F., LAVA, P. y FOTSO KUATE, A. Potential of Cameroon-indigenous isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* as microbial control agents of the flea beetle *Nisotra uniformis*. 2023. Biocontrol Science and Technology, 33(3), 226-240.
7. FIGUEROA, L. B. P., MAMANI, R. C. C., DE SOUZA, D. C., DE SOUZA ALVES, J. C., DE SOUZA, S. A., FERREIRA, C. B., MOREIRA, T., TERRA, W. y DE FREITAS SOARES, F. E. Enzyme production by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their application in the control of nematodes (*Haemonchus* spp. and *Meloidogyne* incognita) in vitro. 2024. Journal of Natural Pesticide Research, 8, 100077.

8. GIORDANO, D. F., ERAZO, J. G., PASTOR, N. A., DEL CANTO, A., MORTIGLIENGO, S., ROSSO, M., COELHO DA SILVA, I., ODDINO, C. M., y TORRES, A. M. Uso de bioformulados a base de *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 y *Pseudomonas* sp. RC-93 para el manejo de la viruela tardía del maní en condiciones de invernadero. 2020. X Congreso Latinoamericano de Micología. <http://hdl.handle.net/11336/228281>
9. ANDRADE, F., TABADA, M., LEMA, M., MACEIRA, N., ECHEVERRÍA, H., POSSE, G., PRIETO, D., SANCHEZ, E., DUCASSE, D., BOGLIANI, M., GAMUNDI, J. C., TRUMPER, E., FRANA, J., PEROTTI, E., FAVA, F., MASTRÁNGELO, M. Los desafíos de la agricultura argentina. Satisfacer las futuras demanda y reducir el impacto ambiental. 2017. Ediciones INTA. Libro digital, p. 120. <https://acortar.link/eRJZIG>
10. ACUÑA JIMENES, M., GARCÍA GUTTIERREZ, C., ROSAS GARCÍA, N. M., LÓPEZ MEYER, M., SAÍNZ HERNANDEZ, J. C. Formulación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra *Heliothis virescens* (Fabricius). 2015. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 219-226. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v31n3/v31n3a1.pdf>
11. CASTRO, M.J., OJEDA, C. y CIRELLI, A.F. Advances in surfactants for agrochemicals. *Environmental chemistry letters*. 2014. 12(1), 85-95. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0432-4>.
12. STAROBINSKY, G., MONZÓN, J., DI MARZO BRONGGI, E., y BRAUDE, H. Bioinsumos para la agricultura que demandan esfuerzos de investigación y desarrollo. 2021. Consejo para el Cambio Estructural - Ministerio de Desarrollo Productivo de la Nación. <https://acortar.link/eRJZIG>
13. PAIXÃO, F.R.S., MUNIZ, E.R., BARRETO, L.P., BERNARDO, C.C., MASCARIN, G.M., LUZ, C. y FERNANDES, É.K. Increased heat tolerance afforded by oil-based conidial formulations of *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium robertsii*. *Biocontrol Science and Technology*. 2017. 27(3), 324-337. <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1281380>
14. WAN, Q., ZHAO, J., LI, H., LI, H., WANG, C. y PAN, B. The wetting behavior of three different types of aqueous surfactant solutions on housefly (*Musca domestica*) surfaces. *Pest Management Science*. 2020. 76(3), 1085-1093. <https://doi.org/10.1002/ps.5620>
15. PACHECO HERNANDEZ, M. L., RESÉNDIZ MARTINEZ, J. F., ARRIOLA PADILLA, V. J. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. 2019. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>.
16. KAISER, D., BACHER, S., MÉNE-SAFFRANÉ, L. y GRABENWEGER, G. Efficiency of natural substances to protect *Beauveria bassiana* conidia from UV radiation. *Pest management science*. 2019. 75(2), 556-563. <https://doi.org/10.1002/ps.5209>
17. TRINH, D.N., HA, T.K.L., y QIU, D. Biocontrol potential of some entomopathogenic fungal strains against bean aphid *Megoura japonica* (Matsumura). 2020. *Agriculture*, 10(4), 114.
18. BUKHARI, T., TAKKEN, W., KOENRAADT, C. J. M. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. 2011. *Parasit Vectors*. 22, 4:23. <https://doi: 10.1186/1756-3305-4-23>

19. HERNÁNDEZ, N.; PÉREZ, N. y TOLEDO, J. Patogenicidad de tres cepas de hongos entomopatógenos a adultos de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) en condiciones de laboratorio. *Acta Zoológica Mexicana*. 2010. 26: 481-494. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372010000300001
20. MONZÓN, A. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. Manejo Integrado de Plagas*. 2001. 63: 95-103. Disponible en: <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6723>.
21. ANSARI, M. y BUTT, T. Susceptibility of different developmental stages of large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) to entomopathogenic fungi and effect of fungal infection to adult weevils by formulation and application methods. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2012. 111: 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.05.006>
22. THOMPSON, S., BRANDENBURG, R. y ARENDS, J. Impact of moisture and UV degradation on *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin conidial viability in turfgrass. *Biological Control*. 2006. 39: 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.08.004>
23. HEGEDUS, D. y KHACHATOURIANS, G. The impact of biotechnology on hyphomycetous fungal insect biocontrol agents. *Biotechnology Advances*. 1995. 13, 455–490. [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(95\)02006-o](https://doi.org/10.1016/0734-9750(95)02006-o).
24. CARBALLO, M. Formulación de hongos entomopatógenos. *Revista Manejo Integrado de Plagas*. 1998. 47: 1-4.
25. TEIXEIRA, R. y FARIA, M. Pequeno manual sobre fungos entomopatógenos. Embrapa Cerrado, DF. Brazil. 2010. Disponible en: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77782/1/doc-286.pdf>
26. FERNÁNDEZ-BRAVO, M., BONNET, J., QUESADA-MORAGA, E. y GARRIDO-JURADO, I. Imperfect match between radiation exposure times required for conidial viability loss and infective capacity reduction attenuate UV-B impact on *Beauveria bassiana*. 2024. *Pest Management Science*, 80(3), 1557-1565.
27. AMES DE ICOCHEA, T. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. International Potato Center. 2004. 68 p. Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>.
28. RUANO, A. Y. H. Evaluación de dos surfactantes para mejorar la eficiencia de la fertilización foliar en el cultivo de caña de azúcar (Disertación Tesis Licenciatura en Ingeniería en Tecnología Agrícola y Pecuaria. Universidad del Valle de Guatemala). 2022. 52 p.
29. PERFETTI, D. C., MORALES MORENO, P. Efecto de formulaciones acuosas y aceitosas de 13 aislamientos nativos de *Beauveria Bassiana* (Ascomycota) sobre *Rhodnius Prolixus* (Triatominae) bajo condiciones experimentales. 2016. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12564>
30. SWATHI, P., GANGA VISALAKSHY, P.N. y DAS, S.B. *In vitro* evaluation for compatibility of additives with *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. 2018. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 1-5.

Bich, G.; Castrillo, L.; Medvedeff, M. Viabilidad de conidias de hongos biocontroladores frente a surfactantes para su aplicación en formulados agrícolas.

31. RAYPURIYA, N., DAS S.B. y BHOWMICK, A.K. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, with various adjuvants. 2019. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7, 544-547.
32. GÁLVEZ, A., LÓPEZ-GALINDO, A. y PEÑA, A. Effect of different surfactants on germination and root elongation of two horticultural crops: implications for seed coating. 2019. *New Zealand journal of crop and horticultural science*, 47(2), 83-98.