



# Evaluación del desarrollo de estructuras infectivas y efecto de *Beauveria bassiana* en el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) bajo condiciones de alta temperatura

*Evaluation of the development of infective structures and the effect of Beauveria bassiana on the growth of tomato seedlings (Solanum lycopersicum) under high-temperature conditions*

*Avaliação do desenvolvimento de estruturas infectantes e efeito de Beauveria bassiana no crescimento de mudas de tomateiro (Solanum lycopersicum) sob condições de altas temperaturas*

Estefani Mariel Villalobos-Álvarez<sup>1\*</sup>, Ruth Castro-Vásquez<sup>2</sup>,  
Luis Vega-Corrales<sup>3</sup>, Junior Pastor Pérez-Molina<sup>4,5</sup>

Received: Aug/29/2023 • Accepted: Jul/29/2024 • Published: Jan/31/2025

## Resumen

**[Objetivo]** Se evaluó el desarrollo *in vitro* de estructuras infectivas de cepas de *Beauveria* spp. y su efecto en el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en condiciones de alta temperatura. **[Metodología]** Se comparó el desarrollo de 5 cepas de *Beauveria* spp. en condiciones óptimas y de alta temperatura (hasta 35 °C) en relación con la producción de conidios, crecimiento del micelio y germinación. Posteriormente, se evaluó el efecto de la cepa con mejores resultados de desarrollo en el crecimiento de plántulas de *S. lycopersicum*, cultivar 'Gladiator', bajo las mismas condiciones de temperatura. Cada cepa fue identificada por PCR con la amplificación de la zona intergénica nuclear Bloc y el factor de elongación EF1- $\alpha$ . **[Resultados]** Las cepas se identificaron como *Beauveria bassiana* de linaje neotropical. No se encontraron diferencias significativas en la producción de conidios entre tratamientos ( $p$ -value  $>0.05$ ) a diferencia del crecimiento del micelio. Se observaron cambios leves, pero significativos en las relaciones de raíz a superficie, no así en las demás variables evaluadas y solo para las plántulas a las que se le aplicó la cepa H-31 **[Conclusiones]** Se determinó el potencial entomopatógeno

\* Corresponding author

Estefani Mariel Villalobos-Álvarez, ✉ [estefani.villalobos.alvarez@gmail.com](mailto:estefani.villalobos.alvarez@gmail.com),  <https://orcid.org/0000-0003-0842-8215>

Ruth Castro-Vásquez, ✉ [rcastrov@inta.go.cr](mailto:rcastrov@inta.go.cr),  <https://orcid.org/0000-0002-2796-1536>

Luis Vega-Corrales, ✉ [luis.vega.corrales@una.ac.cr](mailto:luis.vega.corrales@una.ac.cr),  <https://orcid.org/0000-0003-3389-4373>

Junior Pastor Pérez-Molina, ✉ [junior.perez.molina@una.ac.cr](mailto:junior.perez.molina@una.ac.cr),  <https://orcid.org/0000-0002-3396-0599>

1 Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

2 Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, Laboratorio de Biología Molecular, Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica.

3 Escuela de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología Marina, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

4 Escuela de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Ecología Funcional y Ecosistemas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

5 Escuela de Biología, Laboratorio de Biología Funcional, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.



de *B. bassiana* en condiciones de estrés ambiental como las altas temperaturas del clima tropical. Se establece, además, la base para la bioprospección de microorganismos termotolerantes con potencial agrobiotecnológico en escenarios de calentamiento global.

**Palabras clave:** termo-tolerancia; hongos entomopatógenos; control biológico; promotor de crecimiento; estrés fisiológico.

### Abstract

**[Objective]** The paper aimed to evaluate *in vitro* development of infective structures of *Beauveria* spp. strains and their effect on the growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*) under high-temperature conditions. **[Methodology]** The development of five strains was compared under both optimal and high-temperature conditions (up to 35°C) regarding the production of conidia, mycelium growth, and germination. Subsequently, the effect of the strain with the highest yield on the growth of seedlings of *S. lycopersicum*, cultivar 'Gladiator', was assessed under the same temperature conditions. Furthermore, each strain was identified using PCR amplification of the nuclear intergenic region Bloc and elongation factor EF1- $\alpha$ . **[Results]** Strains were identified as *Beauveria bassiana* of neotropical lineage. No significant differences were found in the conidia production between treatments (p-value > 0.05), as opposed to mycelial growth. Minor but significant changes were observed in root-to-surface ratios but not in any other evaluated variables, and only for seedlings treated with strain H-31. **[Conclusions]** The entomopathogenic potential of *B. bassiana* was determined under environmental stress conditions, such as high temperatures typical of tropical climates. This study also lays the groundwork for the bioprospecting of thermotolerant microorganisms with agrobiotechnological potential in global warming scenarios.

**Keywords:** thermo-tolerance; entomopathogenic fungi; biologic control; growth promoter; physiological stress.

### Resumo

**[Objetivo]** Foi avaliado o desenvolvimento *in vitro* de estruturas infecciosas de cepas de *Beauveria* spp. e seu efeito no crescimento de mudas de tomate (*Solanum lycopersicum*) sob condições de altas temperaturas. **[Metodologia]** O desenvolvimento de 5 cepas de *Beauveria* spp. em condições ideais e alta temperatura (até 35 °C) em relação à produção de conídios, crescimento micelial e germinação. Posteriormente, avaliou-se o efeito da cepa com melhores resultados de desenvolvimento no crescimento de mudas de *S. lycopersicum*, cultivar 'Gladiator', nas mesmas condições de temperatura. Cada cepa foi identificada por PCR com a amplificação da região intergênica nuclear Bloc e do fator de alongamento EF1- $\alpha$ . **[Resultados]** As cepas foram identificadas como *Beauveria bassiana* de linhagem neotropical. Não foram encontradas diferenças significativas na produção de conídios entre os tratamentos (valor de p > 0,05) diferentemente do crescimento do micélio. Foram observadas pequenas, porém significativas, alterações nas relações raiz-superfície, mas não nas demais variáveis avaliadas e apenas para as mudas nas quais foi aplicada a cepa H-31 **[Conclusões]** Foi determinado o potencial entomopatogênico de *B. bassiana* em condições de estresse ambiental, como as altas temperaturas do clima tropical. Estabelecem-se também as bases para a bioprospeção de microrganismos termotolerantes com potencial agrobiotecnológico em cenários de aquecimento global.

**Palavras-chave:** termotolerância; fungos entomopatogênicos; controle biológico; promotor de crescimento; estresse fisiológico.



