



MEMORIA

inifap

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico

NOVIEMBRE 6 y 7, 2014



Editores
Mónica Guadalupe LOZANO-CONTRERAS
Martha J. BURGOS-TAN
J. Isabel LÓPEZ-ARROYO

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Centro de Investigación Regional del Sureste
Campo Experimental Mocochoá
Mocochoá, Yucatán. Noviembre 2014
Memoria Científica. ISBN: *En Trámite*

**SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN**

Lic. Enrique Martínez y Martínez
Secretario

Lic. Jesús Alberto Aguilar Padilla
Subsecretario de Agricultura

Lic. Juan Manuel Verdugo Rosas
Subsecretario de Desarrollo Rural

M. C. Ricardo Aguilar Castillo
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

Lic. Marcos Bucio Mújica
Oficial Mayor

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES,
AGRÍCOLAS Y PECUARIAS**

Dr. Pedro Brajcich Gallegos
Director General

Dr. Manuel Villa Issa
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

M. Sc. Arturo Cruz Vázquez
Coordinador de Planeación y Desarrollo

Dr. Eduardo Francisco Berterame Barquín
Encargado del despacho de los Asuntos de la Coordinación de Administración y Sistemas

CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL SURESTE

Dr. José Verástegui Chávez
Director Regional

Dr. Raúl Díaz Plaza
Director de Investigación

M.C. Héctor Torres Pimentel
Director de Planeación y Desarrollo

L.A.E. Alicia Díaz Vázquez
Director de Administración

**MEMORIAS XXXVII CONGRESO NACIONAL DE
CONTROL BIOLÓGICO**

**6 y 7 DE NOVIEMBRE,
MÉRIDA, YUCATÁN**



EDITORES:

**MÓNICA GUADALUPE LOZANO-CONTRERAS
MARTHA J. BURGOS-TAN
J. ISABEL LÓPEZ-ARROYO**

SOCIEDAD MEXICANA DE CONTROL BIOLÓGICO, A.C.

**DR. J. ISABEL LÓPEZ ARROYO
PRESIDENTE**

**DR. JULIO S. BERNAL
VICEPRESIDENTE**

**DR. FERNANDO TAMAYO MEJÍA
SECRETARIO**

**M.C. ANTONIO MARÍN JARILLO
TESORERO**

COMITÉ HONORÍFICO

**LIC. ROLANDO ZAPATA BELLO
GOBERNADOR CONSTITUCIONAL DEL ESTADO DE YUCATÁN**

**MC. PEDROA. HARO RAMÍREZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**DR. JOSÉ VERASTEGUI CHÁVEZ
DIRECTOR DEL CIR-SURESTE DEL INIFAP**

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

**DRA.MÓNICA GUADALUPE LOZANO CONTRERAS
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL**

**DR. JAIRO CRISTÓBAL ALEJO
COORDINADOR DEL CONGRESO**

CONVOCANTES:

INIFAP

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales,
Agrícolas y Pecuarias



ITC

Instituto Tecnológico de Conkal



SAGARPA

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,
Pesca y Alimentación



SENASICA

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad
Agroalimentaria



SMCB

Sociedad Mexicana de Control Biológico



ORGANIZADORES:

INIFAP

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales,
Agrícolas y Pecuarias



ITC

Instituto Tecnológico de Conkal



SMCB

Sociedad Mexicana de Control Biológico



PARTICIPANTES:

- **COLEGIO DE POSGRADUADOS**
- **CONSEJO NACIONAL CONSULTIVO FITOSANITARIO (CONACOFI)**
- **COMITÉ ESTATAL DE SANIDAD VEGETAL DE YUCATÁN**
- **COMITÉ ESTATAL DE SANIDAD VEGETAL DE GUANAJUATO**
- **UNIVERSIDAD DE FLORIDA**
- **U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE**
- **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**
- **TEXAS A&M UNIVERSITY**

• PATROCINADORES:



MEMORIA

XXXVII CONGRESO NACIONAL DE CONTROL BIOLÓGICO

NOVIEMBRE 6 Y 7, 2014 / MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina

Delegación Coyoacán, C.P. 04010 México D. F.

Teléfono (55) 3871-8700

Memoria: XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico

ISBN *en trámite*

Primera Edición 2014

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de la Institución.

La información y contenido en los artículos y resúmenes reunidos en esta obra son creación y responsabilidad de los autores de los mismos; no reflejan los puntos de vista, ni son avaladas por las instituciones, organizaciones y/o personas que organizaron, compilaron y publicaron esta memoria.

La cita de un artículo de esta publicación es:

Autor(es).2014.Título del artículo. pp. 000-000. In: Lozano-Contreras, M.G., Burgos-Tan, M.J., López-Arroyo, J.I. (Ed.). Memoria: XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico, Mérida, Yucatán, México, 6 y 7 de noviembre, 2014. Centro Regional de Investigación del Sureste (CIRSE), Campo Experimental Mochá. CD-ROM. Memoria Científica. ISBN en trámite. 450p.

Fotografía tomada por el Dr. J. Refugio Lomeli Flores

Anthonomus eugenii parasitada con *Beauveria bassiana*

Fotografía tomada por la Dra. María Guadalupe Maldonado Blanco

Metarhizium anisopliae

Diseño de la portada

Adan Ramírez Marín

www.adn-creativos.com.mx

INDICE

SECCIÓN ORALES	1
ENTOMOPATÓGENOS	2
PATOGENICIDAD DE CEPAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> A <i>Myzus persicae</i> (SULZER, 1776) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) Y <i>Bactericera cockerelli</i> (SULC, 1909) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE).....	3
EVALUACION DEL ANTAGONISMO DE <i>Trichoderma</i> sp (HYPOCREALES: HYPOCREACEAE) y <i>Bacillus subtilis</i> (Bacillales: Bacillaceae) CONTRA TRES PATOGENOS DEL AJO (<i>Allium sativum</i>) EN COSTA RICA	4
EFFECTO DE EQUIPOS DE APLICACIÓN SOBRE LA EFECTIVIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) EN CAMPO	5
SELECCIÓN DE AISLADOS MONOSPÓRICOS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Y SU PATOGENICIDAD SOBRE <i>Drosophila suzukii</i> (MATSUMURA) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE).....	11
ESTIMACIÓN DE CL ₅₀ DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN ADULTOS DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE).	16
EFFECTOS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> Y CIPERMETRINA EN LA ACTIVIDAD DE FORRAJE Y APRENDIZAJE OLFATIVO DE LA ABEJA <i>Apis mellifera</i> , UN ENFOQUE COMPARATIVO.....	17
LOS PULSOS DE OXÍGENO MODIFICAN LA INFECTIVIDAD, LA RESPUESTA ANTIOXIDANTE Y LA REGULACIÓN DE LA CONIDIACIÓN EN <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill., 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae)21	
EFFECTO DE LA CRIOCONSERVACIÓN EN DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	26
COMPATIBILIDAD DE <i>Metarhizium anisopliae</i> CON INSECTICIDAS PIRETROIDES PARA EL CONTROL DE <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae).32	
EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE CUATRO AISLADOS MEXICANOS DE <i>Hirsutella citrifomis</i>	37
EFFECTO DE <i>Hirsutella citrifomis</i> SPEARE SOBRE <i>Hippodamia convergens</i> Y <i>Chrysoperla rufilabris</i> DEPREDADORES DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA	42
EFFECTIVIDAD DE <i>Trichoderma</i> sp. EN EL CONTROL DE	47
EFFECTO DEL INSECTICIDA SPINOSAD SOBRE EL CRECIMIENTO Y MORFOLOGÍA DE <i>Beauveria bassiana</i>	48
POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO <i>Heterorhabditis</i> sp. Tumaco (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) EN	

CULTIVO MONOXÉNICO.....	52
CARACTERÍSTICAS INSECTICIDAS DE CUATRO AISLAMIENTOS DEL NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE <i>Spodoptera exigua</i>	53
EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS QUITINOLÍTICAS CON <i>Beauveria bassiana</i> EN FERMENTACIÓN LIQUIDA.....	58
EFFECTO DEL HONGO ENTOMOPATOGENO <i>Metarhizium anisopliae</i> (DEUTEROMYCETES: MONILIALES) EN LA DINAMICA POBLACIONAL DE MOSCA PINTA <i>Aeneolamia postica</i> (HEMIPTERA: CERCOPIDAE) EN EL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR <i>Saccharum officinarum</i> L. (MONOCOTYLEDONEA: GRAMINEA) EN EL INGENIO PUJILTIC CHIAPAS Y CARDENAS TABASCO, MÉXICO.	63
EFICACIA DE <i>Hirsutella thompsonii</i> Fisher EN EL CONTROL DE <i>Oligonychus punicae</i> (Hirst) EN AGUACATE.....	67
SELECCIÓN Y EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> DE CEPAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> PATÓGENAS A <i>Centrocestus formosanus</i> (DIGENEA: HETEROPHYIDAE).....	70
CONTROL DE LA GARRAPATA DEL GANADO <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (ACARI: IXODIDAE) MEDIANTE EL USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	71
EFFECTIVIDAD DE <i>Beauveria bassiana</i> PARA EL CONTROL DE INSECTOS PLAGA DEL CHILE HABANERO, CON MANEJO AGROECOLÓGICO EN JOSÉ MARÍA MORELOS, QUINTANA ROO.....	72
EFFECTO DE LA OXIGENACIÓN EN LA PRODUCCIÓN HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	77
DISTRIBUCIÓN NATURAL DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELO DE USO AGRÍCOLA EN LOS MUNICIPIOS DE ZACUALTIPÁN Y FRANCISCO I. MADERO DEL ESTADO DE HIDALGO.....	83
INTERACCIÓN DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. Y <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOROKIN CON INSECTICIDAS EN LARVAS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	91
EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOR. EN GARRAPATAS <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (CANESTRINI) EN GANADO BOVINO DE TRES MUNICIPIOS DE MICHOACÁN.....	92
ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE AISLADOS DE MÉXICO DEL COMPLEJO <i>Metarhizium anisopliae</i> (Hypocreales: Clavicipitaceae).....	93
EI ESTRES HIDRICO EN MAIZ DISMINUYE LA EFICIENCIA DE CONTROL BIOLÓGICO DE LARVAS DEL GUSANO COGOLLERO CON UN NUCLEOPOLIEDROVIRUS.....	98

CONTROL BIOLÓGICO DEL BARRENADOR PEQUEÑO, <i>Conotrachelus perseae</i> BARBER, 1919 (COLEOPTERA: CUCURLIONIDAE) DEL AGUACATE EN TEOPISCA, CHIAPAS	103
PATOGENICIDAD DE AISLADOS NATIVOS MEXICANOS DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE) SOBRE LARVAS NEONATAS DE <i>Helicoverpa zea</i> , <i>Spodoptera exigua</i> y <i>Trichoplusia ni</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	108
VIRULENCIA DE <i>Metarhizium anisopliae</i> E <i>Isaria fumosorosea</i> EN NINFAS N4 DEL INSECTO <i>Meccus pallidipennis</i> TRANSMISOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	114
SISTEMÁTICA.....	119
IDENTIFICACIÓN Y REPORTE DE <i>Exochomus marginipennis</i> (LeConte) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) COMO DEPREDADOR DE <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama (HEMIPTERA: LIVIIDAE).....	120
ESPECIES DE CATARINAS (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) ASOCIADAS A <i>Melanaphis sacchari</i> (Zehntner)(HEMIPTERA: APHIDIDAE), EN CULTIVOS DE SORGO DEL ESTADO DE TAMAULIPAS, MÉXICO ...	124
EL GÉNERO <i>Encarsia</i> FÖRSTER (HYMENOPTERA: APHELINIDAE), EN EL ESTADO DE VERACRUZ, MÉXICO	125
GÉNEROS DE EULOPHIDAE (HYMENOPTERA) PRESENTES EN EL ESTADO DE NAYARIT.....	126
DIVERSIDAD DE ARAÑAS (ARANEAE) EN CITRICOS DE TRASPATIO EN MICHOACÁN	127
CECIDOMIDOS Y PARASITOIDES ASOCIAOS AL CULTIVO DEL AGUACATE EN MICHOACÁN	128
ÁCAROS DE LA PHYTOSEIIDAE EN MÉXICO	129
CRÍA MASIVA Y CONTROL DE CALIDAD	130
EFFECTO DEL ALIMENTO LARVARIO IRRADIADO Y SIN IRRADIAR EN EL PROCESO DE CRÍA MASIVA DEL PARASITOIDE <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	131
EVALUACIÓN DE ASERRÍN COMO SUSTRATO DE PUPACIÓN EN LA CRÍA MASIVA DE <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	135
ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN MASIVA DEL PARASITOIDE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON) CON RELACIÓN A SEIS PARÁMETROS BIOLÓGICOS.....	139
COMPORTAMIENTO Y BIOLOGÍA DE <i>Tamarixia radiata</i> (Hymenoptera: Eulophidae) BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.....	147

CRECIMIENTO AL POSTRASPLANTE DE <i>Murraya paniculata</i> (SAPINDALES: RUTÁCEAS) EN DISTINTOS SUSTRATOS BAJO INVERNADERO.....	148
PROTOCOLO PARA LA EVALUACIÓN Y EL REFORZAMIENTO DEL PIE DE CRÍA DE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON): COMPARACIÓN DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS ENTRE POBLACIONES SILVESTRES DEL ESTADO DE JALISCO Y LA COLONIA BAJO CRÍA MASIVA DEL CNRCB149	
EVALUACIÓN DE TRES PRACTICAS CULTURALES PARA AUMENTAR LA PRODUCCIÓN DE NINFAS DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA EN EL PROCESO DE REPRODUCCIÓN MASIVA DEL SU PARASITOIDE.....	157
ECOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO	165
DISTRIBUCION DE LA ESCAMA BLANCA <i>Aulacaspis tubercularis</i> NEWSTEAD (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) Y ENEMIGOS EN MICHOACAN Y JALISCO.....	166
EL CERATRAP [®] , UNA ESTRATEGIA COMPATIBLE CON EL CONTROL BIOLÓGICO DE MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	170
EFFECTIVIDAD DEL ISOCLAST EN EL MANEJO INTEGRADO DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) EN MICHOACAN	177
ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) EN LIMÓN PERSA Y LIMONARIA EN QUINTANA ROO, MÉXICO.....	183
CONSERVANDO INSECTOS FITOFAGOS PARA EL MANEJO DE PLAGAS AGRICOLAS	184
BIOLOGIA DE <i>Engytatus modestus</i> (Distant) (Hemiptera: Miridae) DEPREDADOR GENERALISTA, ¿UNA ALTERNATIVA EN EL CONTROL BIOLÓGICO?	190
IDENTIFICACIÓN Y DENSIDAD POBLACIONAL DE CRISOPAS EN ALFALFA <i>Medicago sativa</i> L. DE LA REGIÓN LAGUNERA DE DURANGO	196
ENTOMÓFAGOS	205
EFFECTOS CAUSADOS POR TRES INSECTIDAS CUANDO SE APLICAN SOBRE EL ESTADO DE HUEVO DEL PARASITOIDE <i>Tamarixia triozae</i> (BURKS) (HYMENOPTERA: EULOHIDAE)	206
ANÁLISIS DE LA TOXICIDAD DE INSECTICIDAS BOTÁNICOS EN HIMENÓPTEROS PARASITOIDES: UN META-ANÁLISIS PRELIMINAR..	211
MANEJO INTEGRADO DE <i>Paraleyrodes</i> sp. pos. <i>bondari</i> (Hemíptera: Aleyrodidae).....	212
PARASITOIDES DE LA FAMILIA BRACONIDAE E ICHNEUMONIDAE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> L. (Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MAÍZ	

EN DURANGO, MÉXICO EN LOS ÚLTIMOS AÑOS	217
EVALUACION DEL EFECTO COMBINADO DE <i>Catolaccus huteri</i> (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) Y <i>Eupelmus cushmani</i> (HYMENOPTERA: EUPELMIDAE) SOBRE PICUDO DEL CHILE <i>Anthonomus eugenii</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN PRUEBAS DE SEMICAMPO.....	221
EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN DE <i>Spodoptera frugiperda</i> J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuideae) CON CUATRO DIETAS (MAÍZ CRIOLLO, HÍBRIDO, HIGUERILLA Y DIETA SEMISINTÉTICA) EN LOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE <i>Campolepis sonorensis</i> (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae)	222
CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS DEL MAÍZ <i>Euxesta stigmatias</i> (LOEW) (DIPTERA: ULIDIIDAE) EN SINALOA.....	223
Palabras clave: Mosca de los estigmas, maíz, control biológico	223
ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A <i>Pseudacysta perseae</i> HEIDEMANN (HEMIPTERA: TINGIDAE) EN AGUACATE EN NAYARIT, MÉXICO.....	232
ENTOMOFAUNA DEPREDADORA DE CÍTRICOS EN LA REGION NORORIENTAL DEL ESTADO DE PUEBLA	237
TRES PLANTAS MEDICINALES PROMISORIAS COMO RESERVORIO DE ORGANISMOS ENTOMÓFAGOS EN EL SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO.	240
ACTIVIDAD FITÓFAGA DE <i>Nesidiocoris Tenuis</i> (HEMIPTERA: MIRIDAE) EN CULTIVOS DE JITOMATE EN EL SUR DE TEXAS.....	247
CONTOL BIOLÓGICO DE MALEZAS Y FITOPATÓGENOS	253
ACTIVIDAD ANTAGÓNICA IN VITRO DE CUATRO ESPECIES DE <i>Bacillus</i> (BACILLALES: BACILLACEAE) ANTE ESPECIES DE <i>Fusarium</i> (MONILIALES: TUBERCULARIACEAE) PATÓGENOS DE HORTALIZAS	254
SELECCIÓN DE ACTINOMICETOS CON POTENCIAL DE BIOCONTROL CONTRA FITOPATÓGENOS	259
TIPO DE ANTIBIOSIS DE LA CEPA CP-5 DE UN ACTINOMICETO CONTRA FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE PUDRICIÓN DE RAÍZ.....	265
PRODUCCIÓN DE QUITINASAS EN MEDIO LIQUIDO EMPLEANDO EL HONGO FITOPATÓGENO <i>Penicillium sp</i> , CON TRES SUSTRATOS QUITINOSOS.....	271
UNA ALTERNATIVA DE CONTROL PARA EL MUÉRDAGO ENANO <i>Arceuthobium spp</i> (SANTALALES: VISCACEAE).....	275
BIOCONTROL IN VITRO DE <i>Uromyces transversalis</i> (UREDINALES: PUCCINACEAE), CON HONGOS ANTAGONISTAS.....	276

TOLERANCIA A <i>Phytophthora capsici</i> EN PLANTAS DE FRESA INOCULADAS CON <i>Rhizophagus intraradices</i> Y BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR's).....	281
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE <i>B. thuringiensis</i> (Bacillales: Bacillaceae) CON ACTIVIDAD NEMATICIDA.....	287
EFFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>Equisetum hyemale</i> ssp. <i>affine</i> x <i>myriochaetum</i> SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Alternaria solani</i> (Ell y G. Martin)	288
PROCESO DEL CONTROL BIOLÓGICO DEL LIRIO ACUÁTICO (<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms) CON NEOQUETINOS (<i>Neochetina eichhorniae</i> (Warner) Y <i>N. bruchi</i> (Hustache)).	294
EFFECTO DE EXTRACTOS CRUDOS DE METABOLITOS DE <i>Trichoderma</i> spp. (HYPOCREALES: ASCOMYCOTA) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE TECA (<i>Tectona grandis</i> L.f.) EN CONDICIONES DE VIVERO EN COSTA RICA	300
BIOCONTROL <i>IN VITRO</i> DE ROYA TRANSVERSAL (<i>Uromyces transversalis</i>) DEL GLADIOLO CON HONGOS ANTAGONISTAS NATIVOS.....	301
EVALUACIÓN.....	302
EFICIENCIA DEL PARASITOIDE <i>Fopius ceratitivorus</i> (Wharton) EN EL CONTROL DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wied.) EN EL PARCELAMIENTO LAS VICTORIAS, EL SALTO, RETALHULEU, GUATEMALA.....	303
BIOINSECTICIDAS PARA EL CONTROL DEL GUSANO TELARAÑERO <i>Amorbia</i> sp. (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) DEL AGUACATE EN MICHOACÁN	308
APLICACIÓN DE <i>Bacillus thuringiensis</i> Y <i>Metarhizium anisopliae</i> EN XOCHITEPEC, MORELOS.....	311
CAPACIDAD DE <i>Bombus impatiens</i> (HYMENOPTERA: APIDAE) EN DISPERSAR CONIDIOS DE <i>Beauveria bassiana</i> (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) EN PRUEBAS DE SEMICAMPO EN CULTIVO DE CHILE <i>Capsicum annum</i> (SOLANALES: SOLANACEA).	316
EFFECTIVIDAD DE PRODUCTOS NATURALES EN EL CONTROL DE CHICHARRITA <i>Dikrella cockerelli</i> GILLETE (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)	317
EVALUACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE DOS ESPECIES DE PARASITOIDES PARA EL CONTROL DE <i>Anastrepha obliqua</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EN FRUTOS DEL GÉNERO <i>Spondias</i>	321
SEGUIMIENTO DE LAS LIBERACIONES DE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) DENTRO DEL PROGRAMA ARCO's DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA (HEMIPTERA:	

PSYLLIDAE)	326
EVALUACIÓN DE HAPLOTIPOS DE <i>Tamarixia radiata</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN INVERNADERO.	337
BIOLOGÍA MOLECULAR, BIOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA GENÉTICA....	343
EFECTO DEL MAIZ GENETICAMENTE MODIFICADO SOBRE LA CHINCHE PIRATA <i>Orius insidiosus</i> (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE)	344
EFECTO DE LA INOCULACION DE <i>Trichoderma</i> CEPA ICA-4, EN LA PRODUCCION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y ENZIMAS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ALGODÓN TRANSGENICO EN EL VALLE DE MEXICALI, BC.	350
GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS RECOMBINANTES DE <i>Bacillus thuringiensis</i> QUE EXPRESEN LA PROTEÍNA Cry3A Y LA ENDOQUITINASA ChiA74 Δ sp.....	351
CARACTERIZACION MOLECULAR DEL HONGO <i>Trichoderma</i> spp EN LOS SISTEMAS AGROFORESTALES-CACAOTALES	352
DEMANDAS ESPECÍFICAS DE OXÍGENO DE DISTINTOS ESTADIOS DE DESARROLLO DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO, <i>Steinernema carpocapsae</i> CABA01 (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE), EN CULTIVO SUMERGIDO	358
DNA BARCODING EN INSECTOS ENTOMÓFAGOS: EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO.....	359
AVANCES EN LA IDENTIFICACIÓN Y FILOGENIA MOLECULAR DE LOS ESPECÍMENES DE LA COLECCIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DEL CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE CONTROL BIOLÓGICO POR ANÁLISIS MULTIGÉNICO	366
ANÁLISIS DE INFECCIÓN <i>IN VITRO</i> DE 3 BACULOVIRUS DE <i>Trichoplusia ni</i> (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE) EN LA LÍNEA CELULAR (BTI-TN-5B1-4) Y OBTENCIÓN DE UNA GENOTECA SUSTRACTIVA BAJO CONDICIONES DE SUPRESIÓN.....	373
DESARROLLO DE TÉCNICAS DE HUELLA GENÉTICA PARA LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	380
ESTUDIO DE LOS GENES EXPRESADOS DIFERENCIALMENTE EN LARVAS DE <i>Trichoplusia ni</i> (Lepidóptera:Noctuidae) INFECTADAS CON UN GRANULOVIRUS (TnGV).....	385
CLONACIÓN Y EXPRESIÓN DEL GEN <i>cry57Aa1</i> A PARTIR DE UNA CEPA ATÍPICA DE <i>Bacillus thuringiensis</i>	391
DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE GENES <i>CRY</i> PRESENTES EN LA CEPA <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER LBIT-1200	396

OBTENCIÓN DE UN IRIDOVIRUS RECOMBINANTE MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE LA TOXINA CN10 DEL ESCORPIÓN <i>Centruroides noxius</i> , CON ACTIVIDAD HACIA LARVAS DE <i>Galleria mellonella</i>	397
EVALUACIÓN PATOGENICA DE <i>Bacillus thuringiensis</i> (BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE EL NEMATODO INTESTINAL <i>Ancylostoma caninum</i> (STRONGYLIDA: ANCYLOSTOMATIDAE)	402
EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ENZIMAS EXTRACELULARES EN HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	403
SESIÓN DE CARTELES.....	404
ENTOMOPATÓGENOS	405
ANTAGONISMO <i>in vitro</i> DE <i>Trichoderma asperellum</i> (HYPOCREALES: HYPOCREACEAE) FRENTE A <i>Stromatinia cepivora</i> (HELOTIALES: SCLEROTINIACEAE) ASOCIADOS AL CULTIVO DE LA CEBOLLA EN COSTA RICA	406
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD TÓXICA DE CEPAS NATIVAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> AISLADAS DE YUCATÁN CONTRA <i>Trichoplusia ni</i> , <i>Spodoptera exigua</i> y <i>Helicoverpa zea</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	407
EFFECTIVIDAD DE <i>Cordyceps bassiana</i> Y <i>Metarhizium anisopliae</i> (Ascomycetes) PARA EL CONTROL DE <i>Tetranychus urticae</i> (Acari: Tetranychidae) EN <i>citrullus lanatus</i> (Cucurbitaceae) EN CAMPO.....	408
TÉCNICAS DE APLICACIÓN DE <i>Metarhizium anisopliae</i> Y <i>Cordyceps bassiana</i> (Ascomycetes) PARA EL CONTROL DE <i>Rynchophorus palmarum</i> (Coleoptera: Curculionidae) EN COCOTERO EN CAMPO	413
EFFECTIVIDAD DE <i>Metarhizium anisopliae</i> Y <i>Cordyceps bassiana</i> (Ascomycetes) PARA EL CONTROL <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Psyllidae) SOBRE LIMÓN MEXICANO (<i>Citrus aurantifolia</i>) EN CAMPO	419
EVALUACIÓN DE <i>Isaria fumosorosea</i> (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE LA MOSCA MEXICANA DE LA FRUTA <i>Anastrepha ludens</i> (LOEW) (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	425
PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>Isaria fumosorosea</i> (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) EN SUSTRATOS NATURALES.....	426
CULTIVO SÓLIDO Y BIFÁSICO PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>Isaria fumosorosea</i> (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) EN GRANO DE CEBADA (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	429
PRODUCCIÓN DE BLASTOESPORAS DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE) EN CULTIVOLÍQUIDO ..	433
USO DE OLOTE DE MAÍZ PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>	436

