



INFORME BREVE

Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina



María E. Schapovaloff^{a,*}, Luis F. Angeli Alves^b, María I. Urrutia^c
y Claudia C. López Lastra^a

^a Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) CONICET UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina

^b Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Paraná, Brasil

^c Centro Superior para el Procesamiento de la Información (CeSPI-UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 12 de agosto de 2014; aceptado el 16 de marzo de 2015

Disponible en Internet el 29 de mayo de 2015

PALABRAS CLAVE

Yerba mate;
Beauveria bassiana;
Metarhizium anisopliae;
Purpureocillium lilacinum

KEYWORDS

Paraguay tea;
Beauveria bassiana;
Metarhizium anisopliae;
Purpureocillium lilacinum

Resumen Este trabajo tuvo por objetivo aislar, identificar y caracterizar morfológicamente hongos entomopatógenos presentes en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Se realizó una prospección de hongos entomopatógenos nativos a partir de 40 muestras de suelos cultivados con yerba mate ubicados en la provincia de Misiones, República Argentina, desde mayo de 2008 hasta junio de 2010. Las muestras de suelo se obtuvieron en cercanías de plantas de yerba mate, se aplicó la técnica de dilución seriada en medios de cultivos selectivos. Después de obtenidos los cultivos puros, los hongos fueron caracterizados macroscópicamente y microscópicamente, y se los identificó mediante el uso de claves taxonómicas específicas. Se aislaron 29 cepas fúngicas pertenecientes a las especies *Beauveria bassiana* (n = 17), *Metarhizium anisopliae* (n = 2) y *Purpureocillium lilacinum* (n = 10).

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Natural occurrence of entomopathogenic fungi in soils cultivated with Paraguay tea (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) in Misiones, Argentina

Abstract This study aimed to morphologically isolate, identify and characterize entomopathogenic fungi present in soils cultivated with Paraguay tea (*Ilex paraguariensis*). A survey of native entomopathogenic fungi was conducted from 40 soil samples grown with Paraguay tea in the province of Misiones, Argentina, from May 2008 to June 2010. The soil dilution plate

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: eleschapovaloff@yahoo.com.ar (M.E. Schapovaloff).

methodology on selective culture media was used to isolate microorganisms. Taxonomic identification was performed using macroscopic and microscopic characters and specific keys. Twenty nine strains, belonging to the species *Beauveria bassiana* (n = 17), *Metarhizium anisopliae* (n = 2) and *Purpureocillium lilacinum* (n = 10) were isolated and identified.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) es una planta arbórea típica de las regiones subtropicales y templadas de América del Sur. El área de dispersión geográfica de esta especie está restringida a Argentina, Brasil y Paraguay. Los hongos entomopatógenos son microorganismos que tienen la particularidad de parasitar a diferentes grupos de insectos y algunos artrópodos, como las arañas y los ácaros⁴; estos hongos pertenecen al reino Mycota y se ubican en los Phyla *Ascomycota* y *Entomophthoromycota*^{3,7}.

El ciclo biológico de los hongos entomopatógenos presenta 2 fases, una parasítica y otra saprofítica. La primera se inicia con la adhesión de estructuras infectivas del hongo (conidios o blastosporas) en la epicutícula del insecto, seguida de la penetración vía tegumento, que ocurre debido a la acción física y enzimática. Después de la penetración, el hongo crece dentro del hospedador, secreta sustancias tóxicas y coloniza los tejidos del insecto. Luego ocurre la esporulación externa del patógeno: a través de la cutícula se forman los conidióforos, estructuras responsables de la producción de conidios. Los conidios son dispersados por agentes abióticos (viento, lluvia, etc.) y bióticos (hospederos primarios y secundarios). La fase saprofítica ocurre en el ambiente cuando el hongo crece fuera del cuerpo del hospedero^{1,4}. El ambiente del suelo constituye un importante reservorio para una diversidad de hongos entomopatógenos, que pueden contribuir significativamente a la regulación de las poblaciones de insectos.