## Introducción

El uso inadecuado de insecticidas químicos ha generado plagas más resistentes, al tiempo que ha aumentado los efectos de la contaminación ambiental (Naqqash *et al.*, 2016). Actualmente, hay una tendencia a utilizar insecticidas diamidas y nicotínicos (Umetsu y Shirai, 2020), lo cual podría afectar de forma negativa a las especies de abejas, invertebrados acuáticos y otros organismos no objetivo (Borsuah *et al.*, 2020). Además, algunos insumos químicos han disminuido su eficacia; por ejemplo, los lepidópteros presentan resistencia a las diamidas (Richardson *et al.*, 2020). Debido a esto, desde hace varios años se está en la búsqueda de alternativas sostenibles de control, como los hongos entomopatógenos (Furuie *et al.*, 2022; Zeina *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2020). Entre los productos más comunes a base de hongos se encuentran: *Beauveria bassiana* (33.9 %), *Metarhizium anisopliae* (33.9 %), *Isaria fumosorosea* (5.8 %), *B. brongniartii* (4.1 %) y otros (22.3 %), esto de un total de 171 productos contabilizados (Faria y Wraight, 2007). En cuanto a investigaciones, hay un total de 2 445 artículos que coinciden con el término “Beauveria” en la búsqueda realizada en PubMed.gov (figura 1). Se destacan avances científicos en las décadas de 1960 a 1990, pero no fue hasta el periodo 2000-2021 que el número de documentos

comenzó a aumentar significativamente, abarcando el 92 % de todas las referencias bibliográficas. En este análisis, la palabra clave más común es “control biológico de plagas”, lo cual demuestra el notable interés y la gran cantidad de estudios de este género y la gran cantidad de estudios de este género en lo relacionado a su potencial entomopatógeno para fines agrícolas. Sin embargo, hay aspectos menos explorados que podrían mejorar el uso de estos hongos, como su supervivencia en condiciones adversas y su potencial como biofertilizantes.

El calentamiento global en regiones de clima tropical podría entorpecer las estrategias de control biológico basadas en *B. bassiana*, pues factores como las altas temperaturas y la baja humedad pueden limitar su rendimiento (Vidal y Fargues, 2007). Por ejemplo, la germinación óptima de las conidias de este hongo varía entre 25 y 30 °C (Mwamburi *et al.*, 2015), sin embargo, las cepas expuestas a temperaturas de ~30 °C

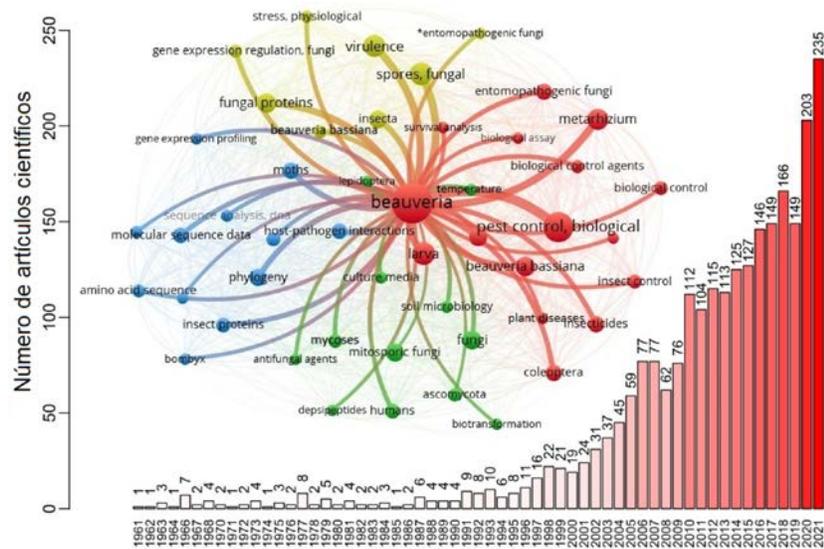


Figura 1. Número de artículos científicos relacionados con *Beauveria* spp. en PubMed.gov, 1961-2021 ( $n = 2\,445$ ), con el descriptor de búsqueda “Beauveria” [Título/Resumen]. Análisis de clúster de las 50 palabras más relevantes, por medio de la distancia de Kullback-Leibler para comparar la distribución de las coocurrencias de palabras con la distribución general de palabras. El análisis cuantitativo se realizó con el software VOSviewer, versión 1.6.16. Fuente: propia de la investigación.



pueden mostrar un crecimiento reducido y por encima de los 34 °C pueden resultar letales (Abdulhai *et al.*, 2010; Hiromori *et al.*, 2004). Es un hecho que estas altas temperaturas son fácilmente alcanzables en un clima tropical, por lo que las cepas termotolerantes y aisladas de insectos muertos infectados en climas tropicales secos podrían ser una opción. La mejora genética de este hongo también podría ser una estrategia (Ortiz-Urquiza *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2010), no obstante, este enfoque está limitado por los términos regulatorios relacionados con el uso de organismos modificados genéticamente, cuyos posibles efectos ambientales aún son inciertos (Koenraadt y Takken, 2011).

*B. bassiana* es conocida por su potencial en el manejo de plagas, pero su potencial como promotor del crecimiento en plantas ha sido menos explorado (Sinno *et al.*, 2021). Entre los posibles beneficios de la asociación planta-hongo se encuentran: i) mejoras en la respuesta de las plantas a los cambios ambientales, al presensibilizar el metabolismo celular de las plantas, lo cual les permite enfrentar y sobrevivir al estrés ambiental de manera más eficiente (Sturz y Nowak, 2000), ii) propiciar el intercambio de compuestos que permiten el correcto funcionamiento metabólico entre la planta y el hongo (Mishra *et al.*, 2018), y iii) aumento de la disponibilidad de nutrientes, mejora de la calidad del suelo, producción de antibióticos y sustancias que aumentan el crecimiento de las plantas (Ciccillo *et al.*, 2002; Lodewyckx *et al.*, 2002). Al establecer una asociación endófito, se ha registrado un incremento significativo en el crecimiento de las plantas, además, estas asociaciones mantienen las plagas dentro de límites manejables (Barra-Bucarei *et al.*, 2019). Por ejemplo, Pachoute *et al.* (2021) registraron aumentos significativos en la biomasa de las

plantas de caupí (*Vigna unguiculata*), explicados por un aumento en las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub>, la conductancia estomática y el contenido total de clorofila. Mantzoukas *et al.* (2021) demostraron no solo la colonización exitosa del endófito *B. bassiana*, sino también un notable efecto en el crecimiento de las raíces de la vid (*Vitis vinifera*) sin dañar la planta y Russo *et al.* (2019) informaron que las plantas de maíz inoculadas con *B. bassiana* presentaron un aumento en la altura, el número de hojas, el peso del grano, el rendimiento y el porcentaje de germinación de las semillas en comparación con las plantas de control.