COMPARACIÓN DE CÁSCARA DE CACAHUATE Y GRANO DE ARROZ EN LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>Isaria fumosorosea</i> (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE).....	441
EFFECTO DE <i>Beauveria bassiana</i> SOBRE INSECTOS FITÓFAGOS PRESENTES EN CHILE HABANERO, CON MANEJO INTEGRADO EN CHUNHUHUB, QUINTANA ROO	445
NUEVA CEPA DE Bt, AF001 AISLADA DE <i>Aeneolamia postica</i> (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) PATOGENICA A <i>Diatraea magnifactella</i> (LAPIDOPTERA: CRAMBIDAE) Y <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	453
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE CEPAS NATIVAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS AISLADOS DEL GUSANO COGOLLERO DEL MAÍZ <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE).....	457
CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS <i>IN VIVO</i> E <i>IN VITRO</i> DE DOS CEPAS DE BACULOVIRUS CON ACTIVIDAD INSECTICIDA HACIA EL GUSANO FALSO MEDIDOR DE LA COL, <i>Trichoplusia ni</i> (HÜBNER) (LEPIDÓPTERA:NOCTUIDAE).....	463
CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> . PRODUCTORAS DE β -EXOTOXINA.....	468
CARACTERIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE β -EXOTOXINA EN CEPAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurskati</i> POR DIFERENTES MÉTODOS	474
EFFECTO DE LA POROSIDAD EN LA PRODUCCION DE CONIDIOS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> EN CULTIVO EN SOPORTE SÓLIDO.	481
AISLAMIENTO DE AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO PARA CONTROLAR EL BARRENADOR DE RAMAS DE AGUACATE <i>Copturus aguacatae</i> Kissinger (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	486
DETERMINACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS ASOCIADOS A <i>Dendroctonus frontalis</i> . (Coleóptera: Scolytidae) EN QUERÉTARO, MÉXICO.	487
FLUFENOXURÓN NO POTENCIA LA INFECCIÓN DE LOS NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (SfMNPV) Y <i>Spodoptera exigua</i> (SeMNPV).....	491
AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DE SUELOS AGRÍCOLAS DE ABASOLO, GUANAJUATO	492
EVALUACIÓN DE CEPAS DE <i>Beauveria bassiana</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) NATIVAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> (PROSTIGMATA: TRETANYCHIDAE).....	497
VIRULENCIA DE CEPAS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) NATIVOS DEL ESTADO DE GUANAJUATO SOBRE LARVAS DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (IXODIDA: IXODIDAE)	502

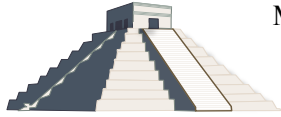
EVALUACIÓN DE <i>Metarhizium anisopliae</i> Y <i>Beauveria bassiana</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE HUEVOS DE GARRAPATA <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (IXODIDA: IXODIDAE) DE DIFERENTE EDAD	507
CONTROL MICROBIAL DE <i>Brachystola magna</i> GIRARD (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) EN CHIHUAHUA, MÉXICO.....	512
COMPATIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO <i>Cordyceps</i> sp. (ORDEN: Hypocreales, FAMILIA: <i>Cordycipitae</i>). Y EL INSECTICIDA IMIDACLOPRID	518
AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATOGENOS ENDÓFITOS DE CAÑA DE AZUCAR.....	523
EVALUACIÓN DE ENTOMOPATOGENOS DE <i>Monoctenus sanchezi</i> SMITH IN VITRO: HYMENOPTERA: DIPRIONIDAE	524
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> EN LA CUENCA DEL PAPALOAPAN	528
HONGOS ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA <i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i> EN LABORATORIO	533
OCURRENCIA NATURAL DE <i>Nomuraea rileyi</i> (FARLOW) SAMSON (HYPOCREALES) INFECTANDO A <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN PARCELAS DE MAÍZ DE BACHINIVA, CHIHUAHUA.....	535
AISLAMIENTO DE NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS DE CAÑA DE AZÚCAR DEL ESTADO DE MORELOS Y DETERMINACIÓN DE VIRULENCIA SOBRE <i>Diatraea magnifactella</i>	536
RESULTADOS PRELIMINARES DE LA PRODUCCIÓN DE CONIDIAS DE <i>Metarhizium</i> spp. Y <i>Beauveria bassiana</i> SOBRE ADULTOS DE <i>Brachystola magna</i> GIRARD (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE).....	540
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE TRES AISLAMIENTOS DE <i>Cordyceps</i> sp. (ORDEN: Hypocreales, FAMILIA: <i>Cordycipitae</i>).....	541
EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO <i>Metarhizium anisopliae</i> , EN CAMPO COMO CONTROL BIOLÓGICO DE LA GARRAPATA <i>Boophilus microplus</i> , EN DOS RANCHOS, RANCHO MODELO, EJIDO CACAO, Y EJIDO CALDERON, MUNICIPIO OTHÓN P. BLANCO, QUINTANA ROO.	547
CEPAS NATIVAS DE <i>Beauveria bassiana</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) Y SU PATOGENICIDAD HACIA <i>Hypothenemus hampei</i> (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE), EN TABASCO, MÉXICO	548
PATOGENICIDAD DE <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> EN LARVAS DEL GUSANO BARRENADOR DEL TALLO DE LA CAÑA DE AZUCAR (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EN SINALOA.....	549

IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN TRES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE MAÍZ	554
CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS Y FITOPATOGENOS.....	559
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA DE NEMATROL PLUS Y BIOXER 1000 CONTRA <i>Ditylenchus dipsaci</i> (TYLENCHIDA: ANGUINIDAE)	560
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE ESPINOSILLA (<i>Loeselia mexicana</i>) SOBRE <i>Fusarium oxysporum</i> IN VITRO	561
INHIBICIÓN DE LA GERMINACIÓN DE CONIDIOS DE HONGOS FITOPATÓGENOS POR LA CEPA CP-5 DE <i>Streptomyces</i> sp.	563
CORRECCIÓN DE pH DEL SUELO Y REDUCCIÓN DE LA PUDRICIÓN DE MAZORCA (<i>Fusarium</i> spp.) EN EL CULTIVO DE MAÍZ	569
REPORTE PRELIMINAR DE LA ABUNDANCIA DE ACTINOMICETOS ANTAGÓNICOS EN SUELOS DE HUERTOS DE MANZANO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA.....	573
MANEJO DE <i>Stromatinia cepivora</i> BERKELEY (HELOTIALES: SCLEROTINIACEAE) EN COSTA RICA EN CULTIVOS DE LILIACEAS...	578
<i>Aureobasidium pullulans</i> , COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE <i>Typha domingensis</i> . TULE.....	579
“CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE IMPORTANCIA AGRÍCOLA UTILIZANDO COMO AGENTE A <i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner)”	580
REPORTE PRELIMINAR DE ACTINOMICETOS ANTAGÓNICOS ASOCIADOS A SISTEMAS NATURALES Y AGROECOSISTEMAS DEL ESTADO DE CHIHUAHUA.....	583
ENTOMÓFAGOS	584
EFFECTO DE TAMAÑO DE PRESA Y EDAD DE DEPREDADOR EN RESPUESTA FUNCIONAL DE <i>Chrysoperla carnea</i> (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) SOBRE <i>Bactericera cockerelli</i> (HEMIPTERA: TRIOZIDAE)	585
OCURRENCIA NATURAL DE <i>Podisus</i> sp., DEPREDANDO LARVAS DE <i>Choristoneura rosaceana</i> (HARRIS) EN MANZANO Y DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) EN MAÍZ EN NAMIQUIPA, CHIHUAHUA	591
PARASITISMO NATURAL DE ÁFIDOS (Hemiptera: Aphididae) EN EL CULTIVO DE NOGAL <i>Carya illinoensis</i> (Wang.) K. Koch EN LA COMARCA LAGUNERA	597
PARASITISMO NATURAL DE CRISÓPIDOS EN EL CULTIVO DE NOGAL <i>Carya illinoensis</i> , K. Koch, EN LA COMARCA LAGUNERA.....	602

INFLUENCIA DE LA PROPORCIÓN SEXUAL SOBRE LA DESCENDENCIA de <i>Engytatus varians</i> (Dist.): la CHINCHE DEPREDADORA DEI PSÍLIDO DEL TOMATE, <i>Bactericera cockerelli</i> (Sulc.).....	607
EVALUACIÓN DE <i>Mesocyclops edax</i> (Crustacea: Copepoda) COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....	611
BRACONIDOS PRESENTES EN EL CULTIVO DE CHILE EN MÉXICO....	616
PARASITOIDES DE LA MOSCA SIERRA <i>Neodiprion autumnalis</i> , <i>Zadiprion falsus</i> y <i>Monoctenus sanchezi</i> (Hymenoptera: Diprionidae) EN EL CENTRO-NORTE DE MÉXICO	623
REPORTE PRELIMINAR DEL CONSUMO DE <i>Podisus</i> sp., Y <i>Chrysoperla</i> sp., SOBRE LARVAS DE <i>Choristoneura rosaceana</i> (HARRIS).....	628
IDENTIFICACIÓN DE MINADOR DE LA HOJA Y SUS PARASITOIDES EN EL CULTIVO DE TOMATE EN EL NORTE DE SINALOA.....	629
MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS CON CONTROL BIOLÓGICO EN ARBOLES FORESTALES DE LA FAMILIA MELIACEA EN EL ESTADO DE QUINTANA ROO	634
DIVERSIDAD DE PARASITOIDES DEL GUSANO COGOLLERO <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) (LEP.: NOCTUIDAE) EN TRES AGROECOSISTEMAS DE MAÍZ EN LA REGIÓN DE PÁTZCUARO, MICHOACÁN.	635
RESPUESTA DE ENEMIGOS NATURALES DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS A SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS Y ATRAYENTES	642
STATUS OF THE SUGARCANE APHID <i>Melanaphis sacchari</i> (HEMIPTERA: APHIDIDAE) IN MEXICO AND THE U.S. 2013-2014.....	643
PARASITOIDES (HYMENOPTERA) DE GORGOJOS ASOCIADOS A VAINAS DEL MEZQUITE EN DURANGO, DGO, MEXICO.....	647
SISTEMÁTICA.....	651
ESTUDIO PRELIMINAR DE COCCINÉLIDOS (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) DEPREDADORES EN EL CULTIVO DE YACA (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.) EN NAYARIT, MÉXICO	652
FILOGEOGRAFÍA DE <i>Triatoma pallidipennis</i> (HEMÍPTERA: REDUVIIDAE) EN EL ESTADO DE MORELOS.....	656
FAMILIAS DE CHALCIDOIDEA Y ESPECIES DE TRICHOGRAMMATIDAE (HYMENOPTERA) COLECTADAS EN ALFALFA <i>Medicago sativa</i> L.....	657
AVANCES EN EL ESTUDIO DE DIVERSIDAD DE ESPECIES DE LA FAMILIA CHRYSOPIDAE (NEUROPTERA) EN LA ZONA CITRÍCOLA DEL ESTADO DE COLIMA.....	666

HYMENOPTERA ASOCIADOS A CÍTRICOS DE TRASPATIO DE MICHOACÁN	667
<i>Encarsia sophia</i> Girault & Dodd (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) PARASITOIDE DE MOSCAS BLANCAS ASOCIADAS A JICAMA (<i>Pachyrhizus erosus</i>), EN VERACRUZ, MÉXICO.	668
DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DEL GENERO <i>Erythmelus</i> (HYMENOPTERA:MYMARIDAE) EN MÉXICO	669
ECOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO	674
DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE <i>Tetranychus urticae</i> (Koch) Y <i>Phytoseiulus persimilis</i> (Athias-Henriot) EN LA VARIEDAD DE ROSAL ANASTASIA	675
CANIBALISMO NECRÓFAGO EN EL GUSANO SOLDADO <i>Spodoptera exigua</i> (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE): ¿CUÁLES SON LOS FACTORES QUE FAVORECEN UN COMPORTAMIENTO ALTAMENTE RIESGOSO?.....	676
INCIDENCIA Y PARASITISMO DEL MINADOR DE ARETES, <i>Coptodisca</i> sp. (LEPIDOPTERA: HELIOZELIDAE) EN EL CULTIVO DE NOGAL, EN LA COMARCA LAGUNERA.....	677
BUSQUEDA DE ENEMIGOS NATURALES DE BARRENADORES DEL TALLO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DEL INGENIO SANTA ROSALIA, TABASCO, MEXICO.	682
TÉCNICA DE MARCAJE TEMPORAL DEL PARASITOIDE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PARA ESTUDIOS DE COMPORTAMIENTO	683
EVALUACIÓN DE DOS PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE NEEM CONTRA <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).	684
ÁREAS DE RIESGO POR TEMPERATURA PARA <i>Diaphorina citri</i> , EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS, MÉXICO	689
EFFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE SPINOSAD EN PARÁMETROS DE SOBREVIVENCIA Y REPRODUCTIVOS DE <i>Aedes aegypti</i> (L.).....	690
LIBERACIÓN Y EVALUACIÓN	695
EVALUACIÓN DE CRISOPA SOBRE EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS EN HUERTAS COMERCIALES DE LIMÓN PERSA EN EL NORTE DE SINALOA.....	696
REPORTE PRELIMINAR DE PARASITOIDES DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN CHIHUAHUA	701
ESTIMACIÓN LINEAL DE PARÁMETROS DE DEPREDACIÓN	705
ESTIMACIÓN NO-LINEAL DE PARÁMETROS DE DEPREDACIÓN.....	709

USO DE ALGUNOS MODELOS NO-PARAMÉTRICOS EN ESCALA NOMINAL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO.....	714
TAMAÑO ÓPTIMO DE LA MUESTRA EN PROGRAMAS DE CONTROL BIOLÓGICO.....	719
CAPTURA DE <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith (Lepidoptera: Noctuidae) CON FEROMONA SEXUAL EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MICHOACÁN.....	723
BIOLOGÍA MOLECULAR, BIOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA GENÉTICA.....	729
UV RADIATION EFFECTS IN THE CHITINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY IN <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE).....	730
EVALUACIÓN DE PROTOTIPOS DE FORMULACIÓN DE CONIDIOS DE <i>Isaria fumosorosea</i> PARA EL CONTROL DE <i>Bemisia tabaci</i>	735
EFICACIA DE ACEITES ESENCIALES Y CEPAS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> PARA EL CONTROL DEL <i>Diaphorina citri</i> EN TAMAULIPAS.....	739
COMPATIBILIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES ESENCIALES HACIA <i>Beauveria bassiana</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE).....	743
EVALUACIÓN DE SEIS PROTOCOLOS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	748
ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES <i>2NP</i> DE <i>Metarhizium anisopliae</i> (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) ANTE DIFERENTES FACTORES NUTRICIONALES.....	754
EVALUACIÓN DE SUSTRATOS NATURALES PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE) POR UNA ALTERNATIVA DE CULTIVO BIFÁSICO.....	755
EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS LÍQUIDOS PARA LA PRODUCCIÓN DE ESPORAS DE LA CEPA GHA DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE).....	760
POTENCIAL DEL DEPREDADOR <i>Zelus renardii</i> (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS.....	765
POBLACIONES DE INSECTOS DEPREDADORES DE LA ESCAMA BLANCA DEL MANGO (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) EN NAYARIT, MEXICO.....	766



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



SECCIÓN ORALES



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ENTOMOPATÓGENOS



PATOGENICIDAD DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* A *Myzus persicae* (SULZER, 1776) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) Y *Bactericera cockerelli* (SULC, 1909) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE).

Noelia Vázquez-Benítez¹, Guadalupe Peña-Chora², Víctor Manuel Hernández-Velázquez³ e Iván Arenas-Sosa⁴.
¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, ²Lab. de Parasitología Vegetal, Centro de Investigaciones Biológicas, ³Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P.62209. ⁴Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. e-mail: n_chan20@yahoo.com.mx.

Resumen. *Myzus persicae* y *Bactericera cockerelli*, son insectos polípagos de importancia mundial debido al daño que causan a los cultivos, la resistencia que han generado a los insecticidas químicos y la gran variedad de enfermedades de las que son vectores. El uso de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) se presenta como una opción viable para el control biológico de estas plagas; sin embargo, actualmente no existen cepas comerciales de *Bt* que se apliquen en campo, por lo que encontrar una que sea patógena a hemípteros y con potencial para ser usada en campo se presenta como una necesidad impostergable. El objetivo del presente trabajo fue determinar la patogenicidad *in vitro* de cinco cepas de *Bt* (GP91, GP139, GP209, GP528 y GP919) sobre ambas especies. Para tal efecto, se realizaron bioensayos de patogenicidad administrando dos concentraciones de proteína *Bt* (10 y 100 ng/ml⁻¹) en una dieta líquida y bajo un diseño experimental DCA con 3 repeticiones, con un total de 60 individuos por tratamiento. Se tomaron datos de mortalidad cada 24 horas hasta las 72 h y los resultados obtenidos fueron analizados con SAS (9.1) mediante un ANOVA y una prueba DMS ($P \leq 0,05$). No se observaron diferencias significativas entre los dos tratamientos aplicados para ninguna de las cepas de *Bt* aplicadas sobre *M. persicae*, observándose los siguientes porcentajes de mortalidad con 10 y 100 ng/ml⁻¹ respectivamente: GP91 (64.17 y 67.5 %), GP139 (69.38 y 70.0 %), GP209 (75 y 81.43 %), GP528 (68.33 y 67.5%) y GP919 (77.5 y 70 %), mientras que para *B. cockerelli*, la GP91 sí mostró diferencias significativas en los tratamientos, siendo la concentración de 100 ng/ml⁻¹ la que mostró un mayor porcentaje de mortalidad (73 %), con respecto a la concentración de 10 ng/ml⁻¹ (58.3 %).

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, *Myzus persicae*, *Bactericera cockerelli*.



EVALUACION DEL ANTAGONISMO DE *Trichoderma sp* (HYPOCREALES: HYPOCREACEAE) y *Bacillus subtilis* (Bacillales: Bacillaceae) CONTRA TRES PATOGENOS DEL AJO (*Allium sativum*) EN COSTA RICA

Jaime Brenes-Madriz¹, William Rivera-Méndez, Claudia Zuñiga-Vega, Karla Meneses- Montero, Karina Astorga- Quiros. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Central Cartago, 506-25559994.

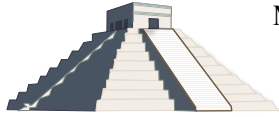
jabrenes@itcr.ac.cr

Resumen. La producción y calidad del cultivo del ajo criollo en Costa Rica (*Allium sativum*) se ven limitadas por diversas enfermedades de origen fungoso y bacterial, que llevan al productor a aplicar agroquímicos que encarecen los costos de producción, esto a la vez reduce los márgenes de utilidad o dejando al agricultor con pérdidas. El control biológico es una estrategia en donde interviene el hombre, útil para combatir microorganismos plagas y enfermedades, dentro las ventajas que presenta están; es inocuo al ambiente, al trabajador, la relación costo/beneficio es muy favorable y se evitan plagas secundarias. El objetivo de esta investigación consistió en evaluar el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis* contra tres de los principales patógenos del ajo: *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium sp.* y *Pseudomonas marginalis*. Para el bioensayo se emplearon muestras de tejido vegetal (bulbos de ajo blanco), rizósfera y suelo con signos de las diferentes enfermedades en el campo, procedentes de la zona norte de Cartago, Costa Rica

La cepa de *B. subtilis* mostró un potencial con valores bajos de PICR: 14,087 ante *S. cepivorum* y 3,328 ante *Penicillium sp.*, por lo que se clasifica como un mal biocontrolador, y ante *P. marginales* mostro muy bajo potencial antibiótico. Los resultados obtenidos con *Trichoderma sp* confirman el potencial de las cepas, como agentes de control biológico frente a la pudrición causada por *Penicillium* del ajo, la bacteriosis por *P. marginalis* y la pudrición blanca por *S. cepivorum*, pues la cepa evaluada mostro PICR altos.

El buen desempeño de *Trichoderma* ante los tres patógenos es un indicador de la alta actividad de los mecanismos de biocontrol disponibles por parte de la cepa. En las pruebas *in vitro* se obtuvo evidencia de los procesos de competencia, antibiosis y parasitismo que logran la inhibición y destrucción de los patógenos de interés.

Palabras clave: control biológico, *Trichoderma sp*, ajo, *Bacillus subtilis*



EFECTO DE EQUIPOS DE APLICACIÓN SOBRE LA EFECTIVIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) EN CAMPO

Jorge M. Naranjo-Lázaro, Marco A. Mellín-Rosas, Víctor D. González-Padilla y Hugo C. Arredondo-Bernal.
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV Km. 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28120, Tecomán, Colima, México. jnaranjo_lazaro@yahoo.com.mx

Resumen. La presente evaluación se desarrolló en un predio de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] de cuatro años de edad, ubicado en las coordenadas: latitud 18.93098° N y longitud -103.86308° O, en Tecomán, Colima, México. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con un arreglo factorial con 15 tratamientos y cuatro repeticiones, los cuales fueron (1) las cepas CHE-CNRCB224 (=Ma59) de *M. anisopliae*, CHE-CNRCB303 (=Pf15), CHE-CNRCB305 (=Pf17), CHE-CNRCB307 (=Pf21) de *I. fumosorosea* a la concentración de concentración de 1×10^7 + dispersante 1mL/L + Aceite mineral 1mL/L y el testigo sin aplicación; (2) los equipos de aplicación Mochila Manual Swissmex Lola 20L, Mochila de Motor ES 726 SHINDAIWA a 200 libras de presión con boquillas D-3 y Nebulizador SR 420 STIHL con boquilla ULV 16. El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$). La prueba de separación de medias por Tukey se determina que el mejor equipo para la aplicación de hongos entomopatógenos es la mochila de motor con la cepa CHE-CNRCB307 de *I. fumosorosea*, seguida del nebulizador y la mochila manual.

Palabras clave: Equipos de aplicación, Psílido asiático de los cítricos, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*.

Introducción

Dentro de los agentes de control biológico de plagas agrícolas se encuentran los entomopatógenos, que incluyen bacterias, virus, nematodos, protozoos y hongos. De estos últimos se estima que a nivel mundial existen más de 700 especies, incluyendo sub especies (Bielikova *et al.*, 2002) y tienen potencial como agentes microbianos reguladores de poblaciones de insectos plaga, ya que provocan infecciones fúngicas, además no inducen resistencia en las poblaciones de los insectos plaga a controlar.

En todo el mundo, es inevitable el uso de plaguicidas para controlar los insectos plaga, las enfermedades y las malas hierbas en los diversos cultivos destinados para el consumo humano. La seguridad alimentaria depende de normas estrictas para impedir residuos nocivos en los alimentos, y ofrecer al consumidor productos sanos y seguros. Es por esto que en los últimos años los productos comercializados a base de hongos entomopatógenos están alcanzando prominencia en el mercado (Bateman & Alves 2000), debido a sus bajos costos de producción, su fácil formulación y su eficacia en la aplicación (Bateman, 1999).



A través de los años, en la práctica, las aplicaciones de hongos entomopatógenos se realizan con equipos convencionales como son: la mochila manual, mochila de motor, nebulizadores y equipos montados en tractor. Sin embargo, se ha determinado que la efectividad de estos microorganismos depende del origen del aislado, calidad del insumo, manejo del insumo y equipo de aplicación (Bateman, 1999; Mellín-Rosas *et al.*, 2012). Por lo anterior y en cumplimiento a la generación de tecnología para el control biológico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) el objetivo de esta evaluación es identificar y seleccionar el equipo más eficiente para la aplicación de hongos entomopatógenos en el control del psílido asiático de los cítricos en campo.

Materiales y métodos

La presente investigación se desarrolló en el Departamento de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) y la evaluación en un predio de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] de cuatro años de edad, ubicado en las coordenadas: latitud 18.93098° N y longitud -103.86308° O, en Tecomán, Colima, México.

Los hongos entomopatógenos forman parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos del CNRCB (CHE-CNRCB) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Origen de los aislados de hongos entomopatógenos de *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*.

Género/especie	Clave	Especie	Origen
<i>Isaria fumosorosea</i>	CHE-CNRCB307 (=Pf21)	<i>Bemisia</i> sp.	Armería, Col.
<i>I. fumosorosea</i>	CHE-CNRCB305 (=Pf17)	<i>Bemisia</i> sp.	Armería, Col.
<i>I. fumosorosea</i>	CHE-CNRCB303 (=Pf15)	<i>Bemisia</i> sp.	Armería, Col.
<i>Metarhizium anisopliae</i>	CHE-CNRCB224 (=Ma59)	<i>Aeneolamia</i> sp.	Veracruz

Previo a la aplicación, de cada árbol tratado se seleccionaron tres brotes infestados por *D. citri*, los cuales fueron marcados con una cinta distintiva con asignación de los datos correspondientes. La aplicación se realizó a partir de las 4:00 P.M., con cada uno de los equipos de aplicación evaluados.

El diseño experimental fue en bloques al azar con un arreglo bifactorial con 15 tratamientos y cuatro repeticiones. El factor A fueron las cepas CHE-CNRCB224, CHE-CNRCB303, CHE-CNRCB305, CHE-CNRCB307 a la concentración de 1×10^7 + dispersante 1mL/L + Aceite mineral 1mL/L y el testigo sin aplicación. El factor B fueron los equipos de aplicación Mochila Manual, Mochila de Motor ES 726 SHINDAIWA a 200 libras de presión con boquillas D-3 y Nebulizador SR 420 STIHL con boquilla ULV 16, la aplicación fue dirigida al follaje con una distancia de 30 cm entre la boquilla y el follaje, procurando que todo el árbol quedara a punto de roció (Fig. 1). Las unidades experimentales se ubicaron en aproximadamente una hectárea y conformado por un árbol tratado por tratamiento, un árbol como zona buffer entre cada tratamiento y un surco como zona buffer entre cada repetición. El sistema de plantación es 6 m de separación entre árbol y 8 m entre cada surco.



Posterior a la aplicación los brotes fueron cubiertos con una bolsa de organza para evitar la acción de enemigos naturales que pudieran alterar los resultados. Asimismo, la temperatura fluctuó de 27.38 a 36.02°C, con una humedad relativa de 81.28 a 92.43%. Siete días después, los brotes seleccionados fueron cortados y analizados en el Departamento de Hongos Entomopatógenos del CNRCB. De cada brote se contabilizaron los individuos vivos, muertos y micosados, tanto de los brotes tratados, como de brotes testigo.



Figura 1. Equipos de aplicación evaluados: a) Mochila de motor, b) Mochila manual, c) Nebulizador.

Para corroborar que los individuos murieron por la acción de las cepas evaluadas, todos los individuos muertos tanto de brotes tratados como del testigo fueron colocados en cámara húmeda para favorecer la esporulación y la identificación de los microorganismos. Cada cámara húmeda se marcó con los datos del brote correspondiente y se mantuvieron a una temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. Transcurridos cuatro días, se contabilizaron los individuos muertos con desarrollo de micosis. Previa transformación angular, los porcentajes de mortalidad, se sometieron a análisis de varianza y prueba de separación de medias de Tukey (0.05), utilizando SAS/STAT (2002).