Muchas especies de hongos pertenecientes al orden *Hypocreales* (Phylum: *Ascomycota*) habitan en el suelo para cumplir una parte de su ciclo de vida, entre ellos los géneros más comunes son *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria*⁸. En la estabilidad de estos hongos influyen tanto factores bióticos como abióticos del ambiente, la supervivencia del hongo depende de la temperatura y el contenido de agua. La temperatura ideal del suelo para la persistencia de los hongos entomopatógenos varía de acuerdo con el aislamiento del hongo, el tipo de suelo y su grado de compactación, la humedad, el pH y la presencia de antagonistas¹⁰. El ambiente del suelo puede ser visto como un ecosistema extremadamente complejo que interfiere con las interacciones primarias entre insectos hospederos y patógenos, o bien como un ecosistema simple y estable que actúa en la interacción patógeno-hospedero¹¹.

El presente trabajo tuvo por objetivo aislar, identificar y caracterizar morfológicamente hongos entomopatógenos presentes en suelos cultivados con yerba mate (*I. paraguariensis*) en la provincia de Misiones, República Argentina.

Se recolectaron 40 muestras de suelo de cultivos de yerba mate desde mayo de 2008 hasta junio de 2010 en 5 localidades de la provincia de Misiones: Santa Inés, Jardín América, Apóstoles, Campo Ramón y Ruiz de Montoya. En cada sector de muestreo se delimitó una parcela de 25 m² y con una pala estéril a una profundidad de 0-20 cm se recolectaron independientemente 3 submuestras de 500 g de suelo cada una.

Para el aislamiento de hongos entomopatógenos se aplicó la técnica de dilución seriada en medio de cultivo selectivo con dodine (acetato de N-dodecilguanidinio)⁵ (40 g de glucosa, 10 g de peptona, 15 g de agar, 0,01 g de cristal violeta, 0,25 g de cicloheximida, 0,25 g de Dodine®, 0,5 g de cloranfenicol y 1 l de agua destilada). Los hongos así aislados fueron identificados a partir de la descripción macroscópica y microscópica de las estructuras vegetativas y reproductivas, las que luego se compararon con las detalladas en las claves taxonómicas⁶.

Para estudiar la dinámica de crecimiento y esporulación, cilindros de 4 mm de diámetro fueron obtenidos a partir de cultivos jóvenes, cada cilindro se colocó en el centro de una caja de Petri que contenía agar dextrosa Sabouraud enriquecido con 1 % de extracto de levadura (SDYA, Difco, Detroit, EE. UU.); se realizaron 5 repeticiones por cada aislamiento y se incubaron a 25 °C en condiciones de oscuridad durante 10 días. El diámetro de las colonias fue medido diariamente empleando una regla milimetrada. A partir de cultivos fúngicos esporulados se hicieron preparados para observar los conidios, las células conidiógenas (fiálides o conidióforos) y las hifas de cada aislamiento, se empleó un microscopio óptico con contraste de fases (400 ×) (Olympus BX41); para cada cultivo se midió un mínimo de 25 unidades, esto permitió determinar la media y el error estándar de los datos.

A partir de un total de 40 muestras de suelo de cultivos de yerba mate de diferentes localidades de la provincia de Misiones se obtuvieron 29 aislamientos correspondientes al grupo de hongos entomopatógenos, los que comprendieron 3 especies y se distribuyeron del siguiente modo: 17 cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.; 2 cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok y 10 cepas de *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Hywel-Jones, Houbraaken & Samsom^{3,7,8}. Todos los aislamientos obtenidos fueron depositados en la Colección Micológica del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CONICET-UNLP), con el objetivo de realizar en el futuro bioensayos de patogenicidad y virulencia con estos hongos entomopatógenos, para evaluar su posible uso en el control biológico de insectos plaga de la yerba mate.