En todos estos estudios, se determinó que la reducción significativa en las plagas y la capacidad del hongo para colonizar plantas contribuyen al conocimiento existente sobre su actividad entomopatógena y resalta su impacto beneficioso en el crecimiento y rendimiento de los cultivos. El objetivo de esta investigación fue evaluar *in vitro* el desarrollo de estructuras infectivas de cinco cepas de *Beauveria* spp. aisladas de insectos parasitados recolectados en diferentes regiones de clima tropical en Costa Rica y su efecto en el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*, cultivar ‘Gladiator’) en condiciones de alta temperatura.

## Metodología

### Cepas de *Beauveria* spp.

Se utilizaron las cepas de *Beauveria* spp.: INTA-H26, INTA-H30, INTA-H31, INTA-H49 e INTA-H50 (en lo sucesivo: H-26, H-30, H-31, H-49 y H-50), del Banco de Microorganismos del Laboratorio de Fitoprotección del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología



Tabla 1. *Especies hospederas y ubicación geográfica de los sitios de aislamiento de las cepas de Beauveria spp. utilizadas en esta investigación.*

Nombre científico	Código	Hospedero	Latitud	Longitud	Lugar de colecta (provincia)	Año de colecta
<i>Beauveria</i> spp.	INTA-H26	<i>Diaphorina citri</i>	10.8368	-84.6202	Alajuela	2013
<i>Beauveria</i> spp.	INTA-H30	<i>Hypothenemus hampei</i>	9.9753	-84.1399	Heredia	2013
<i>Beauveria</i> spp.	INTA-H31	<i>Hypothenemus hampei</i>	9.9833	-84.1833	Heredia	2013
<i>Beauveria</i> spp.	INTA-H49	<i>Bemisia tabaci</i>	11.0333	-84.7166	Alajuela	2017
<i>Beauveria</i> spp.	INTA-H50	<i>Aulacorthum solani</i>	10.0939	-84.4238	Alajuela	2012

Nota: fuente propia de la investigación.

Agropecuaria (INTA), aisladas a partir de insectos muertos parasitados recolectados de diferentes regiones de Costa Rica (tabla 1), con temperaturas que oscilan entre 19 °C min. y 35 °C máx. y ~70 % de humedad relativa. Las cepas se almacenaron en discos de papel filtro (0.5 cm de diámetro) en aceite a -20 °C.

### Identificación taxonómica

La caracterización molecular se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del INTA. La extracción de ADN se realizó con 20 mg de micelio con 15 días de incubación en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), según el procedimiento descrito por Hoyos-Carvajal *et al.* (2008). Se maceró el micelio en 500 µL del buffer de extracción (Tris-HCl 200 mM pH 7.2, EDTA 50 mM, SDS 3 %, NaCl 1 M y Mercaptoetanol 0.2 %), la mezcla resultante se incubó a 60 °C durante 30 min y se agitó cada 10 min con un agitador vortex. Posteriormente, se añadió 500 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y se mezcló hasta formar una masa blanca. Luego, se centrifugó a 8 154 g durante 15 min y al sobrenadante se le añadió 0.54 veces el volumen de isopropanol. Se centrifugó a 4 313 g durante 5 min, se descartó el sobrenadante, se dejó secar el sedimento y luego se resuspendió en 300 µL de buffer Tris-EDTA. Se añadió acetato de sodio pH 5.2 (0.3 M) y dos

veces el volumen de etanol absoluto y luego se centrifugó a 2 426 g durante 10 min. Se descartó el sobrenadante y se lavó el precipitado con 200 µL de etanol al 70 %, se dejó reposar por 1 h y se centrifugó a 4 313 g durante 10 min. Finalmente, el precipitado se dejó secar y se resuspendió en 100 µL de buffer Tris-EDTA, el cual se incubó a 37 °C durante 10 min. La integridad del ADN se determinó mediante un espectrofotómetro (Thermo Scientific®).

La identificación molecular de las cepas se realizó con la amplificación de dos regiones: 1) la del gen de factor de elongación-1 alfa (EF1- $\alpha$ ) por la técnica PCR Touchdown, los cebadores utilizados fueron 983F (10 µM) 5'-GCYCCYGGHCAY-CGTGAYTTYAT-3' y 2218R 5'-ATGACACCRACRGCRACRGTYTG-3' (Rehner y Buckley, 2005) y 2) la región intergénica nuclear del locus B (Bloc) mediante PCR de punto final, con los cebadores B5.1F (10 µM) 5'-CGACCCGGCCAACTACTTTGA-3' y B3.1R 5'-GTCTTCCAGTACCACTACGCC-3' (Rehner *et al.*, 2006). Los reactivos para la PCR fueron: 2X DreamTaq polimerasa Master Mix (Thermo Scientific®, K1071) y 10 ng µL-1 ADN de volumen final 25-50 µL. Las condiciones de amplificación para el gen EF1- $\alpha$  y la región intergénica Bloc se detallan en la tabla 2. Los productos de PCR obtenidos se visualizaron en gel de agarosa al 1 %. Las secuencias se obtuvieron por el



Tabla 2. Perfil de termociclado para la PCR del gen EF1- $\alpha$  y la región intergénica Bloc.

Gen EF1- $\alpha$			
Paso	Temperatura (°C)	Tiempo	Repeticiones
Desnaturalización inicial	94	4 min	1 X
Desnaturalización	94	30 s	Touchdown
Hibridación	66-58 disminución 1 °C por ciclo	30 s	8 X
Extensión	72	1 min	
Desnaturalización	94	30 s	36X
Hibridación	56	30 s	
Extensión	72	1 min	
Terminación	72	30 min	1 X
Región intergénica Bloc			
Paso	Temperatura (°C)	Tiempo	Repeticiones
Desnaturalización inicial	94	2 min	1 X
Desnaturalización	94	30 s	40 X
Hibridación	56	30 s	
Extensión	72	2 min	
Terminación	72	15 min	1 X

Nota: fuente propia de la investigación.

método de Sanger y las secuencias Bloc y EF1- $\alpha$  se analizaron por separado. Luego se estudió en el software MEGA X (versión 11) de acuerdo con los criterios de verosimilitud bayesiana. Los árboles filogenéticos se realizaron por el método estadístico de árboles de Máxima Verosimilitud, con 1 000 réplicas.

Las secuencias de EF1- $\alpha$  se reportaron en NCBI con los números de acceso H-26: ON755274, H-30: ON755275, H-31: ON755276, H-49: ON755277 y

H-50: ON755278; y las secuencias de Bloc con números de acceso H-26: ON734097, H-30: ON734098, H-31: ON734099, H-49: ON734100 y H-50: ON734101.