Resultados

El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$). La prueba de separación de medias por Tukey separó a la cepa CHE-CNRCB307 de *I. fumosorosea* con la mochila de motor como la más virulenta con 70.99% de mortalidad por micosis, seguida de la cepa CHE-CNRCB305 con 46.15%, cepa CHE-CNRCB303 con 10.83% y CHE-CNRCB224 con 5.64% (Fig. 2).

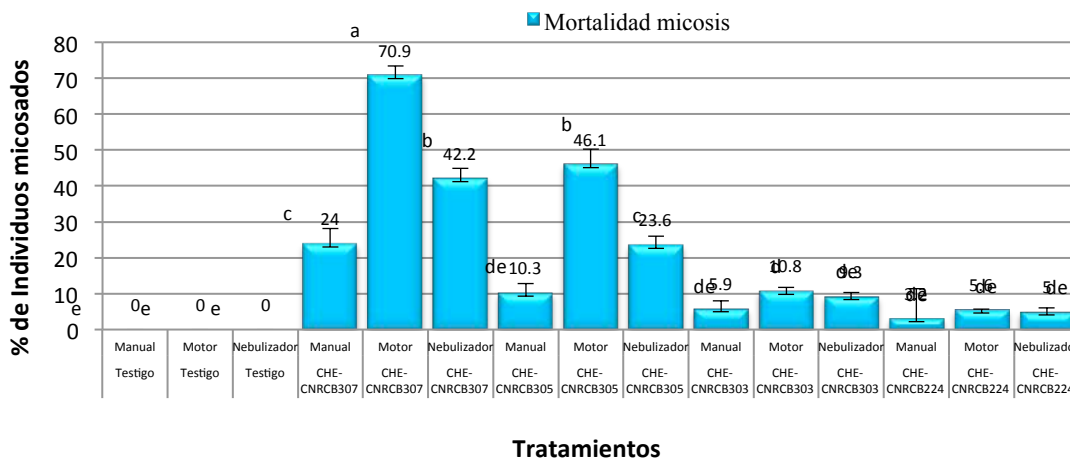


Figura 2. Porcentajes de desarrollo de micosis sobre *D. citri* y efecto de equipos de aplicación Tukey (0.05); el error estándar se muestra en líneas arriba de las barras; e coeficiente de variación es 11.52.

Por su parte, el nebulizador registro 42.27% de mortalidad por micosis con 42.27% y la mochila manual 24.06% por la cepa CHE-CNRCB307, mismos que el 74.6% de la población presente en estado de ninfa y el 25.4% en estado adulto, el testigo no presentó desarrollo de hongos. Todas las cepas evaluadas presentan mayor desarrollo de micosis sobre el estado de ninfa que en adulto de *D. citri* a partir del cuarto día posterior a la aplicación.

Discusión

Los resultados obtenidos en esta evaluación demuestran que la efectividad de los hongos entomopatógenos es sometida de acuerdo al equipo de aplicación utilizado. La cepa CHE-CNRCB307 de *I. fumosorosea* aplicada con mochila de motor resulto ser la que mayor individuos micosados presento. Resultados similares fueron obtenidos por Mellin-Rosas *et al.* (2011) quienes evaluaron las mismas especies de hongos entomopatógenos de *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*, en campo a la concentración de 1×10^7 conidios/mL, sobre ninfas y adultos de *D. citri*, y el porcentaje de control de las cepas CHE-CNRCB224, CHE-CNRCB303, CHE-CNRCB305, CHE-CNRCB307, fluctuó de 59.79%, 45.93%, 15.64%, 7.40% de micosis con Mochila de Motor ES 726 SHINDAIWA en un predio de limón mexicano en la Localidad de los Reyes, municipio de Armería, Colima, en donde las condiciones ambientales de la zona le favorecieron para que se desarrollara la micosis en ninfas y adultos de *D. citri* con esa cepa.

Rivas-Duran *et al.* (2013) obtuvieron resultados similares al utilizar una mochila de motor Arimitsu SD 253 aplicando las mismas cepas sobre *D. citri* en Villas de Tututepec, Oax., el porcentaje de desarrollo de micosis más alto lo obtuvo la cepa CHE-CNRCB307 con 57.11%. Al comparar estos resultados con los de Lezama-Gutiérrez *et al.* 2012 quienes evaluaron otros géneros de hongos entomopatógenos *Cordyceps bassiana* Z.Z. Li, C.R. Li, B. Huang & M.Z. Fan (Cb108), *M. anisopliae* (Ma65, Ma14) e *I. fumosorosea* (Ifr 4) aplicadas con mochila de motor



dirigida al follaje sobre *D. citri*, encontraron que el porcentaje de control varió de mayor a menor de 60, 50, 40 y 35% en ninfas y de 50, 50, 42 y 22% en adultos.

Dentro de los factores que afectan la efectividad de la aplicación de hongos entomopatógenos en campo, se encuentran las condiciones de temperatura, humedad relativa y luz ultravioleta (Hernández-Velázquez, 2011). Sin embargo, otros factores son: el origen del aislado, el manejo de las cepas, la viabilidad (arriba del 80%), alto grado de virulencia por la cepa, calidad del agua, pH, coadyuvantes utilizados, formulación del producto, equipo de aplicación, hora de la aplicación, concentración de la suspensión, presión de la aplicación, orientación de la aplicación, boquillas, personal capacitado tanto para la aplicación como para conocer la biología de la plaga a controlar y la residualidad de los productos químicos previamente utilizados en la superficie. En este sentido, el presente trabajo se considera como una contribución útil en cumplimiento a la generación de tecnología para el control biológico del psílido asiático de los cítricos derivado de que a la fecha no existen evaluaciones realizadas sobre la efectividad de otros equipos de aplicación utilizando estas tres cepas de *I. fumosorosea* y la de *M. anisopliae* en el control de ninfas y adultos de *D. citri* en campo.

Conclusiones

El mejor equipo para la aplicación de hongos entomopatógenos es la mochila de motor, seguida del nebulizador y la mochila manual.

La cepa CHE-CNRCB307 de *I. fumosorosea* con la mochila de motor como la más patógena, misma que desarrollo micosis en 70.99% de la población del psílido asiático de los cítricos.

Literatura citada

- Bateman, R. P. 1999. Delivery systems and Protocols for Biopesticides. In: "Biopesticides: Use and Delivery" Eds. F. R. Hall and J. Menn, pp. 509–528. Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- Bateman, R. P. and Alves, R. T. 2000. Delivery systems for mycoinsecticides using oil-based formulations. *Aspects Appl. Biol.* 57, 163–170.
- Bielikova, L., Landa, Z., Osborne, L. and Curn, V. 2002. Characterization and identification of entomopathogenic and mycoparasitic fungi using RAPD-PCR technique. *Plant Prot. Sci.* 38: 1-12.
- Hernández-Velázquez, V. 2011. Factores que afectan la persistencia de hongos entomopatógenos. pp. 1-7. En: Memoria del curso producción de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Tecomán, Colima. 20-22 Julio.
- Lezama-Gutiérrez, R., Molina-Ochoa, J., Chávez-Flores, O., Angel-Sahagún, C., Akoda, S., Reyes-Martínez, G., Barba-Reynoso, M., Rebolledo-Domínguez, O., Ruiz-Aguilar, G. and Foster, J. 2012. Use of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Persian lime under field conditions. *International Journal of Tropical Insect Science* 32: 39–44.
- Mellín-Rosas, M. A., Hernández-Betancourt, I., Núñez-Camargo, M. y Arredondo-Bernal, H. C. 2011. Efectividad de hongos entomopatógenos en el control del psílido de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en Colima. pp. 367-372. En: memoria 2º Simposio Nacional Sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Montecillo, Texcoco. 5 y 6 de Diciembre del 2011.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Mellín-Rosas, M. A., Sánchez-Gonzales, J. A. y Naranjo-Lázaro, J. M. 2012. Uso del parasitoide *Tamarixia radiata* y hongos entomopatógenos para el control del psílido asiático de los cítricos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA. Ficha Informativa CB-28, pp. 1-4.
- Rivas-Duran, J. A., Sánchez-Rodríguez, S. E., Córdova-Gómez, G., Mellín-Rosas, M. A., Naranjo-Lázaro, J. M., Arredondo-Bernal, H. C. y Ovando-Cruz, M. E. 2013. Evaluación de hongos entomopatógenos contra el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Villas de Tututepec, Oax. pp. 262-266. *En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico*. Santana Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. 6 al 8 de Noviembre.
- SAS/STAT. 2002. Version 9.2 Carry, NC. SAS Institute Inc. USA.
- Watson, D. W., Geden, C. J., Long, S. J. y Rutz, D. A. 1995. Efficacy of *Beauveria bassiana* for controlling the house fly y stable fly (Diptera: Muscidae). *Biological Control* 5: 405-411.



SELECCIÓN DE AISLADOS MONOSPÓRICOS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Y SU PATOGENICIDAD SOBRE *Drosophila suzukii* (MATSUMURA) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

Jorge M. Naranjo-Lázaro, Marco A. Mellín-Rosas, Víctor D. González-Padilla y Hugo C. Arredondo-Bernal.
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV Km. 1.5 Carretera Tecomán-Estación
FFCC, 28120, Tecomán, Colima, México. jnaranjo_lazaro@yahoo.com.mx

Resumen. En pruebas de laboratorio se evaluó y selecciono ocho aislados monospóricos de los multiespóricos CHE-CNRCB293 (=Pf02), CHE-CNRCB307 (=Pf21), CHE-CNRCB305 (=Pf17) de *I. fumosorosea* y su patogenicidad sobre adultos de *Drosophila suzukii* (Matsumura) a la concentración de 1×10^7 conidios/mL. El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$). La prueba de separación de medias por Tukey separó a la cepa monospórica CHE-CNRCB293/21 como la más sobresaliente con 93.75% de mortalidad por micosis, seguida de las cepas CHE-CNRCB293/20 con 90%, CHE-CNRCB307/11 con 88.75%; por otro lado las cepas multispóricas más sobresalientes fueron CHE-CNRCB293 con 85% y CHE-CNRCB307 con 80% de *I. fumosorosea*, además el testigo no presentaron mortalidad alguna por micosis. Estos cinco aislados son los posibles candidatos para continuar con el desarrollo de un programa de control biológico de la mosca del vinagre de alas manchadas, mismas que tienen el potencial de control ya que desarrollaron micosis desde el 80 hasta el 93.75% de la población.

Palabras clave: Mosca del vinagre de alas manchadas, Control biológico, Monospóricos, *Isaria fumosorosea*.

Introducción

El hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* Wize (Hypocreales: Cordycipitaceae) es uno de los agentes microbianos prometedores para el control biológico de la mosca del vinagre de alas manchadas *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) (Naranjo-Lázaro *et al.*, 2014). A nivel mundial existen productos registrados a base de conidios de *I. fumosorosea* (De Faria and Wraight, 2007) que representan una alternativa ecológica al uso de insecticidas químicos. En México, el Gobierno Federal a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) y el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), ha utilizado *I. fumosorosea* en diversos programas de control biológico contra plagas agrícolas de interés económico como: mosquita blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricidae* Kirkaldy (Hemiptera: Aphidae) y psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Arredondo-Bernal *et al.*, 2011).

Asimismo, en marzo del 2012 inicio un programa en desarrollo a través del uso de hongos entomopatógenos para el control de *D. suzukii* como una herramienta alternativa de control de este insecto que ha cobrado importancia recientemente en México (Naranjo-Lázaro *et al.*, 2012). Sin embargo, una vez de haber seleccionado un aislado o aislados virulentos para el desarrollo de un programa de control biológico de plagas agrícolas, la siguiente línea de investigación es la



obtención de aislados monospóricos (Ayala-Zermeño *et al.*, 2012), los cuales se usan para obtener cultivos de una espora simple, permitiendo contar con aislados genéticamente homogéneos y con una mayor estabilidad en todas sus propiedades.

La presente investigación es la continuidad de un estudio previo realizado por Naranjo-Lázaro *et al.* (2013) donde seleccionaron cepas de hongos entomopatógenos para el control biológico de adultos de la mosca del vinagre de alas manchadas *D. suzukii*. Se planteó como objetivo evaluar y seleccionar la o las cepas de aislados monospóricos de hongos entomopatógenos más virulentas, para obtener aquellos que podrían ser candidatos a utilizarse como agentes de control biológico de *D. suzukii*.

Materiales y métodos

La presente investigación se desarrolló en el Departamento de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) ubicado en el km 1.5 carretera Tecmán-FFCC. Tecmán, Colima, México.

Los aislados del hongo *I. fumosorosea* utilizados en este estudio fueron previamente seleccionados con base en el grado de patogenicidad mostrado sobre adultos de *D. suzukii* CHE-CNRCB293 (=Pf02) 85%, CHE-CNRCB307 (=Pf21) 80% y CHE-CNRCB305 (=Pf17) 60% (Naranjo-Lázaro *et al.*, 2013). Los aislados forman parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos del CNRCB (CHE-CNRCB).

De cada una de las cepas se obtuvieron ocho monospóricos siguiéndose la metodología de Mier *et al.* (2002) modificada, en la cual consistió en preparar una suspensión de conidios en INEX-A[®] de Cosmocol S.A. al 0.1% y se cuantificó en una cámara de Neubauer, hasta obtener una suspensión de 1×10^4 conidios/mL, asegurando obtener 50 conidios con cada una de las cepas. Posteriormente se colocaron 5 μ L de cada una de las suspensiones en el centro de cajas de Petri de 90 x 115 mm con 10 mL de agar SDAY y se dispersaron con una varilla de vidrio estéril. Este procedimiento se realizó en una cámara de flujo laminar.

Transcurridas 14 h se monitorearon las cajas de Petri con el objetivo de 10x de un microscopio óptico, se localizó un conidio germinado (monospórico), se colocó al centro del campo visual, serrándose el diafragma hasta que sólo se observa un haz de luz sobre la región donde se localizó el conidio (área de 2 mm² aproximadamente). Posteriormente se hicieron cuatro cortes con una aguja de disección entomológica de manera que se formara un cuadrado en torno a la circunferencia del haz de luz. Se verificó que el área contenía solamente un conidio, se tomó la fracción de agarosa con el conidio, colocándolo en el centro de tubos de ensaye con medio de Agar Dextrosa Sabouraud, que fueron incubados a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 16 días.

Bioensayo de patogenicidad. El experimento fue completamente al azar, con 27 cepas de hongos entomopatógenos como tratamientos y cuatro repeticiones, el testigo fue tratado con agua destilada estéril con INEX-A al 0.1%. Del pie de cría del Departamento de Entomófagos del



CNRCB se recolectaron adultos *D. suzukii* de un día de edad con la ayuda de un capturador bucal en viales entomológicos de 2.6 x 5 cm. Se formaron grupos de 10 adultos por repetición. El vial con los adultos fue expuesto por 30 segundos en el congelador de un refrigerador de uso doméstico para inmovilizarlos; posteriormente se colocaron en tela de organza y por medio de una Torre de Potter para pulverizaciones de precisión en laboratorio (Potter, 1952) los adultos de *D. suzukii* fueron inoculados con una suspensión de 1×10^7 conidios/mL con cada una de las cepas, para posteriormente colocarlos en cajas Petri de 90 x 115 mm sobre una capa de papel filtro húmedo (Whatman No. 4). La tapa de la caja Petri con los adultos tuvo un orificio circular de cuatro centímetros de diámetro, cubierto con tela de organza, misma que se le colocó miel de abeja en pequeñas gotas como fuente de alimento, las cajas Petri se conservaron en una cámara climática Binder KBWF 720 (E5.2) $20 \pm 2^\circ\text{C}$, cada 24h se tomó registro de adultos muertos/tratamiento durante doce días (Naranjo-Lázaro *et al.*, 2012, 2013, 2014).

Los adultos muertos fueron separados y mantenidos en cajas Petri con papel filtro húmedo estéril para favorecer la esporulación y ratificar la muerte por el hongo. Solo se consideraron como muertos por efecto del hongo los que desarrollaron micosis. Previa transformación angular, los porcentajes de mortalidad se sometieron a un análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey $P < 0.05$ usando el programa estadístico SAS/STAT (2002).

Resultados

El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$) (Fig. 1). La prueba de separación de medias por Tukey separó a la cepa monospórica CHE-CNRCB293/21 como la más sobresaliente con 93.75% de mortalidad por micosis, seguida de las cepas CHE-CNRCB293/20 con 90% y CHE-CNRCB307/11 con 88.75%; por otro lado las cepas multispóricas más sobre salientes fueron CHE-CNRCB293 con 85% y CHE-CNRCB307 con 80% de *I. fumosorosea*, el testigo no presentó mortalidad alguna por micosis (Fig. 1). La mortalidad de adultos de *D. suzukii* se observó a partir del segundo día, no obstante signos de micosis se presentaron a partir del tercero y hasta el doceavo día.

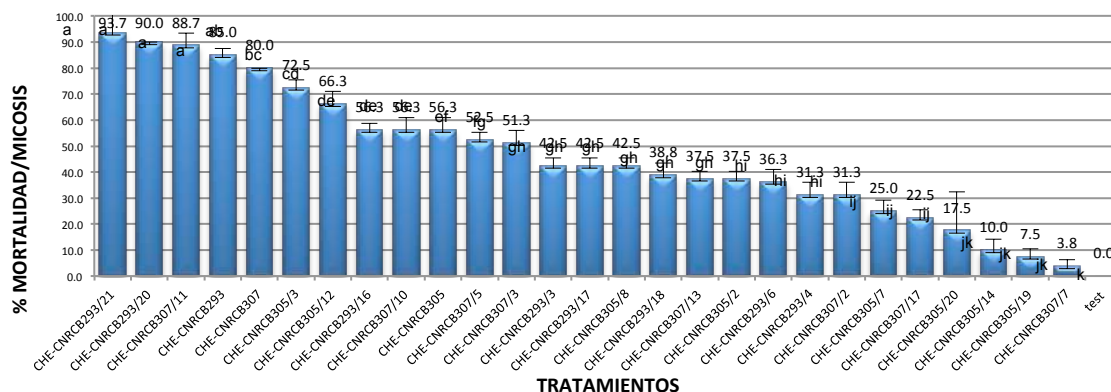


Figura 1. Mortalidad por micosis de adultos de *D. suzukii* causadas por hongos entomopatógenos bajo condiciones de laboratorio a $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Tukey (< 0.05); el error estándar se muestra en líneas arriba de las barras; e coeficiente de variación es 10.22.



Discusión

Los aislados multiespóricos fueron superados por algunos monospóricos en cuanto a los niveles de infección por micosis, tal es el caso de las cepas CHE-CNRCB293 y CHE-CNRCB307 que fueron superadas por sus monospóricos CHE-CNRCB293/21 con 93.3%, CHE-CNRCB293/20 con 90% y CHE-CNRCB307/11 con 88.7% de micosis. Con lo anterior, se superan los resultados obtenidos por Lee *et al.* (2014) quienes evaluaron las cepas B.b de *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill, M.a de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin y P.f de *I. fumosorosea*, siendo solo la cepa M.a la que alcanzó únicamente el 61.5% de mortalidad sobre adultos de *D. suzukii*. De igual manera, evaluaron los nematodos *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae), *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae), *Heterhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae), sobre dietas y zarzadoras infestadas de larvas de *D. suzukii* obteniendo solo 1.6% de infección para ambos casos con *S. feltiae*, llegando a la conclusión que con estos resultados no alcanzaron altos índices de control por lo cual continuarán en la búsqueda de alternativas para controlar *D. suzukii*.

Por su parte CABI (2014), hace alusión como posibles parasitoides de larvas de *D. suzukii* a *Asobara japonica* Belokobylskij (Hymenoptera: Braconidae), *Asobara rufescens* Forster (Hymenoptera: Braconidae), *Asobara tabida* Nees (Hymenoptera: Braconidae), *Ganaspis xanthopoda* Keiner-Pillault (Hymenoptera: Figitidae), *Leptopilina boulandi* Barbotin (Hymenoptera: Figitidae), *Leptopilina heterometra* Thomson (Hymenoptera: Figitidae); como parasitoides de pupa de *D. suzukii* *Pachycrepoideus vindemniae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) y *Trichopria drosophilae* Perkins (Hymenoptera, Diapriidae); como posibles depredadores a *Cardiastethus fasciiventris* Garbiglietti (Hemiptera: Anthocoridae), *Cardiastethus nazarenus* Reuter (Hemiptera:Anthocoridae), *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae), *Orius* Sp Say (Hemiptera: Anthocoridae), *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae). Sin embargo, la falta de generación de tecnología para su producción masiva no se ha desarrollado. Es por esto que, el alto grado de patogenicidad de los aislados monospóricos los ubica como posibles candidatos para implementarlos en el control de *D. suzukii*. Sin embargo, es fundamental continuar una tercera fase de evaluación para determinar la o las dosis letales de estos hongos entomopatógenos sobre adultos de la mosca del vinagre de alas manchadas.

Conclusiones

Los aislados monospóricos CHE-CNRCB293/21, CHE-CNRCB293/20, CHE-CNRCB307/11 resultaron ser patogénicos sobre adultos de *D. suzukii*, Asimismo. La prueba de medias también agrupa a los aislados multiespóricos CHE-CNRCB293 y CHE-CNRCB307 dentro de los mejores.

Estos cinco aislados son los posibles candidatos para continuar con el desarrollo de un programa de control biológico de la mosca del vinagre de alas manchadas, mismas que tienen el potencial de control con desarrollo de micosis desde el 80 hasta el 93.75% de la población.



Agradecimientos. Al Ing. Jorge Antonio Sánchez González y al Ing. Gabriel Moreno Carrillo del Departamento de Insectos Entomófagos del CNRCB, por proporcionar los adultos de la mosca del vinagre de alas manchadas *D. suzukii*; al Dr. Martín Palomares Pérez por los comentarios sugeridos al manuscrito.

Literatura citada

- Arredondo-Bernal, H.C., J.A. Sánchez., M.A. Mellín-Rosas., I. Hernández-Betancourt y J.M. Naranjo-Lázaro. 2011. 20 Aniversario del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, México, D.F. pp. 67.
- Ayala-Zermeño, M. A., R. Montesinos., A.M. Berlanga-Padilla. 2012. Obtención de cultivos monospóricos de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA. Ficha técnica CB-27, 4 p.
- CABI 2014. Cookies on Invasive Species Compendium: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/109283>. Accesado 16/07/2014.
- Cortez-Madrugal, H., R. Alatorre-Rosas., G. Mora-Aguilera., H. Bravo-Mojica., C. F. Ortiz-García and L. A. Aceves-Navarro. 2003. Characterization of multisporic and monosporic isolates of *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* for the management of *Toxoptera aurantii* in cocoa. *BioControl* 48: 321-334.
- De Faria, M.R. and S.P. Wraight. 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Cont.* 43:237-256.
- Lee, J., M. Woltz., K. Donahue., A. Dreves. 2014. Biological control of spotted wing *Drosophila*. Horticultural Crops Research Unit, Corvallis, Oregon.
- Lopes, R., I. Martins., D. Sousa and M. Faria. 2013. Influence of some parameters on the germination assessment of mycopesticides. *Journal of Invertebrate Pathology.* 112: 236-242.
- Mier T., C. Toriello and M. Ulloa. 2002. Métodos para aislamiento, purificación y obtención de microcultivos de hongos microscópicos. *In: Hongos Microscópicos Saprobios y Parásitos: Métodos de Laboratorio.* UAM-Xochimilco, UNAM-Instituto de Biología. México D.F. pp 15.
- Naranjo-Lázaro, J. M., M. A. Mellín-Rosas., V. D. González-Padilla., G. Moreno-Carrillo., J. A. Sánchez-González y H. C. Arredondo-Bernal. 2014. Susceptibilidad de *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) a hongos entomopatógenos. *Southwestern Entomologist Scientific.* 39: 201-203.
- Naranjo-Lázaro, J. M., M. A. Mellín-Rosas., V. D. González-Padilla y H. C. Arredondo-Bernal. 2013. Selección de cepas de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico de adultos de *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae). 172-176 pp. *En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico.* SMCB. Santana Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. 6 al 8 de Noviembre 2013.
- Naranjo-Lázaro, J. M., M. A. Mellín-Rosas., V. D. González-Padilla., G. Moreno-Carrillo., J. A. Sánchez-González y Arredondo-Bernal, H. C. 2012. Avances en la selección de cepas de hongos entomopatógenos como agentes de control microbiano de adultos de *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae). 523-526 pp. *En: Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico.* SMCB. Ed. la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Pue., México del 7 al 9 de Noviembre.
- Potter, C, 1952. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. *Ann. appl. Biol.* 1: 1-29.
- Ruiz-Sánchez, E., W. Chan-Cupul., A. Pérez-Gutiérrez., J. Cristóbal-Alejo., B. Uch-Vázquez., J. M. Tun-Suárez y R. Munguía-Rosales. 2011. Crecimiento, esporulación y germinación *in vitro* de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. *Revista Mexicana de Micología.* 33: 9-15.
- SAS/STAT. 2002. Versión 9.2 Carry, NC. SAS Institute Inc. USA.



ESTIMACIÓN DE CL₅₀ DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN ADULTOS DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE).

Ibarra-Cortés K. H¹, González-Hernández H¹, Guzmán-Franco A. W¹, Ortega-Arenas L. D¹, Villanueva-Jiménez J. A, Robles-Bermúdez A². ¹Posgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Km. 36.5 Carretera México- Texcoco, Col. Montecillo, Texcoco, Estado de México. ibarra.karla@colpos.mx, hgzzhdz@colpos.mx, gariel@colpos.mx, ladeorar@colpos.mx. ²Facultad de Agronomía, Km. 9 Carretera Tepic-Compostela, Xalisco. Nayarit. México. nitsugarobles@hotmail.com.

Resumen: En la actualidad, los cítricos en México están siendo atacados por una de las enfermedades más devastadoras conocida como “el HLB (Huanglongbing)”, donde el agente causal es la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que es transmitida en Asia y América por el psílido asiático de los cítricos (PAC) *Diaphorina citri* (Kuwayama) y *Trioza erytreae* en África. En México el HLB se identificó en la Península de Yucatán por vez primera en el año 2009 y a finales del mismo año también se detectó en los estados de Nayarit y Jalisco. Actualmente este insecto se ha dispersado en todas las zonas citrícolas del país. Existen diferentes estrategias potenciales que podrían ser utilizadas en el manejo de esta plaga, donde el control químico es el más usado, adicionalmente también se está evaluado el uso de parasitoides para el manejo de esta plaga. Poco se ha estudiado el uso de entomopatógenos a pesar de su gran potencial, por lo que es necesario conocer a este grupo de agentes de control biológico. Por lo anterior, como parte de esta investigación, se estimó la CL₅₀ de aislamientos seleccionados de hongos entomopatógenos de *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Metarhizium anisopliae* en adultos de *D. citri*. Los aislamientos fueron proporcionados por el Laboratorio de Patología de Insectos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. de México. La inoculación de los adultos de *D. citri* se realizó con una torre de pulverización equipada con una boquilla de cono (Spraying Systems). Todo el experimento se incubó a 25°C y fotoperiodo 12:12 (L:O). En todos los aislamientos se produjo una relación dosis-respuesta, ya que las mayores mortalidades siempre se obtuvieron a las concentraciones más altas para todos los aislamientos. El aislamiento Pae (K) de *I. fumosorosea* fue el que causó en adultos del PAC la mayor mortalidad, superior al 30%.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, PAC, CL₅₀, hongos entomopatógenos.