Tabla 1 Características de los aislamientos de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinum* obtenidos de muestras de suelos cultivados con *I. paraguariensis*

N.º colección CEPAVE	Diámetro de la colonia (mm) ^a	Tasa de crecimiento (mm/día) ^b	Conidios		
			Tamaño (μm) ^c		Germinación (%) ^d
			Largo	Ancho	
<i>Bb</i> CEP 332	26,2 ± 4,76	2,62 ± 0,47 ^{bcd}	2,83 ± 0,31 ^{bc}	2,35 ± 0,20 ^b	99,60 ± 0,29 ^c
<i>Bb</i> CEP 333	28,2 ± 0,83	2,82 ± 0,08 ^{cdef}	2,86 ± 0,30 ^{bc}	2,41 ± 0,24 ^b	91,93 ± 3,24 ^{ab}
<i>Bb</i> CEP 334	26,2 ± 1,75	2,62 ± 0,17 ^{bcd}	2,80 ± 0,22 ^{bc}	2,30 ± 0,22 ^{ab}	89,46 ± 7,48 ^a
<i>Bb</i> CEP 335	28,3 ± 1,44	2,83 ± 0,14 ^{cdef}	2,82 ± 0,24 ^{bc}	2,24 ± 0,23 ^{ab}	98,15 ± 0,55 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 336	27,3 ± 1,71	2,73 ± 0,17 ^{cde}	2,82 ± 0,24 ^{bc}	2,32 ± 0,28 ^b	98,43 ± 1,22 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 337	28,6 ± 0,50	2,86 ± 0,05 ^{cdef}	2,93 ± 0,29 ^{bc}	2,31 ± 0,25 ^b	99,43 ± 0,66 ^c
<i>Bb</i> CEP 338	32,5 ± 1,58	3,25 ± 0,15 ^f	2,83 ± 0,24 ^{bc}	2,29 ± 0,22 ^{ab}	99,83 ± 0,12 ^c
<i>Bb</i> CEP 339	32,6 ± 0,89	3,26 ± 0,08 ^f	2,83 ± 0,23 ^{bc}	2,29 ± 0,23 ^{ab}	98,60 ± 0,49 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 340	32,0 ± 2,82	3,20 ± 0,28 ^{ef}	2,89 ± 0,37 ^{bc}	2,37 ± 0,26 ^b	95,83 ± 2,94 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 341	28,1 ± 1,38	2,81 ± 0,13 ^{cdef}	2,85 ± 0,36 ^{bc}	2,33 ± 0,28 ^b	100 ± 0,00 ^c
<i>Bb</i> CEP 342	30,3 ± 2,94	3,03 ± 0,29 ^{def}	2,87 ± 0,34 ^{bc}	2,45 ± 0,36 ^b	99,33 ± 0,74 ^{bc}
<i>Bb</i> CEP 343	17,2 ± 0,95	1,72 ± 0,09 ^a	2,28 ± 0,19 ^a	2,04 ± 0,23 ^a	97,80 ± 0,14 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 344	24,9 ± 1,43	2,49 ± 0,14 ^{bc}	2,98 ± 0,35 ^c	2,43 ± 0,30 ^b	100 ± 0,00 ^c
<i>Bb</i> CEP 345	22,2 ± 3,56	2,22 ± 0,35 ^{ab}	2,63 ± 0,42 ^b	2,20 ± 0,34 ^{ab}	100 ± 0,00 ^c
<i>Bb</i> CEP 346	28,1 ± 1,38	2,81 ± 0,13 ^{cdef}	2,88 ± 0,36 ^{bc}	2,42 ± 0,27 ^b	98,83 ± 0,84 ^{abc}
<i>Bb</i> CEP 347	29,5 ± 0,61	2,95 ± 0,06 ^{cdef}	2,78 ± 0,29 ^{bc}	2,19 ± 0,28 ^{ab}	100 ± 0,00 ^c
<i>Bb</i> CEP 348	29,0 ± 1,69	2,90 ± 0,16 ^{cdef}	2,82 ± 0,31 ^{bc}	2,22 ± 0,23 ^{ab}	99,83 ± 0,23 ^c
<i>Ma</i> CEP 349	30,2 ± 1,48	3,02 ± 0,14 ^a	4,53 ± 0,46 ^a	2,60 ± 0,21	97,8 ± 0,53 ^a
<i>Ma</i> CEP 350	33,1 ± 0,80	3,31 ± 0,08 ^b	5,34 ± 0,51 ^b	2,70 ± 0,41	100 ± 0,00 ^b
<i>Pl</i> CEP 351	28,7 ± 5,99	2,87 ± 0,59 ^a	2,79 ± 0,24 ^{ab}	2,33 ± 0,27 ^a	96,40 ± 1,10 ^{ab}
<i>Pl</i> CEP 352	30,8 ± 2,46	3,08 ± 0,24 ^{ab}	3,06 ± 0,22 ^b	2,58 ± 0,26 ^b	97,33 ± 0,74 ^a
<i>Pl</i> CEP 353	38,0 ± 1,41	3,80 ± 0,14 ^{cd}	2,72 ± 0,33 ^{ab}	2,25 ± 0,20 ^a	100 ± 0,00 ^c
<i>Pl</i> CEP 354	30,3 ± 1,98	3,03 ± 0,19 ^a	2,66 ± 0,37 ^{ab}	2,27 ± 0,34 ^a	100 ± 0,00 ^c
<i>Pl</i> CEP 355	39,8 ± 1,48	3,98 ± 0,14 ^{cd}	2,55 ± 0,29 ^{ab}	2,17 ± 0,19 ^a	100 ± 0,00 ^c
<i>Pl</i> CEP 356	42,5 ± 1,41	4,25 ± 0,14 ^d	2,55 ± 0,29 ^{ab}	2,22 ± 0,25 ^a	98,40 ± 0,86 ^{ab}
<i>Pl</i> CEP 357	27,6 ± 3,63	2,76 ± 0,36 ^a	2,71 ± 0,38 ^{ab}	2,18 ± 0,27 ^a	99,06 ± 0,44 ^{abc}
<i>Pl</i> CEP 358	36,3 ± 0,75	3,63 ± 0,07 ^{bc}	2,73 ± 0,30 ^{ab}	2,30 ± 0,25 ^a	99,90 ± 0,14 ^{bc}
<i>Pl</i> CEP 359	42,2 ± 0,75	4,22 ± 0,07 ^{cd}	2,51 ± 0,38 ^a	2,21 ± 0,26 ^a	100 ± 0,00 ^c
<i>Pl</i> CEP 360	38,0 ± 1,54	3,80 ± 0,15 ^{cd}	2,71 ± 0,28 ^{ab}	2,15 ± 0,22 ^a	100 ± 0,00 ^c