### Producción de conidios, crecimiento del micelio y germinación

La producción de conidios y el crecimiento del micelio se registró bajo dos condiciones con variables de temperatura y humedad relativa (tabla 3). La primera simula

Tabla 3. Condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas para probar el desarrollo de hongos y plántulas de tomate

Condición: alta temperatura			
Hora	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Luz
02:00	22	70	No
04:00	21	70	No
06:00	21	50	Sí
08:00	26	50	Sí
10:00	31	50	Sí
12:00	34	50	Sí
14:00	35	50	Sí
16:00	33	50	Sí



Condición: alta temperatura			
Hora	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Luz
18:00	29	50	No
20:00	27	50	No
22:00	25	50	No
24:00	24	70	No
Condición: óptimo			
Hora	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Luz
00:00–12:00	26	90	Sí
12:00–24:00	26	90	No

Nota: fuente propia de la investigación.

la temperatura promedio del clima tropical, específicamente de la zona de Nicoya de Costa Rica (en adelante, alta temperatura) y la segunda corresponde a las condiciones óptimas para el crecimiento de *B. bassiana* (en adelante, óptimo), ambas condiciones fueron preestablecidas en una cámara ambiental MLR-352H (Panasonic®).

Para cuantificar la producción de conidios, cada cepa se inoculó por esparcido y quintuplicado en agar PDA a partir de cultivos monospóricos y se incubaron por 15 días en cada una de las condiciones de cultivo. Luego del periodo de incubación a cada placa se le agregó aproximadamente 9 mL de agua destilada estéril con Tween 80 (0.1 %) para permitir una suspensión del mayor número de conidios. La suspensión resultante se homogeneizó en un mezclador vortex, se diluyó ( $10^{-2}$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ) y se contaron los conidios en un hemocitómetro. Para la medición de la tasa de crecimiento de micelio, fragmentos del borde de colonias ( $5 \times 5$  mm) de un cultivo monospórico de 8 días de incubación, se inocularon por quintuplicado en el centro de la placa Petri ( $100 \times 15$  mm) con PDA y se incubaron en cada una de las condiciones de cultivo. El diámetro de la colonia de cada réplica se registró en mm cada 2 días, hasta cubrir toda la placa, con un periodo

máximo de 25 días de incubación (Costa *et al.*, 2021; Gerónimo-Torres *et al.*, 2016). La germinación de conidios se evaluó inoculando 3  $\mu\text{L}$  de suspensión de  $10^{-2}$  conidios en medio PDA y se incubó por 24 h en condiciones óptimas y alta temperatura, se consideró germinada cuando el tubo germinativo tenía el doble del tamaño del conidio.

### Efecto de *B. bassiana* en el crecimiento de plántulas de tomate

Se utilizaron plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*, cultivar ‘Gladiador’) de un mes desde la siembra. Las semillas se germinaron a 32 °C y luego se cultivaron en invernadero a 28 °C y 45 % de humedad relativa. Para aplicar los tratamientos, las plántulas se sembraron en macetas de 100 mL en un sustrato de tierra con abono orgánico. Para el tratamiento con *Beauveria* spp., se le aplicó a cada plántula ( $n= 53$ ), por el método de drench, 10 mL de una suspensión de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en Tween 20 (0.1 %) de la cepa que mostró la mejor respuesta en la producción de conidios y en el crecimiento del micelio y se incubaron por 21 días en las condiciones de alta temperatura (tabla 3) en la cámara ambiental MLR-352H (Panasonic®). A la semana de incubación se realizó



una segunda aplicación por aspersión foliar de 10 mL por plántula de la suspensión de conidios para procurar una distribución homogénea del hongo. Para el tratamiento control (n= 50), se siguió el mismo procedimiento aplicando agua destilada estéril y Tween 20 (0.1 %). La viabilidad de los conidios se determinó inoculando 3  $\mu$ L de la suspensión en PDA e incubando a 25 °C por 24 h.

Después del periodo de incubación, se registró el desarrollo de las plántulas bajo los siguientes parámetros: número de hojas (NH), altura (A, cm), diámetro del tallo (D, mm), índice de esbeltez (IE, cm mm<sup>-1</sup>), masa seca de la raíz (MSR, g), masa seca aérea (MSA, g), masa seca total (MST, g), relación de masa de raíz (RMR: relación de MSR a MST, %), relación de masa aérea (RMA: relación de MSA a MST, %), relación de raíz a superficie (RRS: MSR- relación a MSA, g g<sup>-1</sup>) y tasa de crecimiento relativa (TCR, g g<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). El TCR se calculó con la siguiente fórmula:

$$TCR = (\ln(MST_2) - \ln(MST_1)) / (t_2 - t_1) \text{ (ecuación 1),}$$

donde MST<sub>1</sub> y MST<sub>2</sub> fueron MST inicial y final, respectivamente, y (t<sub>2</sub> - t<sub>1</sub>) fue el tiempo de crecimiento. El MST inicial se midió 30 días después de la siembra, antes de aplicar el tratamiento a la plántula. Finalmente, se midió la masa foliar por área (MFA, kg m<sup>-2</sup>) y el contenido relativo de agua de la hoja (CRA, %) de tres discos de hoja por plántula (n= 10).

### Análisis de datos

La producción de conidios de las cinco cepas de *Beauveria* spp. en condiciones óptimas y de alta temperatura se evaluó mediante Kruskal-Wallis y la prueba de diferencia mínima significativa (LSD). El crecimiento del área de micelio (MA) en condiciones óptimas y de alta temperatura

se evaluó mediante el análisis de covarianza (ANCOVA), por el siguiente modelo:

$$\mu_{ij} = (\mu + \alpha_i) + (\beta + \gamma_i) \cdot x_{ij} + \varepsilon_{ij} \text{ (ecuación 2),}$$

donde  $\mu_{ij}$  es MA para una muestra  $j$  de condición  $i$ ,  $x_{ij}$  es el tiempo (covariable) para una muestra  $j$  de condición  $i$ ,  $\mu$  es el intercepto y  $\beta$  es la pendiente de la relación entre MA y el tiempo para la condición óptima;  $\alpha_i$  y  $\gamma_i$  son las diferencias en la intersección y la pendiente, respectivamente, entre las condiciones óptimas y de alta temperatura ( $i = 2$ ), y  $\varepsilon_{ij}$  es el error para la muestra  $j$  de la condición  $j$ . Se realizó una extrapolación para estimar el área de micelio a los 25 días para las cepas H-26 y H-31, pues presentaron un crecimiento que cubrió toda la placa, pero no fue posible medir su crecimiento final. Finalmente, el efecto de la cepa aplicada en las plántulas de tomate en condiciones de alta temperatura y control se evaluó mediante una prueba  $t$ -student o de Wilcoxon. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el lenguaje de programación R, versión 3.6.1 (Equipo RCore, 2021) con un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$ .