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico para la realización de este trabajo.



EFFECTOS DE *Bacillus thuringiensis* Y CIPERMETRINA EN LA ACTIVIDAD DE FORRAJE Y APRENDIZAJE OLFATIVO DE LA ABEJA *Apis mellifera*, UN ENFOQUE COMPARATIVO

Alquisira-Ramírez, Eva V.¹, Peña-Chora, Guadalupe² y Hernández-Velázquez Víctor M³. ¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P 62209. ²Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P 62209. ³Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P 62209. Tel. 01 (777) 329 70 00 Ext. 3243. e-mail ipa.evar@hotmail.com

Resumen. El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de *B. thuringiensis* en la actividad de forrajeo y aprendizaje olfativo de *A. mellifera* y compararlos con un plaguicida sintético, cipermetrina, usando el mismo protocolo experimental. Los experimentos se realizaron en colonias dentro de jaulas de vuelo al aire libre, las abejas tuvieron tres periodos de observación durante los cuales fueron alimentadas con el complejo spora-cristal de *B. thuringiensis* y cipermetrina. Durante los dos primeros días de cada periodo de observación se midió el comportamiento de forrajeo y en los dos días siguientes se evaluó la capacidad de aprendizaje olfativo. Los resultados mostraron que tanto para las pruebas con *B. thuringiensis* como para cipermetrina el número de visitas al dispositivo de alimentación fue significativamente mayor antes del tratamiento en comparación con los periodos durante y después. Los resultados en las pruebas de aprendizaje olfativo mostraron que el porcentaje de visitas se mantuvo constante durante y después del tratamiento con *B. thuringiensis*, sin embargo, el porcentaje de visitas se redujo significativamente durante y después del tratamiento con cipermetrina. Se concluye que a diferencia de los plaguicidas químicos, *B. thuringiensis* es inocua para las abejas y podría utilizarse con éxito en el combate de plagas como *V. destructor*.

Palabras clave: Abeja, plaguicidas, patógeno, bioseguridad, conducta.

Introducción

La abeja *Apis mellifera* es un insecto muy importante desde el punto de vista social, económico y ecológico. Provee de miel, polen, cera, jalea real, propóleos, veneno, etc. *Apis mellifera* es el principal insecto polinizador, ya que contribuye significativamente al mantenimiento y desarrollo de la biodiversidad de los ecosistemas (van Engelsdorp *et al.*, 2008).

Las abejas viven en colonias perfectamente organizadas, donde cada individuo realiza una función determinada de acuerdo a su edad y desarrollo físico (Thompson, 2003). La búsqueda y recolección de los alimentos (forrajeo) en una colonia de abejas es un proceso muy bien coordinado que requiere la transferencia de información entre sus miembros (Decourtye *et al.*, 2005). Cuando las recolectoras regresan con el alimento a la colonia, mediante olores y bailes, indican a sus compañeras de nido donde está la fuente de alimento (De Marco, 2006).



Una gran cantidad de colonias de *A. mellifera* han desaparecido en muchas partes del mundo, algunos de los responsables son los plaguicidas, principalmente los utilizados para el control de *V. destructor* que es la plaga más importante en la apicultura (Boecking y Genersch, 2008).

El consumo de alimento contaminado con plaguicidas puede tener efectos tanto letales como subletales en la colonia. Los piretroides, organofosforados, neonicotinoides, fungicidas y reguladores del crecimiento, han afectado a las abejas produciendo alta mortalidad, malformaciones, problemas en el desarrollo de reinas, deterioro en la capacidad olfativa, de orientación, de locomoción y de la sensibilidad a sacarosa (Carrasco-Letelier *et al.*, 2012; Ladurner *et al.*, 2005).

Debido a lo anterior, existe una preocupación creciente de contar con nuevas formas de control de plagas que se encuentran tanto fuera como dentro de las colonias de abejas, no contaminantes y más acorde con la salud y bienestar de los insectos benéficos. Por esta razón, en los últimos años, el uso de entomopatógenos ha cobrado relevancia (Bale *et al.*, 2008).

Recientemente, Alquisira-Ramírez *et al.*, (2014) encontraron cepas de *B. thuringiensis* que de manera *in vitro* son virulentas a *V. destructor*, pero inocuas a larvas y adultos de *A. mellifera*. A pesar de los resultados, es necesario hacer pruebas de bioseguridad en campo para observar el efecto real de *B. thuringiensis* sobre *A. mellifera*.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la cepa EA26.1 de *B. thuringiensis* en la actividad de forrajeo y aprendizaje olfativo de *A. mellifera* y compararlos con un plaguicida sintético, cipermetrina, usando el mismo protocolo experimental.

Materiales y métodos

Los experimentos se realizaron en colonias de abejas *A. mellifera* que contenía aproximadamente 10,000 obreras, dentro de jaulas de vuelo al aire libre. Las abejas se alimentaron con una solución de sacarosa al 50% en un dispositivo de alimentación estándar (Decourtye *et al.*, 2004; Ramírez-Romero *et al.*, 2005).

La comparación de las respuestas en el comportamiento se medió durante tres períodos de observación: 1) antes del tratamiento (colonia alimentada con jarabe sin *B. thuringiensis* o cipermetrina), 2) durante el tratamiento (colonia alimentada con jarabe más *B. thuringiensis* o cipermetrina), 3) después del tratamiento (colonia alimentada con jarabe sin *B. thuringiensis* o cipermetrina). Cada periodo con una duración de cuatro días e intervalos de tres días entre un periodo y otro.

Para medir la actividad de forrajeo se utilizó un dispositivo de alimentación artificial descrito por Decourtye *et al.* (2004) el cual consistió en seis cajas Petri de plástico (5 cm de diámetro) colocadas sobre hojas de papel de color azul y distribuidas en la periferia de una bandeja de color amarillo. El dispositivo se colocó a 1.5 m de la entrada de la colmena, todas las cajas de Petri se llenaron con una solución de sacarosa (con o sin el patógeno y cipermetrina), al lado de cada caja



se colocó un círculo de papel filtro (5.5 cm de diámetro) impregnado de aromatizante (30 μ L de olor puro), antes de cada experimento se colocaron aproximadamente 100 abejas obreras sobre el dispositivo de alimentación para iniciar la actividad. El periodo de observación de forrajeo fue de dos horas durante los dos primeros días de cada periodo de observación, todas las abejas que visitaron el dispositivo durante el período fueron contabilizadas y marcadas con un punto de color en el tórax (Ramírez-Romero *et al.*, 2005).

En los dos días siguientes se puso a prueba el rendimiento de aprendizaje olfativo, el dispositivo de prueba se estableció con tres cajas con aroma (esencia de azares) alternando con tres cajas sin aroma, todas sin sacarosa. Se observó por una hora. La capacidad de aprendizaje se evaluó mediante el registro del número de abejas marcadas que visitaron las cajas aromatizadas (Decourtye *et al.*, 2004; Ramírez-Romero *et al.*, 2005).

Resultados y discusión

Los resultados tanto para las pruebas con *B. thuringiensis* como para cipermetrina mostraron que el número de visitas al dispositivo de alimentación fue significativamente mayor antes del tratamiento (22 y 26 respectivamente) en comparación con los periodos durante (7 y 3 respectivamente) y después del tratamiento (3 y 10 respectivamente). Algo similar fue observado en la investigación de Ramírez-Romero *et al.*, (2005) donde las abejas alimentadas con la toxina Cry1Ab de *B. thuringiensis* y un piretroide reducen su actividad de forrajeo a medida que pasan los tres periodos de observación. Este resultado puede deberse a que la actividad de la colonia dependía de la calidad de la comida proporcionada en el alimentador y la presencia de altas concentraciones de espora-cristal inhibió el forrajeo de las abejas, se pudo detectar un mal olor del jarabe, debido a que el complejo es producto de un cultivo bacteriano.

Los resultados en las pruebas de aprendizaje olfativo muestran que en el periodo antes del tratamiento, el porcentaje de abejas que visitaron los sitios aromatizados fue superior al 50%, en comparación a los sitios sin olor, mostrando que las abejas estaban bien acondicionadas al olor bajo estas condiciones experimentales. El porcentaje de visitas se mantuvo constante durante y después del tratamiento con *B. thuringiensis*, indicando que las cepas de patógenos evaluadas no causan efectos en dicho comportamiento. Sin embargo, el porcentaje de visitas se redujo significativamente durante y después del tratamiento con cipermetrina, en este caso, las abejas mostraron una reducción en su capacidad de aprendizaje asociado al olor. De manera similar a la presente investigación, Ramírez-Romero *et al.*, (2005) mencionan que la toxina Cry1Ab no afecta la capacidad de aprendizaje de las abejas, por el contrario, las abejas tratadas con cipermetrina, si mostraron un deterioro en dicha capacidad. Con los resultados obtenidos en la presente investigación, podemos concluir que *B. thuringiensis* podría ser utilizado con éxito en el combate de plagas como *V. destructor* debido a que a diferencia de los plaguicidas químico *B. thuringiensis* es inocuo para las abejas.

Agradecimientos. A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UAEM. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante mis estudios.



Literatura citada

- Alquisira-Ramírez, E. V.; J. R. Paredes-Gonzalez; V. M. Hernández-Velázquez; J. A. Ramírez-Trujillo; G. Peña-Chora. 2014. In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidologie* DOI: 10.1007/s13592-014-0288-z
- Bale, J. S.; J. C. van Lenteren y F. Bigler. 2008. Biological control and sustainable food production. *Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363: 761–776.
- Boecking, O. y E. Genersch. 2008. Varroosis-the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 3: 221-228.
- Carrasco-Letelier L.; Y. Mendoza-Spina; M. B. Branchicelaas. 2012. Acute contact toxicity test of insecticides (Cipermetrina 25, Lorsban 48E, Thionex 35) on honeybees in the southwestern zone of Uruguay. *Chemosphere* 88: 439–444.
- Decourtye A.; J. Devillers; S. Cluzeau; M. Charreton; y M. H. Pham-Delègue. 2004b. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 410–419.
- Decourtye, A.; J. Devillers; E. Genecque; K. L. Menach; H. Budzinski; S. Cluzeau; M. H. Pham-Delègue. 2005. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 48: 242–250.
- De Marco, R. J. 2006. How bees tune their dancing according to their colony's nectar influx: re-examining the role of the food-receivers' 'eagerness'. *The Journal of Experimental Biology* 209: 421-432.
- Ladurner E.; J. Bosch; W. P. Kemp; S. Maini. 2005. Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. *Apidologie* 36: 449–460.
- Ramírez-Romero R.; J. Chaufaux; M.H. Pham-Delègue. 2005. Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie* 36: 601–611.
- Van Engelsdorp, D., J. Hayes, R. M. Underwood y J. Pettis. 2008. A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008. *PLoS ONE*. 3(12): e4071.



LOS PULSOS DE OXÍGENO MODIFICAN LA INFECTIVIDAD, LA RESPUESTA ANTIOXIDANTE Y LA REGULACIÓN DE LA CONIDIACIÓN EN *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1912 (Hypocreales:Cordycipitaceae)

Paul Misael Garza-López¹, Gerardo Suárez-Vergel¹, Luis Enrique Gómez-Quiroz², Octavio Loera¹. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, ¹Depto. de Biotecnología, ²Depto. de Ciencias de la Salud. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina, C. P. 09340, México, D. F., México. paulmisael@gmail.com

Resumen. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de pulsos de diferentes concentraciones de O₂ sobre parámetros de infectividad, respuesta antioxidante y regulación genética en *Beauveria bassiana*. El diseño experimental fue completamente al azar. Se observó que la modificación de la concentración de O₂ produjo una disminución en todos los parámetros de infectividad evaluados (TL₅₀, *k*, *t*₀ y *S*) sobre adultos de *Tenebrio molitor*. Asimismo, con larvas del mismo insecto modelo, únicamente se observó mortalidad con el tratamiento AN. Por otra parte, se evidenció la presencia de estrés oxidante debido al desbalance entre la actividad peroxidasa total (POX) y la producción de lípidos oxidados al final del cultivo, lo cual se relacionó con los parámetros de infectividad. Finalmente, se observó que los pulsos de O₂ afectaron negativamente la expresión del gen regulador de la conidiación *bbrgs1*. Sin embargo, ésta variable no se relacionó directamente con la conidiación de *B. bassiana*.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, O₂, estrés oxidante, *bbrgs1*

Introducción.

Los organismos aerobios producen especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan los constituyentes celulares; sin embargo, existen mecanismos de defensa tanto enzimáticos como no enzimáticos (Fridovich, 1998). Asimismo, se ha observado que la modificación atmosférica enriquecida con oxígeno produjo estrés oxidante en *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1912 (Hypocreales:Cordycipitaceae) (Garza-López *et al.*, 2012). Por otra parte, se ha mostrado la relación entre la expresión del gen *bbrgs1*, que codifica para una proteína reguladora de la señalización de las proteínas G (RGS, por sus siglas en inglés), y la conidiación en *B. bassiana* (Fang *et al.*, 2008). Sin embargo, no se han realizado estudios del efecto del estado oxidante en la expresión de dicho gen. Además, es necesario complementar el análisis de infectividad y actividad antioxidante bajo las mismas condiciones de cultivo.

Materiales y Métodos

Microorganismos. Se utilizó el aislado de *Beauveria bassiana* Bb 882.5 perteneciente a la colección de hongos de la UAM-Iztapalapa. Para su propagación se cultivaron en matraces Erlenmeyer los cuales contenían 50 mL de agar Sabouraud-Maltosa al 2% modificado (agar 15g/L, maltosa 20 g/L, peptona de caseína 2.5 g/L, extracto de levadura 0.5 g/L, avena 15 g/L) de acuerdo a lo reportado por Garza-López *et al.* (2012).



Cultivo en Medio Sólido. Se utilizaron botellas serológicas de 75 mL conteniendo 5 g de arroz pre-cocido que se esterilizaron en autoclave a 15 PSI durante 15 min. Se hizo una suspensión de conidios agregando 20 mL de Tween 80 (0.05%) a los matraces Erlenmeyer y se agitaron por 10 min. Posteriormente, se inocularon las botellas con una suspensión a una concentración 1×10^6 conidios por gramo de sustrato sólido inicial (con $gssi^{-1}$) (Garza-López *et al.*, 2012). Las concentraciones de O_2 utilizadas fueron: 21% (atmósfera normal, AN), 16% y 26%. La modificación de la concentración de O_2 se hizo a partir del tercer día con recambios cada 12 horas para mantener la composición constante.

Bioensayo. Se utilizaron larvas y adultos de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera:Tenebrionidae) como insectos hospederos y el desarrollo del bioensayo se realizó conforme a lo reportado previamente (Garza-López, 2012; Montesino-Matías *et al.*, 2011). Para la determinación de los parámetros de infectividad Tiempo Letal 50 (TL_{50} , d), Sobrevivencia (S, %), Tiempo de Retardo de Muerte (t_0 , d) y Tasa Específica de Mortalidad (k , d^{-1}) se realizó el ajuste de los datos experimentales con el modelo propuesto por Rodríguez-Gómez *et al.* (2009). Los mejores ajustes de los datos experimentales se obtuvieron mediante el algoritmo Solver (Excel, Microsoft™).

Actividad Peroxidasa Total (POX). La actividad POX se determinó mediante espectrofotometría, para lo cual se registró el incremento de la absorbancia, en un equipo Beckman™ DU-640 a 470 nm, debido a la formación de tetraguayacol (Sowjanya-Sree y Padmaja, 2008). La mezcla de reacción contenía buffer de fosfato de potasio (25 mM, pH 7.0), H_2O_2 (10 mM), guayacol (9 mM) y muestra para obtener un volumen final de 1 mL. La concentración de tetraguayacol se determinó con el coeficiente de extinción molar ($26.6 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$). Una unidad internacional de peroxidasa (UI) fue definida como la cantidad de enzima necesaria para formar un mmol de tetraguayacol por minuto bajo las condiciones de ensayo.

Expresión Diferencial del Gen *bbrgs1*. Para la determinación de esta variable se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés). Se aisló RNA total utilizando el RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen™), posteriormente se sintetizó DNA complementario (QuantiTect™ Reverse Transcription Kit, Qiagen™). Finalmente, las mezclas de reacción se prepararon con Rotor-Gene™ Probe PCR Kit (Qiagen™). El qPCR se llevó a cabo en un equipo Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science™). Asimismo, se diseñaron primers y sondas específicos para los genes *bbrgs1* y *gpd*, éste último como gen de referencia (*housekeeping*). Los datos obtenidos se normalizaron con el método 2^{-DDC_T} (Livak y Schmittgen, 2001).

Análisis Estadístico. EL diseño experimental fue completamente al azar y los experimentos fueron realizados por triplicado. Se utilizó el programa de cómputo de análisis estadístico SPSS™ 21 para Windows con el cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$).



Cuadro 1. Parámetros de infectividad de conidios de la cepa Bb 882.5 obtenidos bajo diferentes composiciones atmosféricas. Las letras distinguen los grupos obtenidos en la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Atmósfera		TL ₅₀ (d)	k (d ⁻¹)	t ₀ (d)	S (%)
Adultos	AN	2.95 ± 0.07	5.59 ± 2.09 b	2.81 ± 0.1 a	0.0 ± 0.0 a
	16	---	3.43 ± 2.92 b	5.68 ± 1.46 b	77.08 ± 7.98 c
	26	6.14 ± 1.14	0.52 ± 0.08 a	3.63 ± 0.27 a	26.25 ± 12.04 b
Larvas	AN	8.60 ± 1.84	0.42 ± 0.19	4.89 ± 0.88	32.5 ± 5.00

Resultados y Discusión

Una vez realizado el ajuste de los datos experimentales se encontró que en el bioensayo con adultos de *T. molitor*, con los conidios obtenidos con 16% O₂, no se alcanzó el valor de TL₅₀ (Cuadro 1). Asimismo, los valores de S y t₀ aumentaron al modificar las atmósferas, por su parte, los valores de k disminuyeron hasta en 91%. Es importante señalar que únicamente con la atmósfera AN se obtuvo 100% de mortalidad de los insectos infectados (S = 0%) (Cuadro 1). Respecto al bioensayo realizado con larvas, se observó que sólo con el tratamiento AN se obtuvieron los parámetros del modelo. Sin embargo, el porcentaje de sobrevivencia fue cercano al 30% (Cuadro 1). Además, el valor TL₅₀ fue casi 3 veces mayor respecto al obtenido en el bioensayo de adultos con el mismo tratamiento (Cuadro 1).

En lo que respecta a la actividad POX, se observó que al día 6 de cultivo, para los tratamientos AN y 16, se alcanzó el máximo de actividad y posteriormente disminuyó hasta el final del cultivo, siendo significativamente distintos entre ellos ($P < 0.05$), mientras que para el tratamiento con hiperoxia (26% O₂), la actividad máxima se alcanzó 24 h después (Fig. 1a).

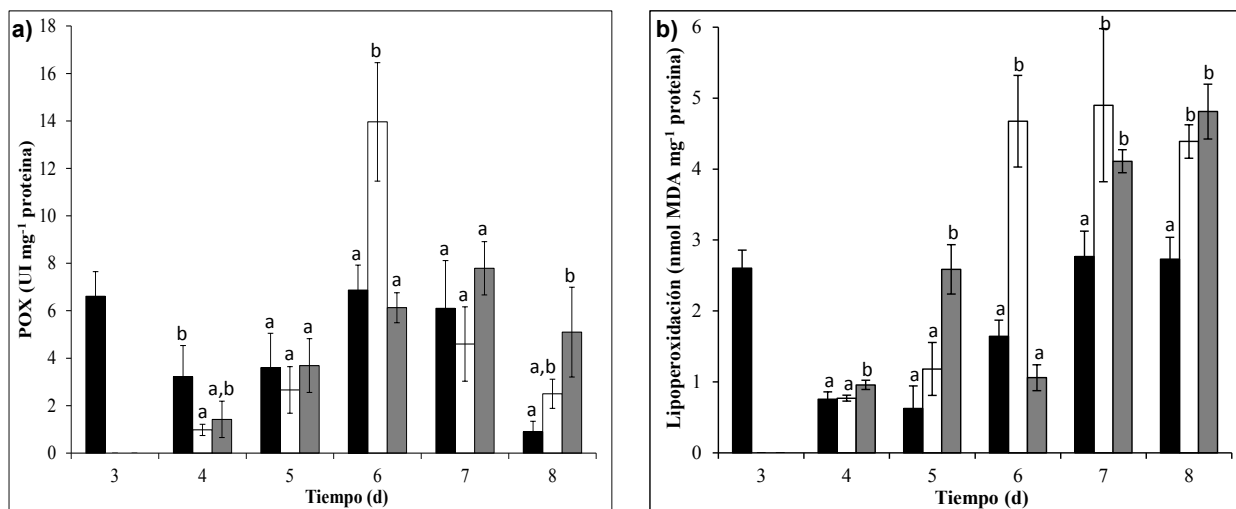


Figura 1. a) Actividad POX de la cepa Bb 882.5; **b)** Perfiles de oxidación de lípidos de la cepa Bb 882.5. (■ AN; □ 16% O₂; ▒ 26% O₂). Las letras distinguen los grupos obtenidos en la prueba de Tukey para cada día ($P < 0.05$). (POX: actividad peroxidasa total; UI: unidades internacionales; nmol MDA: nanomoles de malondialdehído)

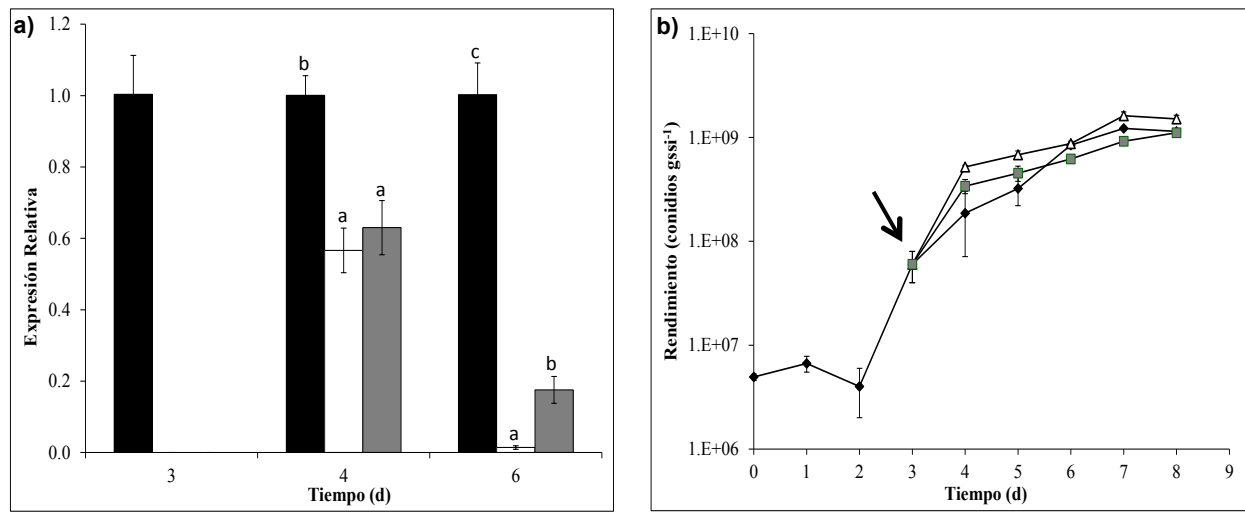


Figura 2. a) Expresión relativa normalizada del gen *bbrgs1* de la cepa Bb 882.5 (■ AN; ▨ 16% O₂; □ 26% O₂). Las letras distinguen los grupos obtenidos en la prueba de Tukey para cada día ($P < 0.05$). **b)** Cinéticas de producción de conidios de la cepa Bb 882.5 (◆ AN; △ 16% O₂; □ 26% O₂). La flecha indica el inicio de los pulsos de O₂ (con gssi⁻¹: conidios por gramo de sustrato sólido inicial)

Lo anterior coincidió con la acumulación de lípidos oxidados en la biomasa producida bajo las 3 diferentes condiciones atmosféricas (Fig. 1b) (datos previamente publicados, Garza-López *et al.*, 2012). Debido a esto, se pudo establecer que la modificación atmosférica produjo estrés oxidante en *B. bassiana*, el cual está relacionado con los modificación de los parámetros de infectividad (Cuadro 1).

Por otra parte, los pulsos de O₂ provocaron que la expresión diferencial del gen *bbrgs1* disminuyera, incluso 24 h posteriores al inicio del recambio atmosférico (Fig. 2a). Asimismo, se puede observar que dicha disminución fue progresiva durante el cultivo debido a la modificación atmosférica, siendo significativamente menores ($P < 0.05$) en todos los tiempos de muestreo. Lo anterior no se relacionó con la diferencia de producción de conidios obtenida bajo los mismos tratamientos (datos previamente publicados, Garza-López *et al.*, 2012), ya que al día 4 la conidiación fue menor con el tratamiento AN, mientras que al día 6 la producción de conidios fue similar con todos los tratamientos (Fig. 2b), lo cual sugiere que otros mecanismos reguladores podrían estar implicados al cultivar a *B. bassiana* bajo condiciones oxidantes y que podría diferir entre cepas.

Finalmente podemos concluir que los pulsos de O₂ produjeron estrés oxidante en la cepa Bb 882.5 debido al desbalance entre la actividad POX y la acumulación de lípidos oxidados, afectando su capacidad infectiva. Asimismo, la expresión de gen *bbrgs1* no se relacionó con la producción de conidios.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el proyecto Promep UAM-PTC-447 y por la UAM-Iztapalapa (DCBS).