Se indican en el cuerpo de la tabla valor promedio ± error estándar. Letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas entre aislamientos según el test de Tukey, $p < 0,05$.

^a Determinado a los 10 días de incubación a 25 °C.

^b Determinada como el diámetro de la colonia/tiempo de incubación.

^c Medidos bajo microscopio con contraste de fases.

^d Determinado a las 24 h.

Se observó que los aislamientos obtenidos de una misma especie presentaban diferencias en la tasa de crecimiento, la coloración del micelio, las dimensiones de las estructuras reproductivas y el porcentaje de germinación de los conidios (tabla 1). Las colonias de *B. bassiana* presentaron un crecimiento moderadamente rápido: alcanzaron un diámetro promedio de 27,8 ± 4,01 mm a los 10 días de incubación. La diferencia en la tasa de crecimiento fue altamente significativa al comparar los distintos aislamientos ($F = 14,90$; g.l = 16; $p < 0,0001$). El micelio presentó un aspecto pulverulento y coloración blanca, los conidióforos se mostraron agrupados en racimos, con fíalides con parte basal dilatada y terminadas en un raquis en zigzag y los conidios presentaron una forma globosa a subglobosa. Las diferencias en el largo y el ancho de los conidios entre los diferentes aislamientos fúngicos fueron altamente significativas