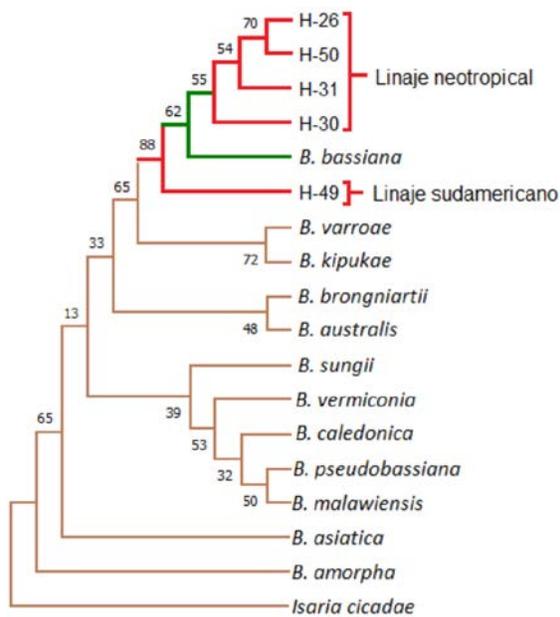
## Análisis y resultados

### Identificación taxonómica

Todas las cepas fueron identificadas como *Beauveria bassiana* de linaje neotropical, excepto la cepa H-49 cuyo linaje es sudamericano (figura 2; relaciones de linaje según región intergénica Bloc en material suplementario).

### Producción de conidios, crecimiento del micelio y germinación

Las cepas H-30 y H-31 presentaron la mayor producción de conidios en ambas condiciones (óptima y alta temperatura,



$P < 0.05$ ; figura 3). Las cepas con los rendimientos más bajos en términos de producción de conidios fueron H-49 y H-50. En cuanto al desarrollo de micelio, todas las cepas en condiciones óptimas tuvieron la mayor tasa de crecimiento ( $P < 0.01$  análisis estadístico en material suplementario; figura 4), donde H-31 mostró la mayor tasa de crecimiento en ambas condiciones, con valores de 78.5 y 42.5 cm<sup>2</sup> a los 25 días de incubación para condición óptima y alta temperatura, respectivamente. En cuanto a la germinación, para todas las cepas fue de 100 % luego de 8 h después de la inoculación.

Figura 2. Árbol filogenético de cepas de *Beauveria* (H-26, H-30, H-31, H-49 y H-50) inferido mediante el método TN93+G basado en el factor de elongación-1 alfa (*EF1- $\alpha$* ). Los números en cada rama muestran los valores bootstrap para 1 000 réplicas. Fuente: propia de la investigación.

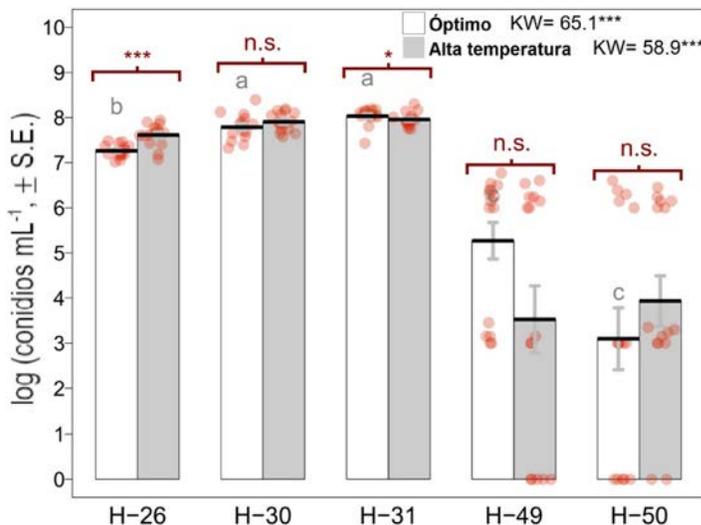


Figura 3. Comparación de la producción de conidios de 5 cepas de *Beauveria bassiana* (H-26, H-30, H-31, H-49 y H-50) bajo dos condiciones de temperatura: óptima y alta temperatura. Las letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las cepas para cada tratamiento ( $P > 0.05$ , prueba de diferencia mínima significativa (LSD). El corchete indica la comparación entre condiciones de crecimiento para cada cepa mediante la prueba de Wilcoxon ( $\alpha = 0.05$ ). KW: Prueba de Kruskal-Wallis;  $d.f. = 4, 70$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ , n. s.: no significativo; S. E.: error estándar. Fuente: propia de la investigación.

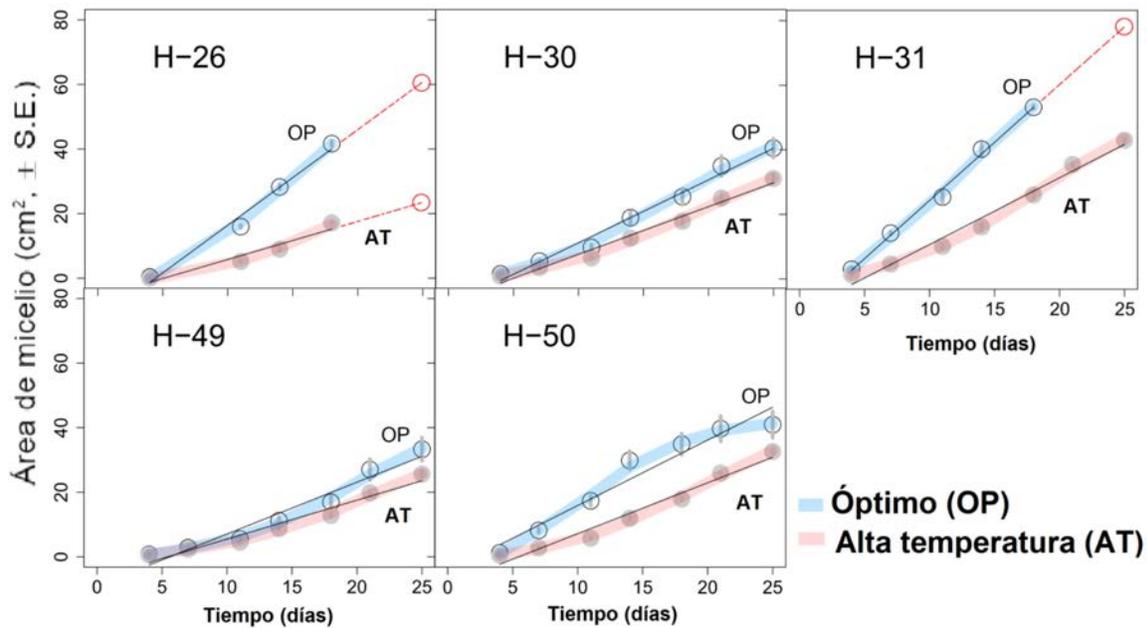


Figura 4. Crecimiento del área de micelio por tiempo de incubación para cinco cepas de *Beauveria bassiana* (H-26, H-30, H-31, H-49 y H-50) en dos condiciones de crecimiento: óptimo y alta temperatura. La línea negra sólida muestra el ajuste del modelo de regresión lineal del área de crecimiento del micelio ( $R^2 > 0.98$ ). La línea roja punteada presenta el estimado para el mejor ajuste del modelo a 25 días para H-26 y H31. S. E.: error estándar. Fuente: propia de la investigación.