Literatura Citada

- Fang W, Scully L R, Zhang L, Pei Y, Bidochka M J. 2008. Implication of a regulator of G protein signaling (BbRGS1) in conidiation and conidial thermotolerance of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. FEMS Microbiology Letters. 279: 146-156.
- Fridovich, I. 1998. Oxygen toxicity: a radical explanation. Journal of Experimental Biology 201: 1203–1209.
- Garza-López P M, Konigsberg M, Gómez-Quiroz L E, Loera O. 2012. Physiological and antioxidant response by *Beauveria bassiana* Bals (Vuill.) to different oxygen concentrations. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 28: 353-359.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{-DDC_T} method. Methods. 25: 402-408.
- Montesinos-Matías R, Viniegra-González G, Alatorre-Rosas R, Loera O. 2011. Relationship between virulence and enzymatic profiles in the cuticle of *Tenebrio molitor* by 2-deoxy-D-glucose-resistant mutants of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 27: 2095-2102.
- Sowjanya-Sree K, Padmaja V. 2008. Destruxin from *Metarhizium anisopliae* induces oxidative stress effecting larval mortality of the polyphagous pest *Spodoptera litura*. Journal of Applied Entomology. 132: 68-78.
- Rodríguez-Gómez D, Loera O, Saucedo-Castañeda G, Viniegra-González G. 2009. Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 25: 513–518.



EFECTO DE LA CRIOCONSERVACIÓN EN DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Roberto Montesinos-Matías, Miguel Ángel Ayala-Zermeño, Angélica Berlanga-Padilla y Hugo César Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. SENASICA-DGSV. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC. C.P. 28120. Tecomán, Colima, México. montesinosroberto@yahoo.com.mx

Resumen. Dentro de las actividades básicas de las colecciones de microorganismos, la elección del método de conservación es esencial para asegurar su sobrevivencia. La crioconservación basada en la suspensión del metabolismo por las bajas temperaturas, es utilizada tradicionalmente debido a que asegura la estabilidad genética de los organismos. Se evaluaron ocho especies de hongos entomopatógenos (HE) con el protocolo de crioconservación (-80 y -196°C) utilizado en la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB). De las características fenotípicas evaluadas, la inmersión en nitrógeno líquido sugiere que es el método más seguro para la conservación de los hongos entomopatógenos evaluados.

Palabras clave: crioconservación, viabilidad, esporulación, fenotipo.

Introducción

Los métodos de conservación pueden clasificarse en aquellos que permiten la recuperación de especímenes a mediano plazo y los de almacenamiento prolongado. Los hongos entomopatógenos (HE) de diferentes especies frecuentemente requieren métodos especiales de conservación para asegurar su viabilidad, pureza e integridad genética (López-Lastra *et al.*, 2002). En la CHE del CNRCB (SENASICA-SAGARPA) los aislados se mantienen principalmente en Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) entre 1% y 4% o medios pobres en nutrientes suplementados con cutícula de insecto (1%). En la CHE se han conservado a la fecha más de 300 aislados en la técnica de gel de sílice y más de 100 aislados en tres métodos: liofilización, agua destilada estéril y aceite mineral. En la búsqueda de certificarse como una institución con estándares de calidad en el funcionamiento, se han implementado los lineamientos enumerados por la Federación Mundial de Colecciones de Cultivo (World Federation for Culture Collection, WFCC, 2010) en la CHE, se está respaldando la colección en dos métodos de conservación, entre ellos la liofilización y la crioconservación, estos métodos minimizan el riesgo de cambio genético (WFCC, 2012). Para aquellas cepas que no toleren la crioconservación se utilizan la liofilización o métodos alternos como aceite mineral o agua destilada estéril. La crioconservación es la preservación de material biológico a bajas temperaturas, en el intervalo de -20 a -196 °C. El nitrógeno líquido es la temperatura prácticamente más baja disponible. A la temperatura de equilibrio, la difusión molecular es extremadamente lenta y la probabilidad de que ocurran reacciones químicas es prácticamente nula. El método de crioconservación permitirá garantizar la conservación de las características fenotípicas y genotípicas de los aislamientos de la colección y podrán estar disponibles cuando el material biológico sea requerido como insumo durante las



estrategias de evaluación para el control de plagas de importancia fitosanitaria implementados por el SENASICA.

La transferencia periódica en medio de cultivo es el método más utilizado para mantener aislados de microorganismos con el cual no se requiere equipo específico, el mantenimiento puede realizarse en refrigeración, factor que tiene una estrecha relación con el tiempo de viabilidad del material, lo cual además depende del desarrollo del hongo y sus requerimientos (Humber, 2012). Algunas desventajas de la transferencia periódica son: la posibilidad de la pérdida de la identificación del microorganismo después de cierto número de transferencias de nombres o designaciones de los cultivos; el riesgo de contaminación y de cambios genéticos que se incrementa a mayor número de transferencias; la posible inoculación con el microorganismo equivocado cuando se realiza la transferencia de una serie de cepas; el riesgo de pérdida del cultivo cuando se trabaja con hongos que requieren nutrientes específicos y no se realizan transferencias periódicas a medios frescos oportunamente y la deshidratación del medio de cultivo. Además, cuando se maneja un gran número de microorganismos el trabajo es continuo y se requiere un espacio considerable para el almacenamiento (Smith y Onions, 1994; Jenkins y Grzywacz, 2003). La ventaja de esta técnica es que se pueden conservar prácticamente todas las especies de hongos. En contraste, el método de crioconservación minimiza los riesgos de cambios genéticos y las desventajas que ofrece la transferencia periódica.

El objetivo de este estudio fue evaluar la crioconservación de seis especies de hongos entomopatógenos en términos de pureza, viabilidad, características fenotípicas y estabilidad genética, a diferentes tiempos de evaluación.

Materiales y Métodos

Los hongos seleccionados para evaluar el método de crioconservación se muestran en el Cuadro 1. Se utilizaron diferentes especies de hongos entomopatógenos representativos de la CHE del CNRCB, entre ellos algunos utilizados por la Dirección General de Sanidad Vegetal para el control de plagas de importancia fitosanitaria, como la langosta (CHE-CNRCB 213) y *Diaphorina citri* (CHE-CNRCB 224).

Los hongos se propagaron en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud, se incubaron a 27°C hasta alcanzar su esporulación. Previo al proceso de crioconservación se esterilizaron crioviales con 1.3 mL de glicerol al 10% (v/v) (Sigma-Aldrich). Se obtuvieron sacabocados del cultivo esporulado utilizando popotes estériles (Fig. 1), en cada vial se colocó tres bloques circulares, con la ayuda de una aguja estéril. Los bloques circulares se sumergieron completamente en el crioprotector con la misma aguja. En cada tiempo de evaluación (tres, seis y doce meses) se consideró viales por triplicados. Para la conservación a -196°C, los criotubos NUNC™ se sellaron con tubos CrioFlex™ (Fig. 2) (Simione, 2009). Los cultivos se dejaron reposar durante 12 horas a 4°C, para permitir la difusión del crioprotector al interior de las células, proceso denominado “curado” (Humber 2012). A continuación, se realizó la congelación gradual de las muestras, se inició con 4°C, seguido de -20°C por 12 horas y finalmente a -80°C.



Para la conservación en nitrógeno líquido, después de mantener las muestras durante 12 horas a -80°C, las cánulas criogénicas se sumergieron a -196°C. Como medida de seguridad durante el manejo de nitrógeno líquido se utilizaron prendas de protección: guantes, mascarilla y mandil.

Tabla 1. Origen de las especies de hongos entomopatógeno y acrónimo.

No.	Especies de hongos	Acrónimo	Hospedero	Origen
1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	CHE-CNRCB 224	<i>Aenolamia</i> sp. (Hemiptera: Cercopidae)	Veracruz, México
2	<i>Metarhizium acridum</i>	CHE-CNRCB 213	<i>Shistocerca piceifrons</i> (Orthoptera: Acrididae)	Colima, México
3	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 80	<i>Hypothenemus hampei</i> (Coleoptera: Scolytidae)	Colima, México
4	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 169	<i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Liviidae)	Colima, México
5	<i>Hirsutella thompsonii</i>	CHE-CNRCB 327	<i>Aceria guerreronis</i> (Aracnidae: Eriophyidae)	Cuba
6	<i>Hirsutella citriformes</i>	CHE-CNRCB 335	<i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera Liviidae)	Colima, México
7	<i>Isaria javanica</i>	CHE-CNRCB 293	<i>Bemisia</i> sp (Hemiptera: Aleyrodidae)	Colima, México
8	<i>Isaria javanica</i>	CHE-CNRCB 305	<i>Bemisia</i> sp (Hemiptera: Aleyrodidae)	Colima, México
9	<i>Lecanicillium lecanii</i>	CHE-CNRCB 351	Pulgón (Hemiptera: Aphididae)	Colima, México
10	<i>Nomuraea rileyi</i>	CHE-CNRCB 354	<i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Guanajuato, México

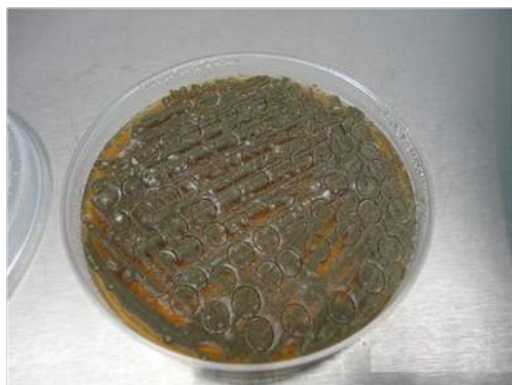
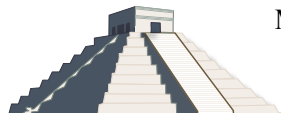


Figura 1. Obtención de bloques circulares del cultivo de *Metarhizium anisopliae*



Figura 2. Sellado de viales con CrioFlex para su almacenamiento en nitrógeno líquido.

Después de permanecer en almacenamiento los viales por siete días, se recuperó un vial mantenido a las diferentes temperaturas de evaluación para valorar las características propias del entomopatógeno, como medida de control de calidad. El proceso de recuperación fue una descongelación por etapas, primero a -80 °C, enseguida se llevó a -20°C y luego en refrigeración, el hongo se mantuvo cuatro horas para cada temperatura de descongelación. En condiciones de esterilidad, se tomó el vial y se llevó un bloque de agar esporulado a medio de cultivo fresco que se monitoreo la viabilidad y esporulación, después de la incubación a 27 °C. Aparte se realizaron observaciones al microscopio del hongo para constatar su micromorfología.



Resultados

En las Tablas 2 y 3 se muestra los resultados de pureza, viabilidad y esporulación de los hongos almacenados en crioconservación a -80 °C y nitrógeno líquido, respectivamente.

Tabla 2. Viabilidad y esporulación de los hongos almacenados a -80°C.

No.	Especies	Acrónimo	Tiempo (meses)					
			3		6		12	
			Viabilidad	Esporulación	Viabilidad	Esporulación	Viabilidad	Esporulación
1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	CHE-CNRCB 224	+	d	+	d	+	b
2	<i>Metarhizium acridum</i>	CHE-CNRCB 213	+	b	+	b	+	b
3	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 80	+	b	+	b	+	b
4	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 169	+	b	+	b	+	b
5	<i>Hirsutella thompsonii</i>	CHE-CNRCB 327	+	b	+	b	+	b
6	<i>Hirsutella citriformes</i>	CHE-CNRCB 335	+	d	-	-	*	
7	<i>Isaria fumosorosea</i>	CHE-CNRCB 293	+	b	+	b	+	b
8	<i>Isaria fumosorosea</i>	CHE-CNRCB 305	+	b	+	b	+	b
9	<i>Lecanicillium lecanii</i>	CHE-CNRCB 351	-	-	-	-	-	-
10	<i>Nomuraea rileyi</i>	CHE-CNRCB 354	+	d	-	-	*	

Evaluación del crecimiento del hongo entomopatógeno después de su recuperación del método de conservación: +: se recuperó el aislamiento puro (viabilidad); -: no se recuperó el aislamiento; d: débil crecimiento micelial y esporulación; b: buen crecimiento y esporulación; c: aislamiento contaminado; * en evaluación.

La evaluación a los seis meses de almacenamiento a -80°C, el 70% de las cepas entre ellos *B. bassiana*, *M. acridum*, *M. anisopliae*, *Isaria javanica* e *Hirsutella thompsonii* se mostraron viables, el 60% presentó buen crecimiento y esporulación. Para la cepa de *Lecanicillium lecanii*, no fue posible su recuperarla a partir de los tres meses de conservación. Para las cepas de *Hirsutella citriformes* y *Nomuraea rileyi* no fue posible su recuperación hasta los seis meses. En contraste las mismas cepas almacenados en nitrógeno líquido fueron recuperadas a los seis meses, sin embargo, la cepa de *L. lecanii* presentó un crecimiento muy lento. A los 12 meses de almacenamiento en nitrógeno líquido se recuperaron seis cepas, dos no mostraron viabilidad y dos aun se encuentran en proceso de evaluación. La condición de *L. lecanii* a los 12 meses es que tampoco mostró viabilidad. Los hongos *B. bassiana*, *M. acridum*, *M. anisopliae*, e *Isaria javanica* en crioconservación presentaron fenotipos característicos de cada especie de entomopatógeno mencionada y que además se verificó su macro y micromorfología (Fig. 3).

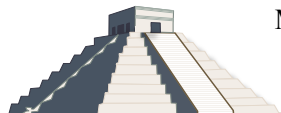


Tabla 3. Viabilidad y esporulación de los hongos almacenados en nitrógeno líquido (-196°C).

No.	Especies	Acrónimo	Tiempo (meses)								
			3			6			12		
			Viabilidad	Esp.	C	Viabilidad	Esp.	C	Viabilidad	Esp.	C
1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	CHE-CNRCB 224	+	b	c	+	b	c	+	b	c
2	<i>Metarhizium acridum</i>	CHE-CNRCB 213	+	b	c	+	b	c	+	b	c
3	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 80	+	b	c	+	b	c	+	b	c
4	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB 169	+	b	c	+	b	c	+	b	c
5	<i>Hirsutella thompsonii</i>	CHE-CNRCB 327	+	b	c	+	b	c	+	b	c
6	<i>Hirsutella citriformes</i>	CHE-CNRCB 335	+	d	c	+	b	c	*		
7	<i>Isaria fumosorosea</i>	CHE-CNRCB 293	+	b	c	+	b	c	+	b	c
8	<i>Isaria fumosorosea</i>	CHE-CNRCB 305	+	b	c	+	b	c	+	b	c
9	<i>Lecanicillium lecanii</i>	CHE-CNRCB 351	-	-	c	1/3	d	c	-	-	c
10	<i>Nomuraea rileyi</i>	CHE-CNRCB 354	+	b	c	+	b	c	*		

Evaluación del crecimiento del hongo entomopatógeno después de su recuperación del método de conservación: +: se recuperó el aislamiento puro (viabilidad); -: no se recuperó el aislamiento; d: débil crecimiento micelial y esporulación; b: buen crecimiento y esporulación; c: aislamiento contaminado; * en evaluación



Figura 3. Micromorfología de fiálides, conidios y conidios germinados de las cepas CHE-CNRCB 224 de *Metarhizium anisopliae*.

Discusión

La selección del método para la conservación de un microorganismo, depende del propósito o aplicación del mismo, la inversión con que se cuente, el equipo y las instalaciones; por lo que se deben considerar alternativas a corto plazo o a largo plazo. Sin embargo, es importante considerar que los microorganismos difieren en su tolerancia a los métodos de conservación, a no ser que una colección sea muy especializada y que un método provea condiciones óptimas para todas sus cepas, además la elección dependerá de las ventajas y desventajas que ofrezcan las diferentes técnicas (Snell, 1984).

La crioconservación es un método efectivo y estable para almacenar organismos por tiempos prolongados. En este estudio las cepas almacenadas en nitrógeno líquido mostraron cambios menores en sus características típicas de crecimiento, en comparación con el almacenamiento a -80°C. El hongo *L. lecanii* mostró una mayor susceptibilidad a la crioconservación en nitrógeno



líquido, seguido de *Hirsutella thomsonii*. Las dos temperaturas de criopreservación influyen en la viabilidad de los hongos evaluados, estas variantes afectan la preservación del material biológico. Los hongos *Hirsutella thomsonii* y *L. lecanii* que resultaron susceptibles a la criopreservación, se recuperaron al 100 % después del mismo tiempo de conservación en agua destilada estéril (datos no publicados, evaluación en paralelo con este estudio). Las especies que resultaron susceptibles al método de criopreservación, sugiere el uso de métodos alternativos como agua destilada estéril, aceite mineral, e incluso la liofilización para su preservación.

Esta evaluación indican que un programa de criopreservación demanda la estandarización del método empleado a seguir para elegir un método compatible para el hongo que se desea preservar. Por la complejidad del proceso de criopreservación pequeñas variantes durante la puesta en marcha del método pueden conducir a cambios drásticos en el material biológico. Además, la estandarización de la metodología asegura que los resultados de investigación sean consistentes y comparables. Por lo tanto, una vez que un régimen de criopreservación es establecido se debe registrar detalladamente la metodología (Simione 2009). En este estudio se tiene considerada la evaluación del método de criopreservación para hongos entomopatógenos hasta por cinco años, además se están ejecutando estudios complementarios de virulencia y estabilidad genética, para validar el método utilizado en la CHE del CNRCB.

Literatura citada

- Humber, R.A. 2012. Preservation of entomopathogenic fungal cultures, p. 317-328. *In*: Lacey L.A. (ed). Manual of techniques in insect pathology. 2^a Edition. Academic Press. 484 p. Yakim, Washington, USA.
- Jenkins, N.E. & D. Grzywacz. 2003. Towards the standardization of quality control of fungal and viral biocontrol agents. p. 247-264. *In*: van Lenteren J.C. (e.d.). Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. CAB International, Wallingford, London, UK.
- López-Lastra, C.C., A.E. Hajek & R.A. Humber. 2002. Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany* 80: 1126-1130.
- Simione, F.P. 2009. Thermo Scientific Nalgene and Nunc Cryopreservation Guide. Thermo Fisher Scientific Inc. 12p. Wyman, USA.
- Smith, D., & A.H.S. Onions. 1994. The preservation and maintenance of living fungi. 2^a. Edition. International Mycological Institute. CAB International, UK. 122 p. Wallingford, Oxon, UK.
- Snell, J. S. 1984. General Introduction to maintenance methods, pp. 11-21. *In*: Kirsop B.E & J.J.S. Snell. (Eds). Maintenance of microorganisms. A manual of laboratory methods. Academic Press Inc. Londres, UK. p 207.
- World Federation for Culture Collection (WFCC). 2010. Guidelines for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms. 3rd Edition. 19p. Brussels, Belgium.



COMPATIBILIDAD DE *Metarhizium anisopliae* CON INSECTICIDAS PIRETROIDES PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae).

Luis Alberto Cisneros-Vázquez; Américo D. Rodríguez-Ramírez; R. Patricia Penilla-Navarro y **María Guadalupe Vázquez-Martínez**. Centro Regional de Investigación en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud Pública. 4ª Norte y 19 Poniente s/n, Colonia Centro C.P. 30700. Tapachula, Chiapas, México. mguadalu@insp.mx

Resumen. El objetivo del trabajo fue evaluar la compatibilidad entre el hongo *Metarhizium anisopliae* y los piretroides sintéticos Aqua Reslin[®] Super y Anvil[®]. Se evaluaron tres concentraciones de Aqua Reslin Super y Anvil (1.5, 2 y 2.5%) midiendo el efecto sobre la germinación conidial, crecimiento vegetativo y esporulación de *M. anisopliae*. La germinación conidial del hongo no fue afectada por ninguno de los dos insecticidas. En lo que respecta al crecimiento vegetativo, Aqua Reslin Super lo redujo al 12.74%, mientras que Anvil causó reducciones hasta del 42.73%. Aqua Reslin Super no afectó la esporulación de *M. anisopliae*, en cambio Anvil redujo el 99.85% de la esporulación. Las tres concentraciones del insecticida Aqua Reslin Super fueron compatibles con *M. anisopliae* (Índice biológico de 91.85 a 98.99), mientras que el insecticida Anvil fue tóxico y moderadamente tóxico para *M. anisopliae*.

Palabras clave. Compatibilidad, *Metarhizium anisopliae*, Piretroides, control, *Aedes aegypti*.

Introducción

El dengue en México es un problema importante de salud pública. En el año 2013 se reportaron 62,330 casos, en donde el estado de Chiapas ocupó el sexto lugar con 3,250 casos de fiebre por dengue y fiebre hemorrágica por dengue (SINAVE, 2013). La principal estrategia para reducir la transmisión de esta arbovirosis es el control del mosquito vector (OMS & TDR, 2009) mediante la eliminación de criaderos y el uso de insecticidas químicos. Desafortunadamente, el desarrollo de resistencia a insecticidas por parte de los mosquitos (García *et al.*, 2009), afecta las labores de control, por lo que se propone el uso de estrategias biológicas como los hongos entomopatógenos que además de eliminar a los mosquitos, minimiza los problemas de contaminación ambiental y desarrollo de resistencia (Tamez *et al.*, 2001). Además, se está valorando el uso de combinaciones de insecticidas y hongos entomopatógenos (Santos *et al.*, 2007) para reducir las cantidades que se usan de insecticidas, disminuir la probabilidad de aparición de resistencia y mejorar las estrategias de control, incluso de los mosquitos resistentes. Pero para que estas combinaciones sean exitosas primero debe validarse la compatibilidad de insecticidas y hongos entomopatógenos (Schumacher & Poehling, 2011). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la compatibilidad entre el hongo *Metarhizium anisopliae* y los piretroides sintéticos Aqua Reslin[®] Super y Anvil[®].

Materiales y Métodos

Tratamientos. Se utilizó la cepa de *M. anisopliae* donada por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), unidad Irapuato. El hongo se creció en placas petri con



medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud (SDA) y se incubaron a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, 70% HR con fotoperiodo de 12:12h L:O, hasta la esporulación de cada hongo. Se utilizaron dos insecticidas piretroides: Aqua Reslin[®] Super y Anvil[®], en tres diferentes concentraciones: 1.5, 2 y 2.5%. Se prepararon placas petri conteniendo el medio SDA y se adicionaron las concentraciones a evaluar de cada insecticida, además se prepararon placas testigos, sin insecticida.

Efecto de insecticidas sobre crecimiento vegetativo. A partir de placas esporuladas sin insecticidas, se tomaron discos de 1 cm de diámetro y se colocaron en el centro de placas Petri con los diferentes tratamientos. Las placas se incubaron en una cámara ambiental a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, 70% HR con fotoperiodo de 12:12h L:O. Se realizaron tres mediciones a los 14 días con un Vernier y se obtuvo el promedio.

Efecto de insecticidas sobre la esporulación del hongo. En cada placa de los respectivos tratamientos se sembró una alícuota de 5 μl de una suspensión de conidias de *M. anisopliae* y se incubaron a las condiciones ya descritas. A los 10 días de incubación, de cada placa se colectó un disco de 1 cm de diámetro y se colocó en 5ml de solución tween 80 al 0.01% y se mezcló en un sonicador de baño de agua a 28°C por 15 minutos. La esporulación de hongos (concentración de conidias) se determinó mediante conteos en una cámara de Neubauer.

Efecto de insecticidas sobre la germinación conidial. Se sembraron 5 alícuotas de 5 μl de la suspensión de conidias stock (1×10^6 conidias/ml) de *M. anisopliae* en 5 puntos de las placas Petri con medio SDA adicionado con los respectivos tratamientos. Se incubó a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la germinación conidial, la cual se determinó por el método de Cañedo y Ames (2004).

Compatibilidad. La compatibilidad de cada insecticida con *M. anisopliae* se calculó según el valor del índice biológico (IB) propuesto por Rossi-Zalaf y colaboradores (2008), en base a las variables: porcentaje de inhibición del crecimiento, el efecto sobre la esporulación y crecimiento vegetativo, a través de la fórmula: $\text{IB} = [47 \times (\text{CV}) + 43 (\text{ESP}) + 10 (\text{GER})] / 100$
Dónde: IB: Valor corregido para la clasificación del producto; CV: Porcentaje de crecimiento vegetativo con relación al testigo; ESP: Porcentaje de esporulación respecto al testigo; GER: Germinación.

El resultado de índice biológico (IB) se categorizó y de acuerdo al rango donde se ubique el IB se determinó si el insecticida y el hongo son compatibles.

IB=>66 compatible

IB= 42-66 moderadamente tóxico

IB= <42 tóxico

Resultados

Crecimiento vegetativo de *M. anisopliae*. Las tres concentraciones del insecticida ARS redujeron del 2.86 al 12.74% del crecimiento vegetativo de *M. anisopliae*, mientras que los



tratamientos con el insecticida Anvil causaron disminuciones del 33.44 al 42.73% (Cuadro 1). La concentración de 1.5% de ARS fue la menos agresiva para el crecimiento vegetativo de *M. anisopliae* ($P>0.05$). Por otro lado, se encontró que las tres concentraciones de Anvil fueron perjudiciales para el crecimiento vegetativo de *M. anisopliae* ($F=23.361$, $gl=3$, $P=.000$).

Esporulación de *M. anisopliae*. La esporulación de *M. anisopliae* fue incrementada del 0.4 al 1.35% en las concentraciones 2 y 1.5 %, respectivamente del insecticida ARS, mientras que la concentración 2.5% la redujo 0.85%. Ninguna de las concentraciones de ARS dañó la esporulación de *M. anisopliae* ($H=1.23$, $P=.7450$) (Cuadro 1), contrastando con el insecticida Anvil donde se encontró que las concentraciones y el control presentaban diferencias significativas ($F=910.371$, $gl=3$ $P=.000$).

Germinación conidial de *M. anisopliae*. Las concentraciones 1.5 y 2% de ARS y Anvil no fueron nocivas para la germinación conidial de *M. anisopliae* ($P>0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de los insecticidas ARS y Anvil sobre el crecimiento vegetativo, esporulación y germinación de *M. anisopliae*.

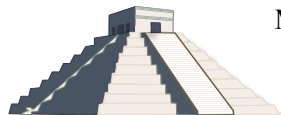
Tratamientos	Crecimiento vegetativo		Esporulación		Germinación conidial		
	Cm	% reducción	$X \times 10^*$	% reducción	%	% reducción	
ARS	Control	5.20.13±0.05a	0	$3.18 \times 10^7 \pm 1444745.23a$	0	100 ^a	0
	1.5	5.025±0.13ab	-2.86	$3.22 \times 10^7 \pm 1093160.56a$	+1.35	100 ^a	0
	2	4.516±0.36b	-12.74	$3.19 \times 10^7 \pm 549241.902a$	+0.4	100 ^a	0
	2.5	4.47±0.43b	-10.53	$3.15 \times 10^7 \pm 170171.482a$	-0.85	95.25±1.5b	-4.75
Anvil	Control	4.99±0.18 ^a	0	$6.31 \times 10^7 \pm 8508574.11a$	0	100 ^a	0
	1.5	3.316±0.36bc	-33.44	$2.37 \times 10^5 \pm 32274.86b$	-99.62	100 ^a	0
	2	3.116±1.13b	-37.71	$1.31 \times 10^5 \pm 23935.68c$	-99.79	100 ^a	0
	2.5	2.866±0.63c	-42.73	$1.12 \times 10^5 \pm 32274.86c$	-99.82	91.75±2.75b	-8.25

Letras iguales indican no diferencias significativas.