(largo: $F = 6,10$; g.l = 16; $p < 0,0001$; ancho: $F = 3,81$; g.l = 16; $p < 0,0001$). La diferencia en el porcentaje de germinación de los conidios también fue altamente significativa ($F = 4,66$; g.l = 16; $p < 0,0001$), en todos los casos estos fueron superiores al 90%, excepto en el aislamiento CEP 334, cuyo porcentaje de germinación fue del 89,40%. Las colonias de *M. anisopliae* presentaron un crecimiento moderadamente rápido y alcanzaron un diámetro promedio de 31,6 ± 1,91 mm a los 10 días de incubación. La diferencia en la tasa de crecimiento de los 2 aislamientos obtenidos fue altamente significativa ($F = 14,02$; g.l = 1; $p = 0,0057$); el micelio fúngico presentó un aspecto fino y abundante, elevado del medio de cultivo y formando agrupaciones casi esféricas, sobre las cuales se observó la esporulación verde olivácea oscura; en cultivo presentó hifas lisas, septadas, con conidióforos cilíndricos en grupos. Los conidios

presentaron forma cilíndrica, eran ahusados y con ambos extremos redondeados, hialinos a oliváceos o verdes. Se encontró una diferencia altamente significativa entre estos 2 aislamientos en el largo de los conidios ($F = 34,87$; $g.l = 1$; $p < 0,0001$), no así en el ancho ($F = 1,32$; $g.l = 1$; $p = 0,2559$). El porcentaje de germinación de los conidios fue significativamente diferente entre los aislamientos fúngicos, con valores superiores al 90 % en ambos casos. Las colonias de *P. lilacinum* presentaron un crecimiento moderadamente rápido y alcanzaron un diámetro promedio de $35,6 \pm 5,86$ mm a los 10 días de incubación. La diferencia en la tasa de crecimiento de estos aislamientos fue altamente significativa ($F = 21,80$, $g.l = 9$; $p < 0,0001$). El micelio fúngico mostró un aspecto algodonoso y pulverulento, de color blanco al comienzo, tornándose con el correr de los días rosáceo; tanto las hifas vegetativas como los conidióforos presentaron paredes hialinas y lisas. Los conidióforos fueron ramificados e irregulares, con fiálides que presentaban una porción basal cilíndrica o hinchada, que se adelgazaba abruptamente para formar a menudo un cuello muy notorio. Los conidios presentaron forma ovoide. Las diferencias en el largo y el ancho de los conidios entre los diferentes aislamientos fúngicos fueron altamente significativas (largo: $F = 6,36$; $g.l = 9$; $p < 0,0001$; ancho: $F = 5,88$; $g.l = 9$; $p < 0,0001$). La diferencia en el porcentaje de germinación de los conidios fue altamente significativa ($F = 7,52$; $g.l = 9$; $p = 0,0001$), con valores superiores al 90 % en todos los casos.

Los presentes resultados muestran que los hongos entomopatógenos son habitantes comunes de suelos cultivados con yerba mate en la provincia argentina de Misiones. *B. bassiana* fue la especie más abundante y representó el 59 % de los aislamientos, seguida por *P. lilacinum* (34 %) y *M. anisopliae* (7 %). Estos hongos entomopatógenos son citados por otros autores como los más comunes en el suelo^{9,13,14}. Que se hayan obtenido aislamientos de *B. bassiana*, *P. lilacinum*, *M. anisopliae* y no de *Nomuraea rileyi* u otros entomopatógenos también habitualmente presentes en el suelo pudo deberse a la utilización del medio selectivo⁵.

En campos de soja de Londrina (Paraná, Brasil), los hongos entomopatógenos aislados en medio de cultivo selectivo avena-dodine (20 g de harina de avena, 20 g de agar, 550 mg de dodine, 5 mg de tetraciclina, 10 mg de cristal violeta y 1 l de agua destilada) fueron *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. lilacinum*¹³, lo que concuerda con los resultados de este trabajo, en el que también se utilizó un medio selectivo con dodine.