Se ha documentado que *B. bassiana* puede crecer adecuadamente en temperaturas entre 25 y 30 °C; sin embargo, se ha reportado que conforme aumenta la temperatura, el rendimiento disminuye hasta el punto de detener el crecimiento a 35 °C (Alali *et al.*, 2019). En el presente estudio las cepas probadas mostraron una mayor tolerancia al sobrevivir 7 h al día a temperaturas entre 31 y 35 °C durante 25 días, destacando a H-31 como la mejor cepa en cuanto a producción de conidios y crecimiento de micelio. Otros estudios han demostrado la supervivencia de *B. bassiana* hasta 45 °C en una prueba de 2 h, y mortalidad a 46 °C para una prueba de 6 h (Fernández *et al.*, 2008). Al momento de causar la infección en insectos, las vías de propagación de los hongos son conidios, blastosporas y el micelio, esto debido a que estas estructuras aumentan

la probabilidad de contacto (Wang *et al.*, 2020). Se conoce que en condiciones de campo la exposición a altas temperaturas es uno de los factores de estrés más determinantes que podrían afectar negativamente la germinación y el crecimiento de estos biocontroladores (Fernández y Bittencourt, 2008), por lo que los resultados del presente estudio sobre el desarrollo de estas estructuras, demuestran que es viable obtener cepas autóctonas de *B. bassiana* con cualidades termo tolerantes para ser utilizadas en el control biológico de algunas plagas bajo altas temperaturas. Esto es útil para incentivar la aplicación en cultivos de zonas de clima tropical y también en escenarios de calentamiento global. Incluso, la temperatura fuera del óptimo podría estimular la producción de conidios, tal fue el comportamiento observado en las cepas H-26, H-30 y H-50.



### Efecto de *B. bassiana* en el crecimiento de plántulas de tomate

De acuerdo con los resultados de producción de conidios y crecimiento de micelio en altas temperaturas, se utilizó la cepa H-31 para evaluar cambios en el desarrollo de plántulas de *S. lycopersicum*. A pesar de que no se presentaron cambios significativos en el desarrollo foliar (número y área), altura, diámetro y raíz y brote+hoja (tabla 4), se observaron cambios leves pero significativos en la partición de la raíz y la superficie (RMR, RMA y RRS), lo cual representa un ajuste marginal de +0.8 % entre el tratamiento H-31 y el control. Se destaca que el tratamiento donde se aplicó el hongo no mostró cambios físicos negativos visibles en las plántulas (coloración o deformación de hojas, brotes y raíces).

Raya-Díaz *et al.* (2017) encontraron que a mayor tiempo de exposición de este hongo (93 días después de la siembra), se

obtuvo un incremento en la longitud total de las raíces al hacer las aplicaciones de hongo sobre semillas, sustrato y hojas en comparación con el control. Por su parte, Mantzoukas *et al.* (2021) también demostraron un aumento en el crecimiento de las raíces sin dañar la planta de ninguna manera y Kuzhuppillymyal-Prabhakaran Kutty *et al.* (2020) reportaron una mayor tolerancia a la sequía en el maíz con hasta un 63 % de recuperación del vigor 24 h después del riego tras 10 días de sequía. En el contexto de esta investigación, se plantea la hipótesis de que si se extiende el tiempo de exposición al hongo se obtendrán mayores efectos en el crecimiento de órganos como las raíces, con posibles beneficios como una mayor absorción de agua (resistencia a la sequía) y nutrientes (Tall y Meyling, 2018). Además, se podrían esperar efectos notables al conferir a las plantas resistencia a ciertas plagas en condiciones de campo (Russo *et al.*, 2019).

Tabla 4. Efecto de la cepa de *Beauveria bassiana* H-31 en las características morfológicas de plántulas de *Solanum lycopersicum* (cultivar 'Gladiator'; 21 días después de la inoculación)

Variable (Abreviatura, unidad)	Control (n = 50)	H-31 (n = 53)	t-student (°) o Wilcoxon (°)	P
Número de hojas (NH)	8.1 ± 0.22	8.6 ± 0.12	1070 <sup>W</sup>	n. s.
Masa foliar por área (MFA, kg m <sup>-2</sup> ) <sup>§</sup>	27.7 ± 0.64	26.9 ± 0.56	0.93 <sup>t</sup>	n. s.
Contenido relativo de agua de la hoja (CRA, %) <sup>§</sup>	89.7 ± 0.2	90.4 ± 0.2	-0.97 <sup>t</sup>	n. s.
Altura (A, cm)	24.38 ± 0.53	25.48 ± 0.45	-1.58 <sup>t</sup>	n. s.
Diámetro del tallo (D, mm)	4.10 ± 0.05	4.07 ± 0.06	1283 <sup>W</sup>	n. s.
Índice de esbeltez (IE, cm mm <sup>-1</sup> )	5.98 ± 0.14	6.30 ± 0.13	-1.70 <sup>t</sup>	n. s.
Masa seca de la raíz (MSR, g)	0.044 ± 0.002	0.044 ± 0.002	-2.77 <sup>t</sup>	n. s.
Masa seca aérea (MSA, g)	0.525 ± 0.016	0.564 ± 0.019	-1.56 <sup>t</sup>	n. s.
Masa seca total (MST, g)	0.561 ± 0.017	0.607 ± 0.020	-1.75 <sup>t</sup>	n. s.
Relación de masa de raíz (RMR, %)	6.4 ± 0.2	7.2 ± 0.3	882 <sup>W</sup>	*
Relación de masa aérea (RMA, %)	93.6 ± 0.2	92.8 ± 0.3	1418 <sup>W</sup>	*
Relación raíz a superficie (RRS, g g <sup>-1</sup> )	0.069 ± 0.003	0.078 ± 0.003	882 <sup>W</sup>	*
Tasa de crecimiento relativa (TCR, g g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	0.030 ± 0.001	0.033 ± 0.002	-1.55 <sup>t</sup>	n. s.

Media ± S. E.; \*:  $P < 0.05$ ; n. s.: no significativo ( $P > 0.05$ ); tres discos de hoja por plántula  $n = 10$ .

Nota: fuente propia de la investigación.



En cuanto al efecto endófito de este hongo, se sabe que se ha logrado una colonización exitosa cuando se aplica la cepa a la semilla (43.34 % después de 60 días en *Corchorus olitorius*; Biswas *et al.* (2011)) y a la radícula (100 % después de 60 días en *Theobroma cacao*, Posada y Vega (2005)). Sin embargo, en algunos casos este hongo puede establecerse como endófito, pero sin persistir en el tiempo; la asociación podría ser incluso cepa-específica (Brownbridge *et al.*, 2012). Para este estudio se plantea la hipótesis de que al inocular *B. bassiana* en plántulas de tomate no se evidenció una interacción significativa debido a que: i) requiere una etapa de inoculación más temprana en algunos momentos de desarrollo de la planta, es decir, radícula o semilla; ii) su establecimiento cesa poco tiempo después, o iii) la interacción del endófito es específica de la cepa.