Compatibilidad. De acuerdo a la clasificación de compatibilidad calculada mediante el índice biológico propuesto por Rossi-Zalaf y colaboradores (2008), las tres concentraciones del insecticida ARS fueron compatibles con *M. anisopliae*, mientras que las concentraciones del insecticida Anvil fueron de moderadamente tóxicas a tóxicas para *M. anisopliae* (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Clasificación de la compatibilidad de *M. anisopliae* con ARS y Anvil a las concentraciones utilizadas.

Clasificación de índice biológico		
Insecticida	Índice biológico	Clasificación



ARS 1.50%	98.9972612	C
ARS 2%	93.9961656	C
ARS 2.50%	91.8512999	C
Anvil 1.50%	41.4466191	MT
Anvil 2%	39.3671031	T
Anvil 2.50%	36.1723242	T

C=compatible, MT=moderadamente tóxico, T= tóxico

Discusión

En estudios previos de compatibilidad, el crecimiento vegetativo de *M. anisopliae* expuesto a formulaciones comerciales (Duduthrin) conteniendo el piretroide L-cyhalothrin a la concentración recomendada por el fabricante fue de 1.65cm a los 19 días de incubación (Niassy *et al.*, 2012). En el presente trabajo se demostró que ARS a la concentración recomendada por el fabricante (2%) tuvo un crecimiento vegetativo de 4.52 cm a los 14 días de incubación, la cual parece ser menos nociva para el hongo, comparado con Duduthrin.

Por otro lado Soares & Monteiro (2011) reportaron una esporulación de 76.20×10^6 conidias/ml para *M. anisopliae* en el control, mientras que cuando se expuso este hongo a la concentración recomendada (0.001%) del insecticida piretroide Barrage® (Cipermetrina), la esporulación fue de 1.29×10^6 conidias/ml, con una reducción del 80.80%. Esos resultados contrastan fuertemente con los resultados obtenidos en el presente estudio, en donde ARS al 2.5% causó reducciones del 0.85% en la esporulación de *M. anisopliae*, además ARS con las concentraciones 1.5 y 2% causó un incremento en la esporulación de 1.35 y 0.4%, respectivamente.

En el presente estudio el insecticida Anvil no fue compatible con *M. anisopliae*, este comportamiento concuerda con diferentes estudios (Khan *et al.*, 2012; Niassy *et al.*, 2012) donde otros piretroides fueron tóxicos para *M. anisopliae*. Por otro lado, Batista y colaboradores (2001) reportaron que el piretroide Decis® 25 CE (Deltametrina) fue compatible y moderadamente tóxico para el hongo *M. anisopliae*. En este trabajo el insecticida ARS fue compatible con *M. anisopliae*, lo que puede permitir un uso combinado de estos productos y mejorar las estrategias de control de los mosquitos *Ae. aegypti*, vectores del dengue.

Agradecimientos. Al Dr. Jorge E. Ibarra Rendón, CINVESTAV-Irapuato por la donación del hongo *Metarhizium anisopliae*, y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología quien financió este estudio a través del proyecto SALUD-CONACYT No. 182722.

Literatura citada

- Batista, A.F., Almeida, J.E.M., Lamas, C. 2001. Effect of Thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. *Neotrop Entomol* 30(3):437-447.
- Cañedo, V., Ames, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa. Primera Edición Lima, Perú.1-60.



- García, G.P., Flores, A.E., Fernández-Salas, I., Saavedra-Rodríguez, K., Reyes-Solis, G. 2009. Recent rapid rise of a Permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in México. PLOS Negl Trop Dis 3(10): e531. doi:10.1371/journal.pntd.0000531
- Khan, S., Bagwan, N.B., Fatima, S., Asefiqbal, M. 2012. *In vitro* compatibility of two entomopathogenic fungi with selected insecticides, fungicides and plant growth regulators. Libyan Agric Res Cen J Intl 3 (1): 36-41.
- Niassy, S., Maniania, N.K., Subramanian, S., Gitonga, M.L., Maranga, R., Obonyo, A.B., Ekesi, S. 2012. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* isolate ICIPE 69 with agrochemicals used in French bean production. Int J Pest Manag 58(2):131-137. doi: 10.1080/09670874.2012.669078
- OMS, TDR. 2009. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871_eng.pdf
- Rossi-Zalaf, L.S., Alves, SB., Lopes, R.B., Silveira Neto, S., Tanzini, M.R. 2008. Interação de microorganismo com outros agentes de controle de pragas e doenças = Microorganism interaction with other pest and disease control agents. p. 279–302. In: Alves SB, Lopes RB (eds). Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios = Microbial control of pest in Latin America: advances and challenges. Fealq, Piracicaba, SP, Brazil.
- Santos, A.V., Olivera, B.L., Samuels, R.I. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: perspectives for the control of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). Mycopathologia 163:233-240.
- Schumacher, V., Poehling, H.M. 2012. In vitro effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. Fungal Biol 116(1):121-132 doi: 10.1016/j.funbio.2011.10.007
- SINAVE/DGE/SALUD/Sistema Especial de Vigilancia Epidemiológica de Dengue. 2013. Panorama epidemiológico de fiebre por dengue y fiebre hemorrágica por dengue Semana epidemiológica 52. Disponible en: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/panodengue/PANORAMAS_2013/Pano_dengue_sem52_sem2013.pdf
- Soares, F.B., Monteiro, A.C. 2011. Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com carrapaticidas químicos. Arq Inst Biol 78(3):385-391.
- Tamez, G.P., Galán, W., Nedrano, R., García, G.C., Rodríguez, P., Gomez, R.A. 2001. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México, Ciencia UANL 4 (2):143-152.



EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE CUATRO AISLADOS MEXICANOS DE *Hirsutella citriformis*.

Orquídea Pérez-González¹, Raúl Rodríguez-Guerra², Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹, María Guadalupe Maldonado-Blanco¹. ¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n Ciudad Universitaria, C. P. 66450, A. P. 414 y 2790. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. ²Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental General Terán, Carr. Montemorelos-China, Km 31, C. P. 67400, Gral. Terán, Nuevo León, México. Email: orquideapg@hotmail.com.

Resumen. La producción de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas se viene desarrollando en muchos países con varias técnicas de formulación, por lo cual el propósito de este trabajo fue evaluar tres diferentes sustratos para determinar su efecto en la esporulación de cuatro aislados de *Hirsutella citriformis* Speare provenientes de diferentes regiones del país. Las cepa de *H. citriformis* INIFAP-Hir-1, INIFAP-Hir-2, IB-Hir-1 e IB-Hir-2 fueron cultivadas en granos de avena, trigo y sorgo para evaluar la producción de conidios. Se inocularon recipientes plásticos de medio litro conteniendo 50 g de sustrato con 8 ml de una suspensión de 1×10^6 conidios/ml, se incubaron a 25 ± 2 °C durante 35 días. La mayor producción de conidios se obtuvo en avena y trigo a los 21 días para las cuatro cepas evaluadas y en sorgo a los 28 días. El análisis de varianza bifactorial indicó que existieron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la producción de conidios en los sustratos sólidos y el tiempo de producción de los mismos. Lo anterior confirma que la producción de conidios de *H. citriformis* en sustratos sólidos es factible, con una reducción del tiempo total del proceso.

Palabras clave: Conidios, *Hirsutella citriformis*, producción, sustratos.

Introducción

En el desarrollo del control biológico, los hongos entomopatógenos (HE) han sido de los más importantes, fueron los primeros agentes microbianos usados para el control de plagas de insectos (Glare, 2004; Zimmerman, 2007), los cuales han mostrado un gran potencial para el manejo de plagas en la agricultura. Durante los últimos años ha resurgido el interés en los hongos entomopatógenos ocasionado por el incremento de resistencia a los insecticidas químicos que están presentando los insectos y a la preocupación que actualmente se tiene por el daño que pueden ocasionar los químicos en el medio ambiente.

En los últimos años se han logrado avances en su reproducción masiva, pero aún es necesario continuar trabajando en esa dirección (Devi, *et al.*, 2001; Ramegowda, *et al.*, 2007). La mayoría de las especies de hongos son producidas en medios sólidos, donde el hongo crece como micelio superficial y produce conidios en hifas aéreas. Algunas consideraciones a tener en cuenta para la selección de sustratos como medios de propagación in vitro de hongos entomopatógenos, es su bajo costo, fácil adquisición, producción de altas cantidades de conidias y capacidad, por parte de estos, para mantener la virulencia de la cepa (Roberts y Yendol, 1971). Uno de los sustratos más ampliamente utilizados en la producción de hongos entomopatógenos es el grano de arroz, sin



embargo el uso de estos puede variar según la región y la finalidad de la multiplicación; otros sustratos que también son utilizados para este propósito incluyen trigo, sorgo, cebada, maíz, avena, frijol y soya (Cañedo y Ames, 2004; Figueroa *et al.*, 2007).

Tomando en cuenta que actualmente una de las plagas presentes en las regiones cítricas es el HLB, enfermedad que causa grandes estragos donde se encuentra presente y es transmitida por el insecto vector *Diaphorina citri* Kuwayama y que además, *Hirsutella citriformis* es un hongo entomopatógeno el cual tiene potencial para ser utilizado en el control de *D. citri*; el objetivo de este trabajo fue evaluar tres diferentes sustratos sólidos para determinar su efecto en la producción de esporas de cuatro aislados de *H. citriformis* provenientes de diferentes regiones del país.

Materiales y métodos

Cepas. Se usaron las cepas de *H. citriformis*: INIFAP-Hir-1, INIFAP-Hir-2, IB-Hir-1 e IB-Hir-2; aisladas de insectos micosados de *Diaphorina citri* de los estados de Tabasco, Yucatán, Veracruz y Colima respectivamente.

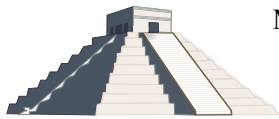
Preparación del inóculo. Cultivos de *Hirsutella citriformis* en agar papa dextrosa (PDA) adicionadas con extracto de levadura (EL) al 0.5%, incubadas por 6 a 7 semanas y con conidiación abundante, se les añadió 10 mL de agua destilada estéril y con un asa bacteriológica se realizó un raspado superficial para poder desprender los conidios. Para determinar su concentración se realizó conteo en la cámara de Neubauer y se ajustó la concentración a 1×10^6 conidios/mL.

Preparación de los sustratos. En la producción de conidios del hongo entomopatógeno se utilizaron tres sustratos sólidos: avena, trigo y sorgo. Cada uno de estos medios se lavaron por separado tres veces con agua común para eliminar la mayor cantidad posible de partículas ajenas a estos. Se agregaron 50 g de los sustratos a cada uno de los botes plásticos de 500 mL, se les añadió agua y se remojaron durante 24 horas, se dejaron escurrir y se esterilizaron mediante dos eventos de una hora cada uno con 24 h de diferencia. Se inocularon agregando 8 mL de la suspensión de conidios ajustada. Se incubaron a 25 ± 2 °C durante 35 días, tomándose muestras de 1 g a los 14, 21, 28 y 35 días para contabilizar los conidios en la cámara de Neubauer. El experimento se realizó en dos ocasiones con 3 repeticiones por aislado.

Análisis estadístico. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza bifactorial (sustrato x tiempo), para cada cepa, con una prueba de Tukey para comparación múltiple de medias a una significancia de 0.05.

Resultados

Los resultados de producción de conidios para la cepa INIFAP-Hir-1 se muestran en la Figura 1. La mayor producción de conidios se obtuvo a los 21 días en los sustratos de avena y trigo, (3.88



y 3.13×10^7 conidios/g, respectivamente) y a los 28 días en sorgo (6.67×10^6 conidios/g), con diferencia significativa entre los diferentes sustratos ($F= 357.58$; $gl= 2, 24$; $P= <0.001$) y tiempo ($F= 259.0$; $gl= 3, 24$; $P= <0.001$).

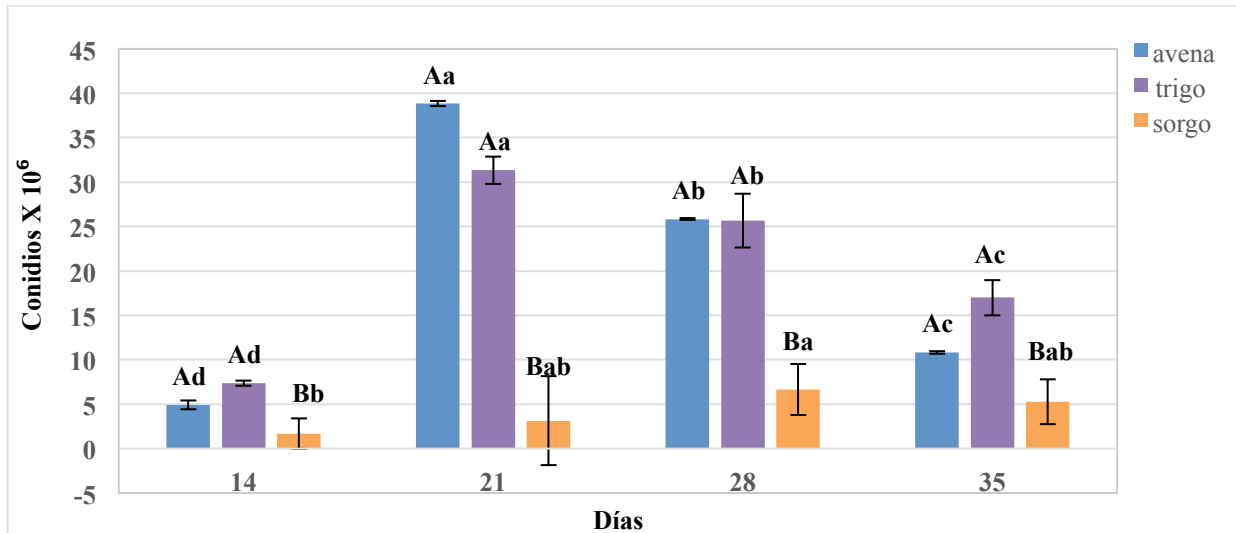


Figura 1. Producción de conidios de *Hirsutella citriformis* (INIFAP-Hir-1) en 3 diferentes sustratos. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey 0.5 %). Letras mayúsculas es comparación entre sustratos y letras minúsculas entre tiempo de incubación.

Para la cepa INIFAP-Hir-2 al igual que para la cepa INIFAP-Hir-1, la mayor producción de conidios se observó en avena a los 21 días (5.85×10^7 conidios/g) seguido por la producción en trigo (5.09×10^7 conidios/g), mientras que en sorgo se presentó a los 28 días (7.5×10^6 conidios/g) con diferencia significativa entre ellos ($F=7909.96$, $gl=2, 24$; $P= <0.001$) y también con respecto al tiempo de incubación ($F= 5653.82$; $gl= 3, 24$; $P= <0.001$) (Figura 2).

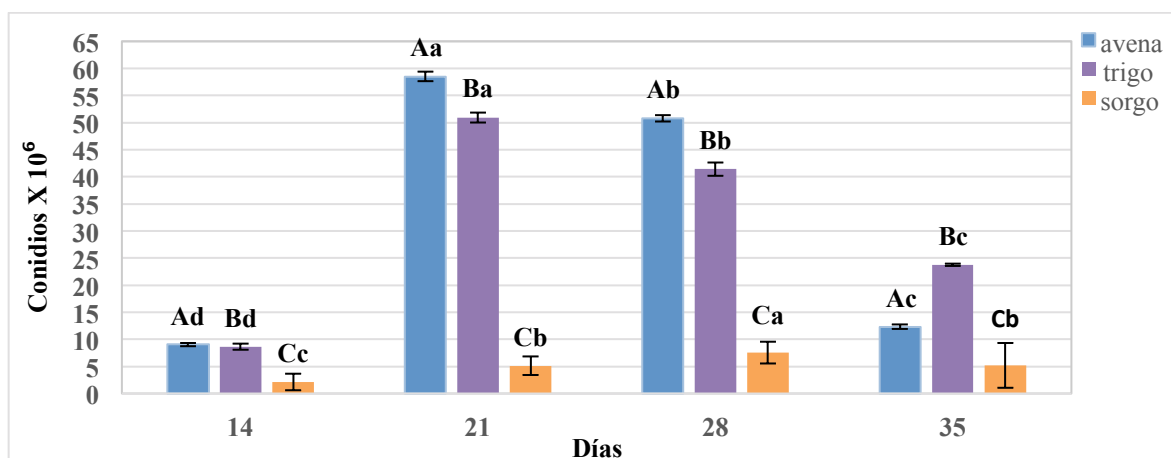


Figura 2. Producción de conidios de *Hirsutella citriformis* (INIFAP-Hir-2) en 3 diferentes sustratos. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey 0.5 %). Letras mayúsculas es comparación entre sustratos y letras minúsculas entre tiempo de incubación.



La cepa IB-Hir-1 presentó la mayor producción de conidios en trigo a los 21 días (2.94×10^7 conidios/g) sin diferencia significativa con la producción en avena (2.83×10^7 conidios/g) pero si presentó diferencia con la producción en sorgo (6.63×10^6 conidios/g), ($F= 1066.66$; $gl= 2, 24$; $P= <0.001$). También presentó diferencia con respecto al tiempo ($F= 592.47$; $gl= 3, 24$; $P= <0.001$) (Figura 3).

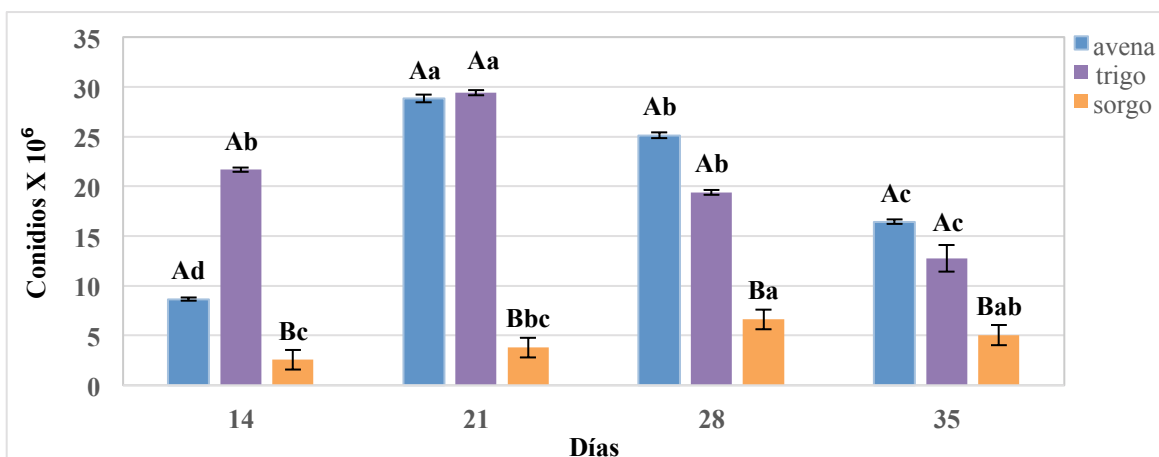


Figura 3. Producción de conidios de *Hirsutella citriformis* (IB-Hir-1) en 3 diferentes sustratos. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey 0.5 %). Letras mayúsculas es comparación entre sustratos y letras minúsculas entre tiempo de incubación.

Para la cepa IB-Hir-2, los resultados se muestran en la Figura 4, la mayor producción de conidios se obtuvo a los 21 días conjuntamente en trigo y avena (3.53 y 3.16×10^7 conidios/g respectivamente) con diferencia significativa ($F=264.81$, $gl=2,24$; $P= <0.001$) respecto de la producción en sorgo a los 28 días (8.37×10^6 conidios/g) y también respecto al tiempo ($F= 711.90$; $gl= 3, 24$; $P= <0.001$).

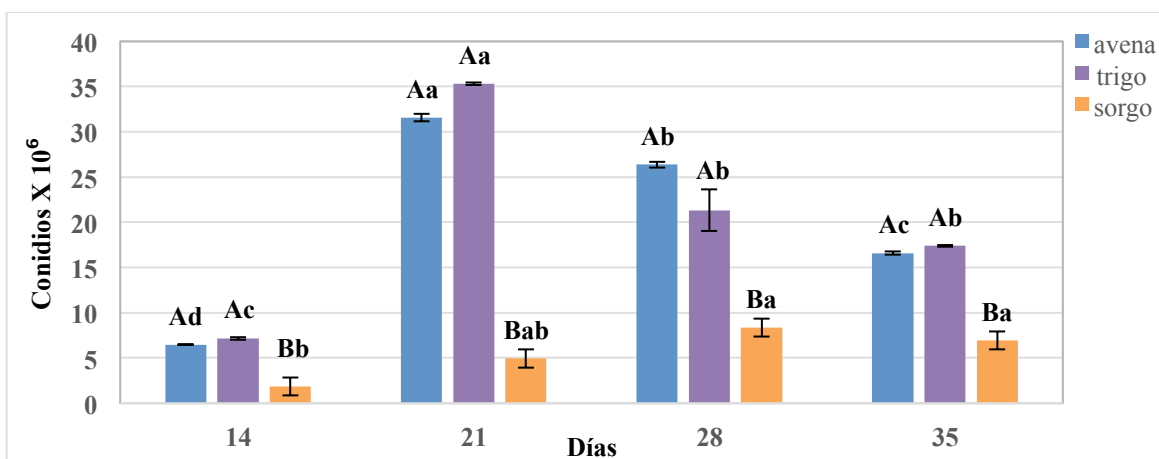


Figura 4. Producción de conidios de *Hirsutella citriformis* (IB-Hir-2) en 3 diferentes sustratos. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey 0.5 %). Letras mayúsculas es comparación entre sustratos y letras minúsculas entre tiempo de incubación.



Discusión

Son pocos los reportes que existen del cultivo de *Hirsutella citriformis* en sustratos sólidos con los cuales comparar estos valores de conidiación. Los resultados obtenidos en esta investigación, son menores que los reportados por Reyes-Martínez, *et al.*, (2010) los cuales cultivaron a *H. citriformis* en trigo por 3 semanas y obtuvieron una conidiación de 7.6×10^7 conidios/g de sustrato colonizado. Estos valores fueron mejores que los reportados por Meyer *et al.* (2007) los cuales mencionan haber obtenido abundante formación de sinemas, pero sin conteo de conidios, a las seis semanas, al cultivar al hongo en arroz.

Los resultados anteriores sugieren que es posible utilizar sustratos vegetales para la producción de conidios de *Hirsutella*; sin embargo, se necesitan cantidades elevadas de sustrato para lograr una abundante producción de conidios para su aplicación en campo, por lo cual es necesario continuar probando sustratos, condiciones de cultivo y técnicas de inoculación, para mejorar la producción de conidios.

Agradecimientos

Gracias a CONACYT México por el financiamiento SAGARPA-CONACYT 2009-108591 y al Programa PAICYT-UANL 2012-2014.

Literatura citada

- Cañedo, V. and Ames, T. 2004. Manual de Laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. © Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, pp 62 ISBN 92-9060-238-4.
- Devi PS, Chowdary A. Prasad YG. 2001. Cost-effective multiplication of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson. Mycopathologia. 151(1):35-39.
- Figueroa, L.M., Varela, A. and Corredor, D. 2007. Evaluación de sustratos naturales para la propagación masiva del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromicotina: Hyphomycetes). Revista de Investigación, enero-junio, año/vol.7, numero 001. Universidad La Salle Bogotá, Colombia. pp 127-131.
- Glare, T.R. 2004. Biotechnological potential of entomopathogenic fungal. Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications. Mycology Series Vol. 21. Arora, D.K. (ED) Edit Marcel Dekker Inc. New York, USA, 700 p.
- Meyer, J. M., Hoy M. A. and Boucias D. G. 2007. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutella* species infecting the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in Florida. Journal of Invertebrate Pathology 95:101-109.
- Ramegowda GK, Lingappa S, Patil RK. 2007. Production of aerial conidia of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson on liquid media. J Entomol Res. 31(3):312-318.
- Reyes-Martínez, A.Y. Casique-Valdés, R. Lopez-Arroyo, J.I. y Sánchez-Peña, S.R. 2010. Aspectos biológicos y ecológicos del hongo *Hirsutella* patógeno de *Diaphorina citri* en Tamaulipas. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psillido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. p 292.
- Roberts, D.W. and Yendol, W.G. 1971. Use of fungi for microbial control of insects. In: Burges HD and Hussey NW (Eds.). Microbial control of insects and mites. Academic Press, London: 125-149
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Sci. Techn. 17; 553-596.



EFECTO DE *Hirsutella citriformis* SPEARE SOBRE *Hippodamia convergens* Y *Chrysoperla rufilabris* DEPREDADORES DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA

Orquídea Pérez-González¹, Raúl Rodríguez-Guerra², José Isabel López-Arroyo², María Guadalupe Maldonado-Blanco¹. ¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n Ciudad Universitaria, C. P. 66450, A. P. 414 y 2790. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. ²Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental General Terán, Carr. Montemorelos-China, Km 31, C. P. 67400, Gral. Terán, Nuevo León, México. Email: orquideapg@hotmail.com.

Resumen. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de aislados patogénicos de *Hirsutella citriformis* en *Diaphorina citri*, contra adultos de *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) (Coleoptera: Coccinellidae) y larvas de primer estadio de *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae) los cuales se han reportado como depredadores del psílido en México. Los depredadores fueron inoculados por contacto con cultivos esporulados de las cepas INIFAP-1, INIFAP-2, IB-1 e IB-2 mientras que los testigos estuvieron en contacto con medio estéril. Los tratamientos y testigo se incubaron bajo condiciones de laboratorio a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y 16:8 horas L: O, HR de 76 %. Las cepas de *H. citriformis* causaron una mortalidad promedio de 8.72 – 11.17 % contra *H. convergens*, mientras que contra *C. rufilabris* presentaron mortalidad promedio de 18.75 – 25 % sin diferencia significativa entre los tratamientos y testigos. Las cepas de *Hirsutella citriformis* evaluadas probaron ser inocuas para los depredadores en los bioensayos de laboratorio lo que las convierte en potenciales agentes para su uso en el control de *D. citri*.

Palabras clave: bioensayos, control integrado de plagas, depredadores, *Hirsutella citriformis*.

Introducción

D. citri (Hemiptera: Liviidae) se encuentra presente en México desde el 2002; y por ser el vector del Huanglongbing (HLB) es un riesgo latente para la citricultura en el país. El HLB es responsable de grandes pérdidas económicas en México, por esto se está tratando de controlar al vector con diferentes medidas que van desde el control químico hasta el control biológico para lo cual se hace uso de insectos parasitoides, depredadores y de hongos entomopatógenos. Entre los enemigos naturales de *D. citri* se encuentran insectos depredadores como catarinitas (Coleoptera: Coccinellidae), chrisopas (Neuróptera: Chrysopidae), arañas (Aranae) y mosquitas sírfides (Diptera: Syrphidae); parasitoides como *Diaphorencyrtis aligarhensis* (Shafee, Alam & Agaral) (Hymenoptera: Encyrtidae) y *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) y los hongos entomopatógenos, *Isaria fumosorosea* Wize (= *Paecilomyces fumosoroseus*); *Hirsutella citriformis* Speare; *Lecanicillium lecanii* Zimm (= *Verticillium lecanii*) y *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Aubert y Quilici, 1984; Hoy y Nguyen, 2001; Casique-Valdés *et al.*, 2010, 2011; Reyes-Rosas *et al.*, 2010; Subandiyah *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2007).