Diversos factores pueden afectar la persistencia de los hongos entomopatógenos en el suelo. La supervivencia de los conidios de *B. bassiana* depende de la temperatura, el contenido de agua y el tipo de suelo¹⁰. Asimismo, se conoce que *B. bassiana* sobrevive por más tiempo en áreas de clima templado y donde existen huéspedes para tener continuidad en su ciclo de infección¹⁵. Por otra parte, en términos generales *M. anisopliae* puede llegar a estar presente en el suelo más frecuentemente que *B. bassiana*, ya que este último parece ser más sensible a la interacción con la microbiota del suelo²; sin embargo, en el presente estudio la prevalencia de *B. bassiana* fue mayor que la de *M. anisopliae*. Las prácticas agrícolas como la fertilización y el uso de insecticidas, funguicidas y herbicidas afectan la persistencia de los hongos en el suelo. En cultivos de soja bajo labranza mínima

se favorece la prevalencia en el suelo de algunas especies de hongos entomopatógenos como *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces* spp. en comparación con zonas bajo labranza convencional¹², lo que concuerda con nuestros resultados, ya que todas las muestras de suelo se tomaron de lotes con labranza mínima.

Los resultados obtenidos en el presente estudio contribuyen a avalar la hipótesis planteada por otros autores acerca de que los suelos son un importante reservorio de hongos entomopatógenos, antagonistas potenciales para el control de insectos plaga.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este trabajo de investigación fue financiado por la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), a través de una beca doctoral.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Al Dr. Richard A. Humber (USDA-ARS Plant Soil and Nutrition Laboratory, Ithaca), por su colaboración con la confirmación de las especies fúngicas identificadas. A la Colección Micológica del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), por permitir la preservación de cultivos y material de herbario. A la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por financiar este estudio a través de una beca doctoral.

Bibliografía

1. Alves S. Fungos entomopatógenos. En: Alves S. 2da edição. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ; 1998, p. 289-381.
2. Bidochka M, Kasperski J, Wild G. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. *Canad J Bot*. 1998;76:1198-204.
3. Boomsma J, Jensen A, Meyling N, Eilenberg J. Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. *Annu Rev Entomol*. 2014;59:467-85.

4. Boucias D, Pendland J. Principles of insect pathology. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1998. p. 537.
5. Dobersky J, Tribe H. Isolation of entomogenous fungi from elm bark beetle and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Trans Br Mycol Soc. 1980;74:95–100.
6. Humber R. Fungi: Identification. En: Lacey L, editor. Manual of techniques in insect pathology. San Diego: Academic Press; 1997. p. 53–185.
7. Humber R. *Entomophthoromycota*: A new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi. Mycotaxon. 2012;120:477–92.
8. Keller S, Zimmermann G. Mycopathogens of soil insects. En: Wilding N, Collins NM, Hammond PM, Webber JF, editores. Insect-fungus interactions. New York: Academic Press; 1989. p. 239–70.
9. Klingel I, Eilemberg J, Meadow R. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. Agr Ecosyst Environ. 2002;1:191–8.
10. Lingg A, Donaldson M. Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. J Invertebr Pathol. 1981;38 Supl 2:191–200.
11. Rath A. Ecology of entomopathogenic fungi in field soils. En: International colloquium on invertebrate pathology and microbial control, 8. Anais. Foz do Iguaçu: Society for Invertebrate Pathology, 2002, p. 65–71, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.
12. Sosa-Gómez D, Moscardi F. Effect of till soybean cultivation on dynamics of entomopathogenic fungi in the soil. Fla Entomol. 1994;77:284–7.
13. Sosa-Gómez D, Delpin K, Moscardi F, Farias J. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces* in soybean under till and no-till cultivation systems. Neotrop Entomol. 2001;30 Supl 3:407–10.
14. Sun B, Yu Y, Yen A, Liu X. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards. Crop Prot. 2008;27:1421–6.
15. Vänninen I, Tyni-Juslin J, Hokkanen H. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in finish agricultural soils. Biocontrol. 2000;45:201–22.