## Conclusiones

Se reporta por primera vez en Costa Rica un aislamiento de linaje sudamericano de *B. bassiana*, (cepa H-49), lo cual apoya la hipótesis de Castro *et al.* (2021) que la amplia diversidad y distribución de la especie en el mundo hace probable la existencia de estos linajes en el país y que estudios adicionales podrían incrementar estos reportes. Se destaca el potencial de crecimiento y producción de conidias de la cepa H-31 bajo condiciones de estrés de temperatura. Además, aunque la cepa H-31 no evidenció efectos estimulantes en el desarrollo de plántulas de tomate, tampoco ocasionó efectos negativos. Por lo anterior, la cepa H-31 podría ser aplicada de forma segura para el control de plagas a las concentraciones utilizadas en este estudio; en zonas de clima tropical y en escenarios de calentamiento global.

Los métodos más sostenibles para el manejo de plagas y los promotores del crecimiento a base de hongos no siempre son fácilmente aceptados por agricultores, por lo que es necesario realizar ensayos adicionales en invernadero y campo en seguimiento a este estudio. También es recomendable medir la patogenicidad de la cepa H-31 en los insectos que afectan al tomate y evaluar el efecto de la radiación ultravioleta en la germinación y producción de conidias. Finalmente, aunque no se encontraron cepas con potencial endófito en este estudio, es importante promover la bioprospección de microorganismos con esta y otras características benéficas, ya que los efectos protectores ante enfermedades y plagas podrían mejorar el desarrollo e impactar la productividad de la planta.

## Financiamiento

Fondo Especial para la Educación Superior (FEES) de Costa Rica. Fomento y Promoción de la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria de Costa Rica. F15-19.

Laboratorio de Ecología Funcional y Ecosistemas Tropicales. Universidad Nacional, Costa Rica. SIA 0156-18.

Laboratorio de Microbiología Marina, Universidad Nacional, Costa Rica. SIA 0025-20.

## Conflicto de intereses

Las personas autoras declaran no tener algún conflicto de interés.



## Declaración de la contribución de las personas autoras

Todas las personas autoras afirmamos que se leyó y aprobó la versión final de este artículo.

El porcentaje total de contribución para la conceptualización, preparación y corrección de este artículo fue el siguiente: E. M. V. A. 40 %, R. C. V. 20 %, L. V. C. 20 % y J. P. P. M 20 %.

## Declaración de disponibilidad de los datos

Los datos que respaldan los resultados de este estudio serán puestos a disposición por la persona correspondiente E. M. V. A., previa solicitud razonable.

## Referencias

- Abdulhai, M., El-Bouhssi, M., Jamal, M., Trissi, A. N., Sayyadi, Z., Skinner, M. y Parker, B. L. (2010). *Beauveria bassiana* Characterization and Efficacy vs. Sunn Pest, *Eurygaster integriceps Puton* (Hemiptera: Scutelleridae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(21), 1052-1056. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.1052.1056>
- Alali, S., Mereghetti, V., Faoro, F., Bocchi, S., al Azmeh, F. y Montagna, M. (2019). Thermotolerant isolates of *Beauveria bassiana* as potential control agent of insect pest in subtropical climates. *PLOS ONE*, 14(2), e0211457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211457>
- Barra-Bucarei, L., France Iglesias, A., Gerding González, M., Silva Aguayo, G., Carrasco-Fernández, J., Castro, J. F. y Ortiz Campos, J. (2019). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*, 8(1), 65. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010065>
- Biswas, C., Dey, P., Satpathy, S. y Satya, P. (2011). Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* as a season long endophyte in jute (*Corchorus olitorius*) and its rapid detection using SCAR marker. *BioControl*, 57(4), 565-571. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9424-0>
- Borsuah, J. F., Messer, T. L., Snow, D. D., Comfort, S. D. y Mittelstet, A. R. (2020). Literature Review: Global Neonicotinoid Insecticide Occurrence in Aquatic Environments. *Water*, 12(12), 3388. <https://doi.org/10.3390/w12123388>
- Brownbridge, M., Reay, S. D., Nelson, T. L. y Glare, T. R. (2012). Persistence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte following inoculation of radiata pine seed and seedlings. *Biological Control*, 61(3), 194-200. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.002>
- Castro-Vásquez, R. M., Molina-Bravo, R., Hernández-Villalobos, S., Vargas-Martínez, A., González-Herrera, A. y Montero-Astúa, M. (2021). Identification and phylogenetic analysis of a collection of *Beauveria* spp. Isolates from Central America and Puerto Rico. *Journal of Invertebrate Pathology*, 184, 107642. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107642>
- Ciccillo, F., Fiore, A., Bevivino, A., Dalmastrì, C., Tabacchioni, S. y Chiarini, L. (2002). Effects of two different application methods of *Burkholderia ambifaria* MCI 7 on plant growth and rhizospheric bacterial diversity. *Environmental Microbiology*, 4(4), 238-245. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00291.x>
- Costa, T. P. C., Rodrigues, E. M., Dias, L. P., Pupin, B., Ferreira, P. C. y Rangel, D. E. N. (2021). Different wavelengths of visible light influence the conidial production and tolerance to ultra-violet radiation of the plant pathogens *Colletotrichum acutatum* and *Fusarium fujikuroi*. *European Journal of Plant Pathology*, 159(1), 105-115. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02146-y>
- Faria, M. R. de y Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43(3), 237-256. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>
- Fernández, É. K. K. y Bittencourt, V. R. E. P. (2008). Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Experimental and Applied Acarology*, 46(1-4), 71-93. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9161-y>