Tanto insectos depredadores como parasitoides y hongos entomopatógenos pueden utilizarse para mantener los niveles bajos de *D. citri* en campo; por lo cual es necesario evaluar el efecto posible que los hongos entomopatógenos puedan tener sobre los insectos benéficos; ya que para alcanzar



mejores resultados es necesario integrar los hongos entomopatógenos con los depredadores y parasitoides y así poder tener un control biológico integrado de la plaga. Tomando en cuenta lo anterior nos planteamos como objetivo el evaluar la patogenicidad de cuatro aislados de *Hirsutella citrififormis* sobre dos depredadores de *D. citri* que son frecuentemente observados en campo, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleóptera: Coccinellidae) y *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuróptera: Chrysopidae).

Materiales y métodos

Cepas. Para los bioensayos se usaron las cepas INIFAP-1, INIFAP-2, IB-1 e IB-2; aisladas de insectos micosados de *Diaphorina citri* de los estados de Tabasco, Yucatán, Veracruz y Colima.

Insectos depredadores. Adultos de *Hippodamia convergens* fueron colectados en campo y transportados al laboratorio de Entomología del INIFAP donde permanecieron en cuarentena para eliminar aquellos que presentaran signos de parasitismo. Larvas del primer estadio de *Chrysoperla rufilabris*, fueron proporcionadas por el Laboratorio de Entomología del INIFAP. Los bioensayos fueron realizados en las instalaciones del INIFAP de General Terán, Nuevo León, México.

Arena experimental. Como arena experimental se utilizaron recipientes plásticos con capacidad de 150 mL, (altura de 6 cm, diámetro superior e inferior de 8 y 5 cm respectivamente), a los cuales se les colocó en el fondo una capa de esponja de 2 cm de grosor saturada con agua destilada estéril para propiciar un ambiente con alta humedad.

Cultivo para inoculación con conidios. Todas las cepas se sembraron colocando un pequeño trozo de inóculo al centro de las cajas petri de 90 mm de diámetro conteniendo medio de cultivo PDAY al 0.5 %, se incubaron durante 6 a 7 semanas a 25 ± 1 °C hasta alcanzar conidiación en todas las cepas.

Bioensayo con insectos depredadores. Adultos de *Hippodamia convergens* fueron inoculados por contacto. Se realizaron cinco repeticiones con diez adultos para cada cepa y el testigo. Los insectos fueron alimentados con huevos de *Sitotroga cerealella* y miel. Larvas del primer instar de *Chrysoperla rufilabris* se inocularon por contacto, 16 para cada tratamiento y testigo. La alimentación se realizó usando huevos de *Sitotroga cerealella*. Cada tercer día los insectos depredadores de ambos bioensayos fueron cambiados a nuevos recipientes con alimento, realizando el conteo de insectos muertos. Los tratamientos se colocaron en una cámara bioclimática a 26 °C, 76 ± 4 HR y 16:8 horas de luz: oscuridad.

Análisis Estadístico. El bioensayo se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar. El porcentaje de mortalidad fue determinado durante 24 y 30 días para *H. convergens* y *C. rufilabris* respectivamente, en base al número de insectos muertos en los tratamientos y comparado con la mortalidad de los testigos. Los cadáveres fueron colocados en cámara húmeda para propiciar la esporulación del hongo.



Resultados

Bioensayo con el depredador *Hippodamia convergens*

El último registro de mortalidad se realizó 24 días después de iniciado el experimento. La cepa IB-1 presentó la mayor tasa promedio de mortalidad de 12.67 % aunque sin diferencia significativa de las cepas INIFAP-2 (11.17), IB-2 (10.67) e INIFAP-1 (8.72), ($F=0.1623$; $gl = 4, 20$; $p = 0.953$), mientras que el testigo presentó 10.67, sin diferencia significativa con respecto a las cepas evaluadas (Figura 1). No se obtuvo micosis por *Hirsutella* en ningún insecto muerto.

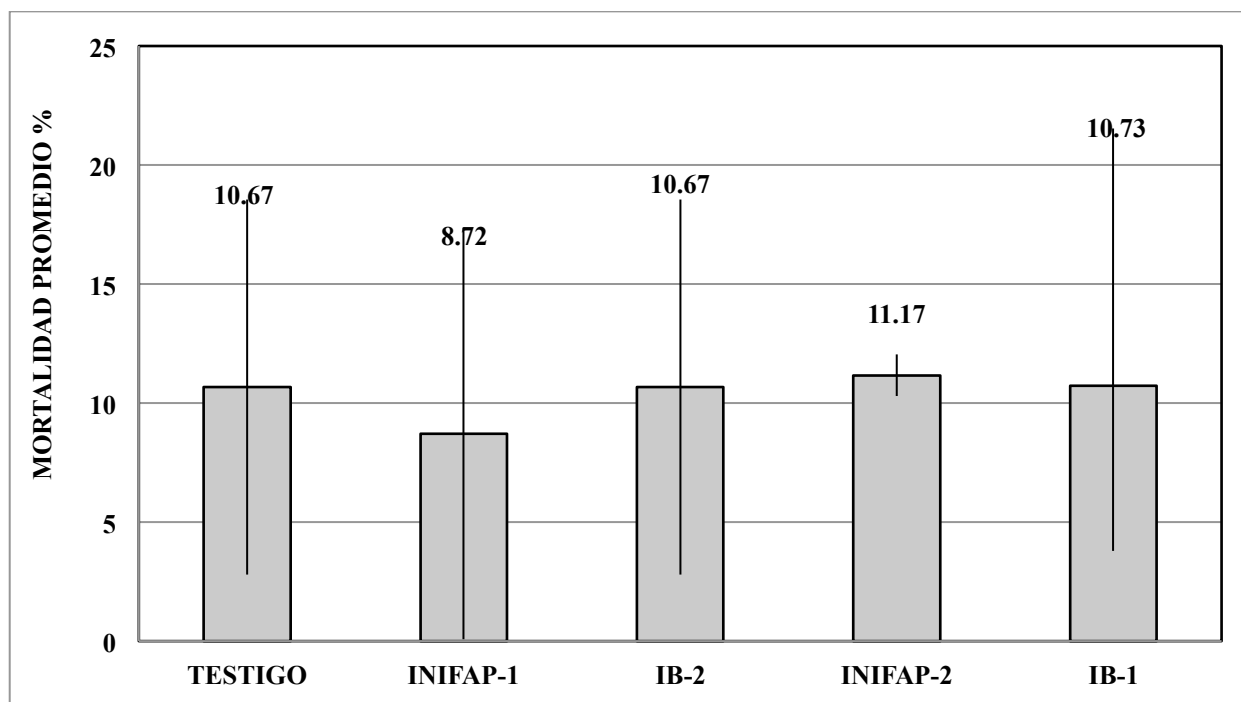


Figura 1. Porcentaje de mortalidad promedio causada por conidios de 4 cepas de *Hirsutella citriformis* en adultos de *Hippodamia convergens* en bioensayo de laboratorio, Tukey 0.05.

Bioensayo con *Chrysoperla rufilabris*

Después de 30 días de exposición a las cepas fúngicas se observó mortalidad entre 18.75 y 25%, donde la cepa INIFAP-Hir-2 presentó el mayor porcentaje de mortalidad (25%) sin diferencias significativas con las demás cepas ni con el testigo no tratado ($F=0.577$; $gl=4, 15$; $P=0.684$) (Figura 2). Los datos de mortalidad incluyeron larvas y pupas muertas en el bioensayo. No se observó micosamiento en ningún insecto muerto.

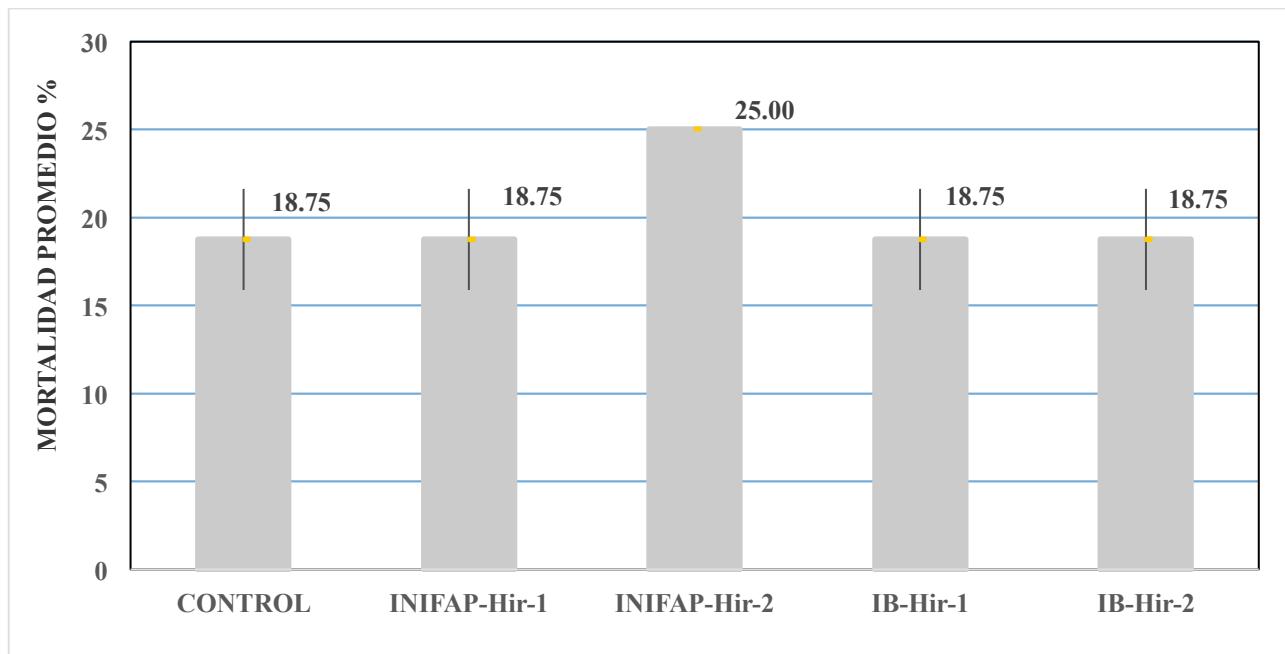


Figura 2. Porcentaje de mortalidad causada por conidios de 4 cepas de *Hirsutella citriformis* en adultos de *Chrysoperla rufilabris* en bioensayo de laboratorio. Tukey

Discusión

En los resultados obtenidos al aplicar conidios por contacto contra *H. convergens* y *C. rufilabris*, la mortalidad causada tanto por las cepas evaluadas como en los controles, no hubo diferencia significativa entre ellos, además, ninguno de los insectos muertos presentó micosamiento ocasionado por las cepas evaluadas en este bioensayo, lo que nos indica que el deceso de los insectos fue ocasionado por cuestiones naturales; se debe tomar en cuenta que para los bioensayos realizados con *C. rufilabris* se utilizaron larvas del primer instar, con lo cual podríamos esperar que fueran micosadas por el hongo entomopatógeno ya que el exoesqueleto de las larvas es más blando que el de los adultos.

Nuestros resultados difieren de los obtenidos por Gandarilla-Pacheco *et al.* (2012), en donde reportan mortalidad variable de 6.25-25% para *H. convergens* y 49.8–50% para *Eremochrysa punctinervis* y *Ceraeochrysa valida* presentada por cepas de *I. fumosorosea* y *B. bassiana*. En otro reporte, Torres-Acosta *et al.* (2012) reportan variabilidad en las mortalidades del depredador las cuales oscilaron entre 7.5-69.4% contra *H. convergens* usando cepas de *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*, lo que reafirma que estos hongos entomopatógenos no son específicos hacia el insecto blanco y su uso puede afectar a los insectos benéficos, a diferencia de las cepas de *H. citriformis* evaluadas, las cuales probaron en los bioensayos de laboratorio ser inocuas para los depredadores contra las cuales fueron evaluadas, lo cual presenta una ventaja al momento de ser utilizadas en bioensayos de campo en el cual pueden interactuar con los insectos benéficos para controlar al insecto vector del Huanglongbing.

Agradecimientos. Gracias a CONACYT México por el financiamiento SAGARPA-CONACYT 2009-108591.



Literatura citada

- Aubert, B., Quilici, S. 1984. Biological control of the African and Asian citrus psyllids (Homoptera: Psylloidea), through eulophid and parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea) in Reunion Island. In Garnsey SM, Timmer LW, Dodds JA (eds.), Proceedings of the 9th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, University of California, Riverside 100-108.
- Casique-Valdes, R., Sánchez-Peña, S.R. 2010. Entomopathogenic fungi attacking the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in the Gulf citrus zone of Mexico, pp. 2-3 In Proc. 58th Ann. Mtg. Southwestern Branch, Entomol. Soc. Am., Cancun, Mexico p. 60.
- Casique-Valdes, R., Reyes-Martinez, A.Y., Sanchez-Peña, S.R., Bidochka, M.J., Lopez-Arroyo J.I. 2011. Pathogenicity of *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Cordycipitaceae) to *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Florida Entomologist 94:703-705.
- Gandarilla-Pacheco, F.L., López-Arroyo, J.I., Sandoval-Coronado, C.F., Quintero-Zapata, I. 2012. Efecto de *Isaria fumosorosea* Wize (Brown) y *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Hypocreales: Cordycipitaceae) sobre depredadores de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). En Memorias del 3^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Veracruz, Veracruz, México p 364.
- Hoy, MA, Nguyen, R. 2001. Classical biological control of Asian citrus psylla. Citrus Industry 81:48-50.
- Meyer, J.M., Hoy, M.A., Boucias, D.G. 2007. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutella* species infecting the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in Florida. Journal of Invertebrate Pathology 95:101-109.
- Reyes-Rosas, M.A., López-Arroyo J.I., Loera-Gallardo J. 2010. Presencia del hongo entomopatógeno del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*, en Río Bravo, Tamaulipas, México. En: Memorias del XXXII Congreso Nacional de Control Biológico, Villahermosa, Tabasco, Méx p. 420-425.
- Subandiyah, S., Nikon, N., Sato, H., Wagiman, F., Tsuyumu, S., Fakatsu, T. 2000. Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera, Psilloidea) in Indonesia. Mycoscience 41:509-513.
- Torres-Acosta, R.I., López-Arroyo, J.I., Torres-Castillo, J.A., de la Fuente-Saucedo, H., Acosta-Díaz, E., Martínez-Medina J. 2012. Efecto de hongos entomopatógenos en *Hippodamia convergens*, depredador del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*. En Memorias del 3^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Veracruz, Veracruz, México pp 365-370.



**EFFECTIVIDAD DE *Trichoderma* sp. EN EL CONTROL DE
Fusarium sp. Y *Pestalotia* sp. PATÓGENOS DE ARÁNDANO
Vaccinium corymbosum L. var. *Biloxi***

Georgina Cruz-Correa¹, **Teresita del Carmen Ávila-Val¹**, Chávez-Bárceñas Ana Tztzqui¹, Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Margarita Vargas-Sandoval¹, Maribel Gutiérrez-Contreras¹, Salvador Aguirre-Paleo¹, Eulalio Venegas-González¹. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Paseo Gral. Lázaro Cárdenas y Berlín S/N, Colonia Viveros, Uruapan, Michoacán. C.P. 60170.
tereavilaval@yahoo.com.mx

Resumen: El arándano *Vaccinium corymbosum* es una frutilla arbustiva originaria de Norteamérica de gran importancia por su alta demanda a nivel mundial, debido a sus propiedades nutraceuticas y antioxidantes. El objetivo del estudio fue evaluar la efectividad biológica de *Trichoderma* sp. en el control de crecimiento de *Fusarium* sp. patógeno de raíz y *Pestalotia* sp. de flores y follaje en plantas de arándano. En Taretan, Michoacán en plantaciones comerciales se colectaron muestras, se realizaron aislamientos, pruebas de patogenicidad y de control biológico con *Trichoderma* sp. La especie de *Trichoderma* utilizada en el control se aisló junto con el fitopatógeno de raíz. Para esta prueba de efectividad se establecieron cinco repeticiones con cada fitopatógeno, la unidad experimental fue una caja Petri, se registró el diámetro de las colonias cada 12 horas hasta que se encontraron y con los valores obtenidos se realizó un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS, 2002. Las pruebas de patogenicidad fueron positivas, con *Fusarium* sp. se presentaron los síntomas de la enfermedad a los diez días flacidez en las hojas y la muerte de la planta a los 248 días; con *Pestalotia* sp. fue a los dos días con manchas plateadas en las hojas y momificación de flores a los 150 días. En el ejercicio de efectividad de *Trichoderma* sp. sobre los fitopatógenos, el crecimiento de *Trichoderma* tuvo una relación positiva, lineal y de alta significancia sobre ambos patógenos, presentó un crecimiento 2.35 veces mayor que *Fusarium* sp. y 3.5 veces más que el de *Pestalotia* sp.

Palabras clave. *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp., *Trichoderma* sp., Arándano, Control



EFFECTO DEL INSECTICIDA SPINOSAD SOBRE EL CRECIMIENTO Y MORFOLOGÍA DE *Beauveria bassiana*

Azamar-Jiménez, Ivonne Janeth; Núñez-Gaona, Oscar²; Ramírez-Coutiño, Laura Patricia. Ingeniería en biotecnología, Instituto de Biotecnología, Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec, Av. circuito central #200, Col Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., CP 68301. janeth9219@hotmail.com

Resumen: Se evaluó el efecto del insecticida Spinosad sobre el crecimiento y morfología de *Beauveria bassiana*. Se probaron diferentes concentraciones con la finalidad de observar y cuantificar el crecimiento radial. *B. bassiana* presentó crecimiento hasta una concentración de insecticida de 1.5%. Los frotis realizados para comprobar cambios en la morfología no mostraron cambios en la forma de los conidios. También se realizaron pruebas de viabilidad, las cuales no mostraron crecimiento en ninguna concentración de insecticida; solo en el testigo. Estos resultados muestran relevancia en el efecto del insecticida sobre la germinación de los conidios de *Bb* 885.2.

El crecimiento del hongo en presencia del insecticida abre la posibilidad de aplicar en conjunto ambos en el control de plagas. Por otro lado, el cambio en la morfología del hongo a partir de una concentración del 1% muestra como la cepa reacciona frente al daño que le puede causar el insecticida. Con este trajo se pretende evaluar el efecto de un insecticida sintético comercial (Spinosad) sobre el crecimiento, morfología y germinación de conidios de *B. bassiana* 885.2

Palabras clave: *B. bassiana*, crecimiento, morfología, insecticida.

Introducción

Los hongos juegan un papel muy importante en el control de plagas debido a su forma de acción, su fácil aplicación y la capacidad de generar epizootias en condiciones de campo (Ignoffo, 1981; Alves, 1986). *Beauveria bassiana* es un Ascomycota entomopatógeno que infecta una gran variedad de insectos. Sus huéspedes son predominantemente miembros de los órdenes de lepidópteros (polillas y mariposas) y Coleoptera (escarabajos) (Steinhaus, E. 1949).

El hongo infecta a su hospedero a través del tegumento. Los tubos germinativos de los conidios en penetran la cutícula. Después de cruzar el tegumento, crece como blastosporas dentro del hemocele. Los estudios histopatológicos indican que las toxinas liberadas por el hongo matan al huésped. Cuando el hospedero muere, el micelio crece a través de todos los tejidos hacia fuera del cadáver y desarrolla conidióforos bajo condiciones ambientales propicias (Ferron, P. 1981).

El estudio de la compatibilidad entre agentes biológicos y químicos es una de las principales áreas de investigación dentro de los programas de manejo integrado de plagas, MIP, (García e Ignoffo, 1979; Morjan *et al.*, 2002; Sosa-Gómez *et al.*, 2003). La principal causa de incompatibilidad entre ellos es que el producto químico afecta el desarrollo del patógeno, inhibiendo la germinación de los conidios de forma temporal o permanente. En los casos que son necesarios aplicar conjuntamente



agroquímicos y formulados biológicos, el producto químico no debe ejercer efectos adversos sobre el desarrollo del agente biológico, ya que si esto ocurriera, el formulado no cumpliría con su función, acarreando pérdidas económicas.

Varios estudios han examinado la estabilidad ambiental de *B. bassiana* (temperatura, humedad, sustrato) y los productos químicos que afectan su desarrollo (Roberts, *et al*, 1977). La sensibilidad de *B. bassiana* a varios insecticidas, fungicidas, nematicidas, herbicidas y se ha documentado (Anderson, *et al*, 1983). La mayoría de los plaguicidas, en particular los fungicidas, inhiben la germinación o el crecimiento de los hongos.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un insecticida sintético comercial (Spinosad) sobre el crecimiento, morfología y germinación de conidios de *B. bassiana* 885.2

Materiales y métodos

Microorganismo. Se empleó la cepa *B. bassiana* 885.2, donada por el Dr. Octavio Loera UAM Iztapalapa, la cepa se cultivó en Sabouraud dextrosa líquido al 4%, incubándose a 30 °C y 180 rpm durante 8 días.

Esta fermentación se empleó como inóculo..

Crecimiento radial. Se prepararon cajas petri con medio sabouraud dextrosa agar (SDA) al 4%, el medio se esterilizó por calor húmedo a 121°C y 1 atm durante 20 min. Una vez solidificado el medio y bajo condiciones asépticas, a partir del inóculo se sembró la cepa por picadura y triplicado. El crecimiento radial se evaluó con diferentes concentraciones de Spinosad (0.01, 0.1, 1 y 1.5%) empleando un testigo.

Las cajas se incubaron a 25 °C durante 16 días, cada 24 horas se midió el crecimiento radial.

Morfología. Se evaluó colocando una gota de agua destilada estéril sobre un portaobjetos, posteriormente se tomó una azada de cada colonia. Los frotis se observaron con un microscopio con objetivo 40. Registrando la forma de los conidios.

Viabilidad. se evaluó de la siguiente manera. Cada colonia se suspendió en 50 ml de agua destilada estéril, se determinó la concentración de conidios, utilizando una cámara de Neubauer, y posteriormente se realizaron diluciones hasta obtener una concentración final de 100 conidio/ml. Después la dilución se sembró en SDA al 4%. El medio se incubó a 25 °C cuantificando cada 24 horas el número de colonias presentes.

Resultados y discusiones

Los resultados muestran que el crecimiento de *Beauveria bassiana* con una concentración de insecticida igual a 0.01 % es semejante al testigo. Al incrementar la concentración hasta 0.1 % de insecticida el crecimiento disminuye ligeramente. Con concentraciones de insecticida iguales a 1.5% la disminución en el crecimiento es más acentuada. La concentración de 1% muestra



momentos de crecimiento lineal, el primero durante el sexto y séptimo día y el segundo desde el octavo hasta el onceavo; a partir del día once se observa un crecimiento exponencial nuevamente. La concentración de 1.5 % presenta un crecimiento lento e irregular. Inicialmente muestro un crecimiento lineal, del quinto al séptimo día presentó un crecimiento similar a la concentración de 1%, para el día 9 retomo el crecimiento exponencial, a partir de aquí, el crecimiento se detuvo el día 13, del día 13 al 14 nuevamente creció el hongo; a partir del día 14 y hasta el 16 el crecimiento volvió prácticamente a ser lineal, estacionario (figura 1).

Los frotis, no mostraron ningún cambio en la morfología de los conidios; su aspecto en cada concentración de insecticida fue similar a la morfología del testigo. Las pruebas de viabilidad no mostraron crecimiento con ninguna concentración de insecticida; solo se observó crecimiento en el testigo. Lo anterior se observó en los medios SDA, PDA, y Zapeck, lo que pondría de relevancia el efecto del insecticida sobre la germinación de los conidios de *Bb* 885.2.

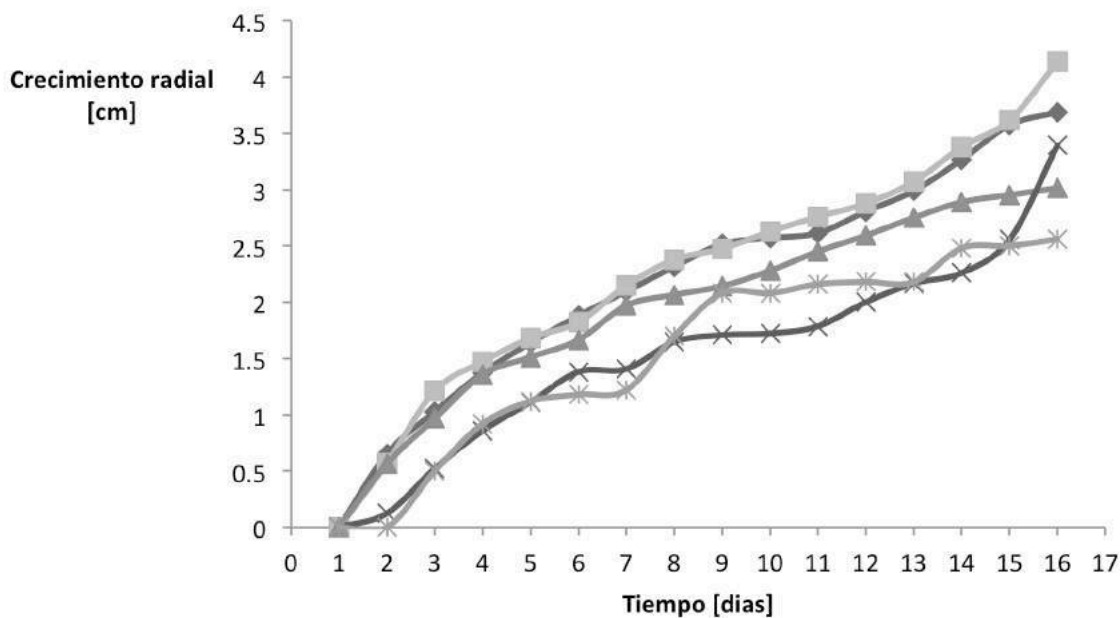
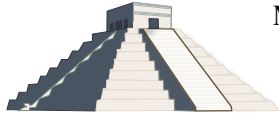


Figura 1. Crecimiento radial. *B. bassiana* 885.2 en función del tiempo con diferentes concentraciones de Spinosad. —◆— Blanco —■— 0.01% —▲— 0.10% —×— 1% —*— 1.50%

Los resultados mostraron que *Beauveria bassiana* 885.2 puede crecer con concentraciones de Spinosad de hasta 1.5 % sin alterar la morfología de los conidios; pero si la morfología del micelio, con concentraciones de 1.5 % el micelio presentó un crecimiento escaso y vertical; con la formación de una costra café en la base del medio; con la concentración de 0.1 % también se observaron cambios en la morfología macroscópica, el micelio al inicio creció en forma de remolino y posteriormente se extendió de manera normal. Este es el primer trabajo donde se evalúa el efecto de spinosad sobre el crecimiento y fisiología de *Beauveria bassiana*.