- Fernández, É. K. K., Rangel, D. E. N., Moraes, Á. M. L., Bittencourt, V. R. E. P. y Roberts, D. W. (2008). Cold activity of *Beauveria* and *Metarhizium*, and thermotolerance of *Beauveria*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98(1), 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.10.011>
- Furuie, J. L., Stuart, A. K. da C., Voidaleski, M. F., Zawadneak, M. A. C. y Pimentel, I. C. (2022). Isolation of *Beauveria* Strains and Their Potential as Control Agents for *Lema bilineata* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae). *Insects*, 13(1), 93. <https://doi.org/10.3390/insects13010093>
- Gerónimo-Torres, J. D. C., Torres-de-La-Cruz, M., Pérez-de-La Cruz, M., De-La-Cruz-Pérez, A., Ortiz-García, C. F. y Cappello-García, S. (2016). Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1), 28. <https://doi.org/10.25100/socolen.v42i1.6666>
- Hinomori, H., Yaginuma, D., Kajino, K. y Hatsukade, M. (2004). The effects of temperature on the insecticidal activity of *Beauveria amorphosa* to *Heptophylla picea*. *Applied Entomology and Zoology*, 39(3), 389-392. <https://doi.org/10.1303/aez.2004.389>
- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I. y Orduz, S. (2008). Evaluation of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* under in vitro and greenhouse conditions. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 451-458. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99652008000300010&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000300010&nrm=iso)
- Koenraadt, C. J. M. y Takken, W. (2011). Viability of GM Fungi Crucial to Malaria Control. *Science*, 332(6026), 175. <https://doi.org/10.1126/science.332.6026.175>
- Kuzhuppillymyal-Prabhakaranakutty, L., Tamez-Guerra, P., Gomez-Flores, R., Rodriguez-Padilla, M. C. y Ek-Ramos, M. J. (2020). Endophytic *Beauveria bassiana* promotes drought tolerance and early flowering in corn. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(47). <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02823-4>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Moore, E. R. B., Taghavi, S., Mezgeay, M. y der Lelie, D. van. (2002). Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(6), 583-606. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Mantzoukas, S., Lagogiannis, I., Mpousia, D., Ntoulas, A., Karmakolia, K., Eliopoulos, P. A. y Poulas, K. (2021). *Beauveria bassiana* Endophytic Strain as Plant Growth Promoter: The Case of the Grape Vine *Vitis vinifera*. *Journal of Fungi*, 7(2), 142. <https://doi.org/10.3390/jof7020142>
- Mishra, A., Singh, S. P., Mahfooz, S., Bhattacharya, A., Mishra, N., Shirke, P. A. y Nautiyal, C. S. (2018). Bacterial endophytes modulates the withanolide biosynthetic pathway and physiological performance in *Withania somnifera* under biotic stress. *Microbiological Research*, 212-213, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.006>
- Mwamburi, L. A., Laing, M. D. y Miller, R. M. (2015). Effect of surfactants and temperature on germination and vegetative growth of *Beauveria bassiana*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(1), 67-74. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120131077>
- Naqqash, M. N., Gökçe, A., Bakhsh, A. y Salim, M. (2016). Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. *Parasitology Research*, 115(4), 1363-1373. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4898-9>
- Ortiz-Urquiza, A., Luo, Z. y Keyhani, N. O. (2015). Improving mycoinsecticides for insect biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1057-1068. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6270-x>
- Pachoute, J., Nascimento, V. L. y de Souza, D. J. (2021). *Beauveria bassiana* Enhances the Growth of Cowpea Plants and Increases the Mortality of *Ceratomyxa arcuata*. *Current Microbiology*, 78(10), 3762-3769. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02638-y>
- Posada, F. y Vega, F. E. (2005). Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). *Mycologia*, 97(6), 1195-1200. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832729>
- Raya-Díaz, S., Sánchez-Rodríguez, A. R., Segura-Fernández, J. M., del Campillo, M. del C. y Quesada-Moraga, E. (2017). Entomopathogenic fungi-based mechanisms for improved Fe nutrition in sorghum plants grown on calcareous substrates. *PLOS ONE*, 12(10), e0185903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185903>



- RCoreTeam. (2021). *R: A language and environment for statistical computing* (R version 4.1.0) [Computer software]. Statistical Software. <https://www.r-project.org/>
- Rehner, S. A., Posada, F., Buckley, E. P., Infante, F., Castillo, A. y Vega, F. E. (2006). Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93(1), 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.04.005>
- Rehner, Stephen A. y Buckley, E. (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97(1), 84-98. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832842>
- Richardson, E. B., Troczka, B. J., Gutbrod, O., Davies, T. G. E. y Nauen, R. (2020). Diamide resistance: 10 years of lessons from lepidopteran pests. *Journal of Pest Science*, 93, 911-928. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01220-y>
- Russo, M. L., Scorsetti, A. C., Vianna, M. F., Cabello, M., Ferreri, N. y Pelizza, S. (2019). Endophytic Effects of *Beauveria bassiana* on Corn (*Zea mays*) and Its Herbivore, *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects*, 10(4), 110. <https://doi.org/10.3390/insects10040110>
- Sinno, M., Ranesi, M., Di Lelio, I., Iacomino, G., Becchimanzi, A., Barra, E., Molisso, D., Pennacchio, F., Digilio, M. C., Vitale, S., Turrà, D., Harizanova, V., Lorito, M. y Woo, S. L. (2021). Selection of Endophytic *Beauveria bassiana* as a Dual Biocontrol Agent of Tomato Pathogens and Pests. *Pathogens*, 10(10), 1242. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101242>
- Sturz, A. y Nowak, J. (2000). Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology*, 15(2), 183-190. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9)
- Tall, S. y Meyling, N. V. (2018). Probiotics for Plants? Growth Promotion by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Depends on Nutrient Availability. *Microbial Ecology*, 76(4), 1002-1008. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1180-6>
- Umetsu, N. y Shirai, Y. (2020). Development of novel pesticides in the 21st century. *Journal of Pesticide Science*, 45(2), 54-74. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D20-201>
- Vidal, C. y Fargues, J. (2007). Climatic constraints for fungal bioinsecticides. En S. Ekesi y N. K. Maniania (Eds.), *Use of entomopathogenic fungi in biological pest management* (pp. 39-55). Research Signpost.
- Wang, J., Chen, J., Hu, Y., Ying, S.-H. y Feng, M.-G. (2020). Roles of six Hsp70 genes in virulence, cell wall integrity, antioxidant activity and multiple stress tolerance of *Beauveria bassiana*. *Fungal Genetics and Biology*, 144, 103437. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103437>
- Xie, X.-Q., Wang, J., Huang, B.-F., Ying, S.-H. y Feng, M.-G. (2010). A new manganese superoxide dismutase identified from *Beauveria bassiana* enhances virulence and stress tolerance when overexpressed in the fungal pathogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1543-1553. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2437-2>
- Zeina, G. W., Ahmed, M., Saeed, M., Ziena, L. y Laing, M. (2022). Field evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for the biocontrol of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini) ticks on cattle. *Experimental Parasitology*, 235, 108215. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2022.108215>
- Zhang, L., Fasoyin, O. E., Molnár, I. y Xu, Y. (2020). Secondary metabolites from hypocrealean entomopathogenic fungi: novel bioactive compounds. *Natural Product Reports*, 37(9), 1181-1206. <https://doi.org/10.1039/C9NP00065H>



Evaluación del desarrollo de estructuras infectivas y efecto de *Beauveria bassiana* en el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) bajo condiciones de alta temperatura (Estefani Mariel Villalobos-Álvarez; Ruth Castro-Vásquez • Luis Vega-Corrales • Junior Pastor Pérez-Molina) *Uniciencia* is protected by Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported (CC BY-NC-ND 3.0)