Agradecimientos. Al Dr. Octavio Loera (UAMI) por la donación de la cepa. Al productor Enrique Baños por las facilidades prestadas.

Bibliografía

- Alves, S. 1986. Fungos Entomopatogenicos. In: Alves, S. (ed.). Controle microbiano de insectos. Editorial Manole. Sao Paulo. Pp. 73-126.
- Anderson, T. E., and D. W. Roberts. 1983. Compatibility of *Beauveria bassiana* isolates with insecticide formulations used in Colorado potato beetle (Coleoptera: *Chrysomelidae*), Control Journal of Economical Entomology 76:1437-1441.
- Ferron, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*, ed. H.D. Burges. London: Academic Press, pp 465-482.
- Gracia, C. y C. Ignoffo. 1979. Sensitivity of *Nomuraea rileyi* to antibiotics, sulfonamides and fungicidal substances. Journal of Invertebrate Pathology 33: 124-125.
- Ignoffo, C. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: Burges H. (Ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London. pp 513-538.
- Morjan, W., L. Pedigo y L. Lewis. 2002. Fungicidal Effects of glyphosate and glyphosate formulation on four species of entomopathogenic fungi. Environmental Entomology. 31(6): 1206-1212
- Roberts, D. W., and A. S. Campbell. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America. 10:19-76.
- Sosa-Gómez, D., K. Delpin, F. Moscardi y M. Nozaki. 2003. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Neotropical Entomology. 32(2): 287-191.
- Steinhaus, Edward A. 1949. Principles of insect pathology. McGraw-Hill Book Co., New York.

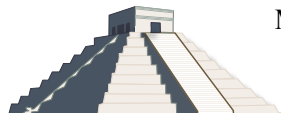


POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis* sp. Tumaco (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) EN CULTIVO MONOXÉNICO

Carlos A. Moreno-Salguero¹, Norberto Chavarría-Hernández², Alex E. Bustillo-Pardey³, Jades Jiménez-Velásquez⁴, Germán A. Vargas-Orozco⁵, Tatiana Daza-Merchán⁵, Liliana Serna-Cock¹. ¹Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Carrera 32 No 12 - 00 Chapinero. Palmira, Colombia. ²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Av. Universidad km 1, Rancho Universitario, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. ³Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma). Sede Américas, Calle 20 A No. 43 A - 50, Pisos 2 y 4. Bogotá D.C., Colombia. ⁴Productos Biológicos Perkins Ltda. Cr 29 No 35-51. Palmira, Colombia. ⁵Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia (Cenicaña) vía Cali-Florida, km 26. camorenosal@unal.edu.co

Resumen. El presente estudio tuvo como objetivo determinar parámetros reproductivos del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. (Tumaco), en cultivos monoxénicos. El nematodo se aisló de plantaciones comerciales de palma de aceite en el occidente del departamento de Nariño, Colombia. Los experimentos se establecieron en el laboratorio de entomología (26 ± 4 °C, HR: $65 \pm 10\%$) de Cenicaña ($3^{\circ} 21' N$; $76^{\circ} 18' O$), para esto se evaluaron dos medios de cultivo (en cajas Petri de 60 mm \times 15 mm): **ANH:** hígado de pollo (10% p/v), aceite de maíz (2,0% v/v), agar nutritivo (2,3% p/v); **ANY:** Yema de huevo deshidratada (1,25 % p/v), extracto de levadura (2,3% p/v), NaCl (0,5 % p/v), aceite de maíz (2% v/v), agar nutritivo (2,3% p/v). En todos los casos se inoculó el simbionte bacteriano 48 h antes de inocular los JI (100 JI por caja Petri). Se determinó como variables de respuesta el rendimiento de Juveniles Infecciosos (JI) y el ciclo de vida. El medio ANH permitió expresar el mayor potencial reproductivo, el ciclo de vida se desarrolló en dos ciclos cortos cada uno de siete días, con factor de multiplicación 1:100, se realizaron cinco cultivos sucesivos en el tiempo, en cada uno se inoculó con JI producidos en el cultivo anterior al mismo. Se observó un progresivo decrecimiento en la tasa de multiplicación, pero la patogenicidad de JI sobre larvas de *Galleria mellonella* L. se mantuvo constante. Los medios sólidos se modificaron a medios líquidos y se evaluó cada uno en tres recipientes: matraz de 250 ml, frascos cilíndricos de 7 cm \times 4.5 cm y 10.4 cm \times 5.8, agitación de 130 y 180 rpm. El medio compuesto de yema de huevo, en los recipiente de 7 cm \times 4.5 cm y 180 rpm, permitió obtener un rendimiento de 17800 JI/ml en 25 días.

Palabras clave. *Heterorhabditis* sp., cultivo monoxénico, ciclo de vida.



CARACTERÍSTICAS INSECTICIDAS DE CUATRO AISLAMIENTOS DEL NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE *Spodoptera exigua*

Juan Carlos Luna-Espino¹, Víctor Rogelio Castrejón-Gómez^{1*}, Rodolfo Figueroa-Brito^{1*}, Samuel Pineda-Guillermo², José Isaac Figueroa de la Rosa³, Norma Zamora-Avilés² y Ana Mabel Martínez-Castillo². ¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Ceprobi No. 8, Col. San Isidro, C.P. 62731, Yauatepec, Morelos. *Becarios COFAA. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 58880 Tarímbaro, Michoacán.

RESUMEN. El gusano soldado, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga importante en distintos cultivos de zonas templadas y subtropicales del mundo. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad biológica y producción de cuerpos de inclusión (CI) de cuatro aislamientos del nucleopoliedrovirus múltiple de *S. exigua* (SeMNPV) procedentes de dos zonas agrícolas de México (Culiacán, Sinaloa y San Luis Potosí). En todos los bioensayos se emplearon larvas de tercer estadio de *S. exigua* criadas bajo condiciones de laboratorio y, como patrón de referencia, se utilizó un aislamiento procedente del producto comercial Spod-X[®]. Las larvas de *S. exigua* fueron susceptibles a los aislamientos probados, provocando efectos significativos en la disminución de su peso promedio (rango 3.43 a 4.6 mg) con respecto al testigo (8.17 mg). A las 216 horas posteriores al tratamiento, la mortalidad larvaria fue significativamente mayor con los aislamientos SLP8, SIN8 y SIN6 (100, 97 y 94 %, respectivamente). La producción de CI/mg de larva no difirió significativamente entre ninguno de los aislamientos evaluados.

Palabras clave: *Spodoptera exigua*, cuerpos de inclusión, SeMNPV, baculovirus, nucleopoliedrovirus.

Introducción

El gusano soldado, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) ataca a más de 35 cultivos alrededor del mundo (Trumble *et al.* 1990). Para el caso de México, éste insecto se presenta de manera cíclica afectando cultivos básicos (SAGARPA 2002). El principal método de control es a base de insecticidas químicos de amplio espectro; sin embargo, estos compuestos no son selectivos e incrementan la contaminación ambiental. Esta situación ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas ecológicamente aceptables para el control de insectos. Tal es el caso del uso de enemigos naturales (entomófagos y entomopatógenos) (Támez *et al.* 2001). Entre otros métodos alternativos para el manejo de *S. exigua* que han recibido mayor atención se encuentran los insecticidas biológicos basados en microorganismos entomopatógenos como los baculovirus. Específicamente, el nucleopoliedrovirus múltiple de *S. exigua* (SeMNPV, Baculoviridae) ha recibido considerable atención debido a sus buenos niveles de eficacia (Caballero *et al.*, 2009; Elvira *et al.* 2013). En este trabajo se evaluó el efecto de cuatro aislamientos del SeMNPV obtenidos de campo sobre el peso larval, mortalidad y productividad de CI de *S. exigua* y su comparación con un aislamiento de uso comercial (Spod-X[®]).

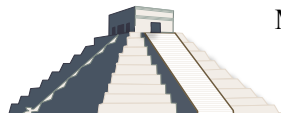


Materiales y métodos

La cría de *S. exigua* se estableció en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN. Las larvas fueron alimentadas con una dieta semi-sintética basada en harina de soya y germen de trigo y, a los adultos, se les suministró una solución de miel al 15%. La cría de *S. exigua* y los bioensayos se mantuvieron a temperatura ambiente. Los aislamientos del SeMNPV se obtuvieron de larvas de *S. exigua* procedentes de Villa de Arista, San Luis Potosí (SLP6 y SLP8) y el Ejido Bachigualato, Culiacán, Sinaloa (SIN6 y SIN8), las cuales se colectaron en cultivos hortícolas durante los años 2006 y 2008. Además, se utilizó como patrón de referencia el producto comercial Spod-X[®], el cual contiene un aislamiento procedente de Florida, Estados Unidos.

Para evaluar el efecto de los aislamientos del SeMNPV sobre el peso, mortalidad y productividad en todos los casos se emplearon larvas de *S. exigua* de tercer estadio y previo a la exposición de los aislamientos, todas las larvas se pesaron en una balanza analítica. Para la inoculación de las larvas se utilizó una concentración de 5×10^6 CI/ml mediante el método de ingestión de la gota, con algunas modificaciones (Hughes y Wood 1981).

El efecto de los virus sobre el peso y la mortalidad se evaluaron en un mismo experimento, en el cual se emplearon 12 larvas por cada aislamiento de virus y se realizaron tres repeticiones. Como testigo se utilizaron 36 larvas tratadas sólo con agua más un colorante que permitió observar la ingestión de la muestra. En este caso, las larvas que ingirieron la concentración viral en gotas dispersas en cajas Petri, se transfirieron a celdas individuales de 24 pozos (vol. 3.6 ml) para cultivos de tejidos provistas de dieta semi-sintética. A partir de las 24 horas de iniciado el bioensayo, las larvas se examinaron y se pesaron diariamente durante seis días. Para evaluar el efecto de los virus sobre la productividad por larva, el inóculo se colocó individualmente en vasos de plástico de 35 ml de capacidad. Las larvas que ingirieron la concentración viral, se transfirieron a vasos de plástico con tapa de la misma capacidad, provistos de dieta semisintética libre de virus. Se utilizaron 25 individuos por virus y se realizaron tres repeticiones. Como testigo se utilizaron 45 larvas tratadas sólo con agua más el colorante. La mortalidad larvaria se registró durante nueve días en periodos de 24 h post-inoculación. Previo a la muerte por evidentes síntomas por virus, las larvas se pesaron individualmente y se colocaron en microtubos de 1.5 ml y se conservaron a -20 °C. El 30 % de larvas de cada virus tomadas al azar, se maceraron de forma individual con 500 µl de agua destilada estéril y se filtraron con una malla fina. Cada muestra se centrifugó a 6 000 rpm por 6 min a temperatura ambiente, el precipitado se resuspendió en 300 µl de duodecil sulfato de sodio (SDS) al 0.1 % y se centrifugó bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. Finalmente, la suspensión resultante se ajustó a un volumen de 300 µl con dH₂O estéril. El número de CI de cada larva se cuantificó por triplicado en una cámara de Neubauer con un microscopio de contraste de fases a 40x. El peso medio larval, la mortalidad inducida por el virus y la productividad de CI/larva, se analizaron mediante ANOVA de una sola vía ($P < 0.05$) con el programa Statgraphics centurión XVI (Graphic software system; STSC Inc., Rockville, MD.).



Resultados

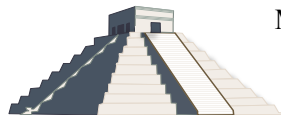
En relación al experimento de efecto de los virus sobre el peso y la mortalidad larvaria, no se observaron diferencias significativas entre los pesos de las larvas de tercer estadio previas a la exposición de los tratamientos, en donde los pesos se mantuvieron en un rango de 1.3 a 1.6 mg (Cuadro 1). Sin embargo, entre el cuarto y quinto día posterior a la inoculación, los cuatro aislamientos evaluados, incluyendo Spod-X[®], presentaron un efecto significativo en la disminución del peso de las larvas de *S. exigua* con respecto al testigo, aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre éstos. El análisis de la mortalidad larvaria se llevó a cabo a los ocho días posteriores a la inoculación, en donde se observó una mortalidad larvaria significativamente mayor con los aislamientos SLP8 (100±0.0%), SIN6 (94.4±2.8) y SIN8 (97.1±2.8) en comparación con el tratamiento Spod-X[®] (75±9.6%) (p = 0.02), el cual provocó una mortalidad larvaria significativamente igual que el virus SLP6 (89±2.8%).

Cuadro 1. Peso medio (mg ± EE) de larvas de *S. exigua* tratadas en el tercer estadio por aislamientos del SeMNPV.

Tratamientos	Días post-tratamiento (n) ²				
	1 ⁱ	2 ⁱⁱ	3 ⁱⁱⁱ	4 ^{iv}	5 ^v
TESTIGO	1.33 ± 0.06 a (36)	2.46 ± 0.16 a (36)	3.63±0.19 a (35)	4.43±0.28 c (34)	8.17±0.63 b (34)
Spod-X [®]	1.45 ± 0.08 a (36)	2.59±0.16 a (36)	3.46±0.17 a (35)	3.66±0.20ab (32)	4.58±0.47 a (29)
SLP 6	1.49 ± 0.09 a (36)	2.92±0.13 a (36)	3.43±0.16 a (36)	3.77±0.23ab (36)	4.37±0.39 a (34)
SLP 8	1.60 ± 0.08 a (36)	2.87±0.15 a (35)	3.24±0.18 a (34)	3.29±0.21ab (33)	4.18±0.81 a (19)
SIN 6	1.62 ± 0.07 a (36)	2.88±0.15 a (36)	3.19±0.14 a (36)	3.57±0.20ab (34)	3.43±0.26 a (20)
SIN 8	1.45 ± 0.07 a (36)	2.72±0.13 a (35)	3.07±0.14 a (35)	3.07±0.20 a (34)	3.84±0.42 a (25)

Valores en cada columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (ANOVA, DMS, P< 0.05).
ⁱF_{5,208}=1.49, p= 0.078 ⁱⁱF_{5,208}=1.58, p=0.17; ⁱⁱⁱF_{5,194}=1.62, p=0.15; ^{iv}F_{5,208}=4.3, p=0.001; ^vF_{5,149}=11.74, p=0.001. ²Numero de individuos analizados.

En relación a la producción de CI/larva, para los tratamientos evaluados, el aislamiento SPX y SIN8 fueron los que provocaron significativamente mayor número de CI, seguido de SLP6, SLP8 y SIN6. Sin embargo, éstos tres últimos no fueron estadísticamente distintos. Al relacionar la producción de CI/mg no se observaron diferencias significativas entre los aislamientos evaluados (Cuadro 2).



Cuadro 2. Promedio de los pesos del 30% de larvas de *S. exigua* previas a la muerte por los aislamientos del SeMNPV, producción de cuerpos de inclusión (CI) por larva y por peso de larvas (mg)

Tratamiento	Peso de larvas (mg) ⁱ (±EE)	CI por larva (±EE) (X10 ⁸) ⁱⁱ	CI por peso de larva/mg (±EE) (X10 ⁷) ⁱⁱⁱ
Testigo	65.7±3.82 a	_____	_____
SPX	30.6 ± 4.61b	12.5 ± 5.79 ab	3.38 ± 1.26a
SLP6	33.7 ± 4.28b	8.27 ± 2.97 bc	2.54 ± 0.86a
SLP8	23.35 ± 4.48c	3.81 ± 0.52dc	1.94 ± 0.35a
SIN6	16.2 ± 7.89c	3.52 ± 0.47dc	2.30 ± 0.36a
SIN8	21.5 ± 3.15c	10.5 ± 3.35ab	5.03 ± 1.61a

Valores dentro de la misma columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (ANOVA, P = 0.05). ⁱF_{5,142} = 18.29; gl = 5; P = 0.000, ⁱⁱF_{4, 99} = 3.44; gl = 4; P = 0.01. ⁱⁱⁱK = x2 = 8.92, P = 0.063.

Discusion

En el presente estudio, se realizó una exploración de las características biológicas de varios aislamientos del SeMNPV relacionada con su efecto sobre el desarrollo larvario de *S. exigua*, su actividad insecticida y producción de CI/larva. Las larvas que se trataron con los diferentes aislamientos del virus tuvieron un menor peso promedio comparado con el testigo. Sin embargo, en la mayoría de los casos no hubo diferencias entre los aislamientos. Estos resultados son consistentes con otros estudios en donde distintas especies de NPV redujeron el peso larvario de *Spodoptera litura* Fabricius (Senthil-Nathan y Kalaivani 2005; Senthil-Nathan *et al.* 2005); *Helicoverpa armigera* (Senthil-Kumar *et al.* 2008) y *Spodoptera frugiperda* J. S. Smith (Zamora *et al.* 2013). Posiblemente, la reducción del peso larvario puede ser el resultado de varios factores: 1) cambios hormonales inducidos por los hospederos infectados, 2) el desgaste energético del hospedero para combatir la enfermedad y la disminución de la ingestión de alimento (Myers *et al.*, 2000). La similitud entre los pesos de las larvas inoculadas con los distintos virus, puede reflejar una homogeneidad en su capacidad infectiva, lo cual fue consistente al no observar en la mayoría de los casos diferencias significativas en la mortalidad larvaria y en la producción de CI/mg de larva. Sin embargo, para observar de una manera más fina la actividad biológica de los distintos virus, se tiene el plan de realizar bioensayos enfocados a determinar los valores de la concentración letal cincuenta (CL₅₀). La producción de CI/mg de los distintos aislamientos obtenidos en el presente trabajo fue mayor a los valores obtenidos por Elvira *et al.* (2013), quienes contrastaron dos poblaciones de *S. exigua* con dos virus comerciales y obtuvieron una producción entre 7.7X10⁶ y 14.7X10⁶ CI/mg para larvas de *S. exigua* inoculadas en el cuarto estadio. Sin embargo, los valores obtenidos por larva fueron similares a los observados por Cabodevilla *et al.* (2011), quienes evaluaron la productividad de tres aislamientos autóctonos de España y obtuvieron valores entre 2.99X10⁸ y 1.14X10⁹ CI/larva. La variación entre la productividad de distintos aislamientos de una misma especie de baculovirus, puede deberse a diferencias entre las poblaciones huésped, o bien, a las distintas metodologías utilizadas para su



evaluación. El presente estudio muestra una exploración de la actividad de distintos virus colectados en México con perspectivas de su uso para el control de *S. exigua*. Sin embargo, estos estudios se enriquecerán con el conocimiento de sus características genéticas y una mayor indagación de sus características fenotípicas.

Agradecimientos

A los Drs. Ovidio Díaz Gómez (Universidad Autónoma de San Luis Potosí) y José Luis Corrales Madrid (Universidad Autónoma de Sinaloa) por su apoyo en la colecta de las larvas de *S. exigua* en campo y por todo su apoyo logístico. Este trabajo fue financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y por el proyecto SIP 20140921, Evaluación de nucleopoliedrovirus y extractos vegetales sobre el gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner).

Literatura citada

- Caballero, P., Murillo R., Muñoz, D. y Williams T. 2009. El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidóptera: Noctuide) como bioplaguicida: un análisis de avances recientes en España. *Rev. Colomb. Entomol.* 2: 105-115.
- Cabodevilla, O., Ibañez, I., Simón, O., Murillo, R., Caballero, P. y Williams, T. 2011. Occlusion body pathogenicity, virulence and productivity traits vary with transmission strategy in a nucleopolyhedrovirus. *Biol. Control.* 56: 184-192.
- Elvira, S., Ibargutxi, M.A., Gorria, N., Muñoz, D., Caballero, P. y Williams, T. 2013. Insecticidal characteristics of two commercial *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus strains produced on different host colonies. *J. Econ. Entomol.* 106: 50-56.
- Hughes, P.R. y Wood, H.A. 1981. A synchronous peroral technique for the bioassay of insect viruses. *J. Invertebr. Pathol.* 37: 154-159.
- Myers, J. H., Malakar R. y Cory J. S. 2000. Sublethal nucleopolyhedrosis infection effects on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environ. Entomol.* 29: 1268-1272.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2002. Norma oficial mexicana NOM-081-FITO-2001. Manejo y eliminación de focos de infestación de plagas, mediante el establecimiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos. *In: Diario oficial de la Federación (DOF).* 47-50 pp.
- Senthil-Kumar, N., Murugan, K. y Zhang, W. 2008. Additive interaction of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus and azadirachtin. *BioControl* 53: 869-880.
- Senthil-Nathan, S. y Kalaivani, K. 2005. Efficacy of nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Biol. Contr.* 34: 93-98.
- Senthil-Nathan, S., Kalaivani, K. y Chung, P.G. 2005. The effects of azadirachtin and nucleopolyhedrovirus on midgut enzymatic profile of *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest. Biochem. Physiol.* 83: 46-57.
- Támez, G.P., Wong, G.L.J., Roldán, M.H., Gutiérrez, G.C., Padilla, R.C., Flores, G.R.A. y Támez, G.R.S. 2001. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. *Ciencia UANL* 2: 143-152.
- Trumble JT, Dercks, W., Qulros, C.F. y Beier, R.C. 1990. Host plant resistance and linear furanocoumarin content of *Apium* accessions. *J. Econ. Entomol.* 82: 519-525.
- Zamora, A.N., Vargas, J.A., Pineda, S., Figueroa, J.I., Lobit, P. y Martínez, A.M. 2013. Effects of a nucleopolyhedrovirus in mixtures with azadirachtin on *Spodoptera frugiperda* (J. E. smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and viral occlusion body production. *Biocontr. Sci. Techn.* 23: 521-534.



EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS QUITINOLÍTICAS CON *Beauveria bassiana* EN FERMENTACIÓN LÍQUIDA.

Sandra Edit Jimenez-Alejandro¹, Oscar Nuñez-Gaona², Laura Patricia Ramírez-Coutiño²

¹ División de posgrado, ² Instituto de Biotecnología Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec. Circuito Central #200, Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., México C.P. 6830. Contacto: sandy_edit@hotmail.com

Resumen. Se realizaron fermentaciones en medio líquido (FML) empleando *Beauveria bassiana* y como fuente de carbono y nitrógeno tres residuos quitinosos como sustratos, exoesqueleto de camarón (*Penaeus*), cutícula de chapulines (*Sphenarium purpurascens*) y cutícula de escarabajo harinero (*Tenebrio molitor*) desproteinizados con Tetraborato de potasio. Se evaluó el efecto de la temperatura con valores de 20, 25 y 30 para encontrar la de mayor producción la cual se encontró a las 48 horas siendo de 25°C. Las fermentaciones con cutícula de chapulín presentaron la mayor actividad volumétrica (9.19 mU/mL y 4545 mU/mL) para exoquitinasas (Nhasa) y endoquitinasa respectivamente, las fermentaciones con cutícula de tenebrio la concentración de Nhasa fue similar al caso anterior (810 mU/mL), la concentración de endoquitinasa fue de 3120 mU/ML. Cuando se emplea exoesqueleto de camarón ambas concentraciones disminuyen a 8.12 mU/mL y 2670 mU/mL para Nhasa y endoquitinasa respectivamente. Estos resultados sugieren la posibilidad de un escalamiento del proceso para su aplicación en el biocontrol.

Palabras clave: fermentación líquida, sustratos quitinosos, *Beauveria bassiana*

Introducción

Los hongos entomopatógenos son aquellos que causan enfermedades en insectos siendo de gran eficacia al utilizarlos como agentes de control biológico, dentro de este grupo se encuentra *Beauveria bassiana* que puede infectar a 270 especies de insectos (Huiping *et al* 2011). Los insectos al igual que los crustáceos son ricos en quitina, segundo polímero más abundante en la naturaleza, volviendo así a la cutícula de artrópodos y crustáceos inductor en la producción de quitinasas, que se ve afectada también por parámetros operacionales como temperatura y pH (Ramírez- Coutiño, 2009). Las quitinasas hidrolizan a la cutícula y son más específicas reduciendo así el tiempo de infección. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y el sustrato sobre la producción de enzimas quitinolíticas.

Materiales y métodos.

Se empleó la cepa *Beauveria bassiana* 885.2, donado por el Dr. Octavio Loera (UAM-Iztapalapa) la cual se cultivó en medio Papa dextrosa agar (PDA) durante ocho días a 25°C, después de este tiempo los conidios se extrajeron empleando Tween 80 a 0.02% p/v la concentración del inóculo empleado en las fermentaciones fue de 1x10⁷ conidios/mL.



Como sustratos se emplearon tres fuentes: exoesqueleto de camarón (*Penaeus*) provenientes de la embalsadera en la ciudad de Alvarado Veracruz, cutícula de chapulines (*Sphenarium purpurascens*) de la comunidad de Santo Tomas Jalieza, Ocotlán, Oaxaca y cutícula de escarabajo harinero (*Tenebrio molitor*) perteneciente al insectario de la Universidad del Papaloapan. Los sustratos se desproteinizaron utilizando Tetraborato de potasio. Al final de cada tratamiento de desproteínización, se neutralizaron con agua destilada, se molieron y tamizaron para obtener un tamaño de partícula de 149 μm .

La fermentación en medio líquido (FML) empleó medio Czapeck modificado, utilizando como fuente de carbono y nitrógeno los sustratos desproteínizados (10g/L) ajustando la temperatura al inicio de la fermentación a 20°C, 25°C reportada (Montesinos, 2012) y 30°C a pH 3 y 180 rpm durante 72 horas.

En la fracción líquida de las muestras obtenidas cada 24 horas, se determinó proteína en el sobrenadante por el método de Bradford (1976), actividades quitinolíticas endoquitinasas y exoquitinasas (Tronsmo y Harman, 1993), azúcares reductores (Miller, 1959), empleando una curva patrón de N-acetilglucosamina (NAG) y biomasa por peso seco.

Resultados y discusión

La producción de las enzimas quitinolíticas (exoquitinasas y endoquitinasa) indican que al utilizar chapulín como sustrato a una temperatura reportada (25° C) y pH 3 se produjo la mayor actividad volumétrica de quitinasas a las 48 horas que fue de 9.19 y 4545 mU/mL para exoquitinasa (Nhasa) y endoquitinasa respectivamente, cabe mencionar que esta concentración fue similar en los sustratos provenientes de insectos siendo 1.2 y 1.7 veces mayor en comparación con las Nhasa y endoquitinasa producidas con camarón donde la actividad volumétrica fue de 2670 mU/mL a las 48 horas (Figura 1).

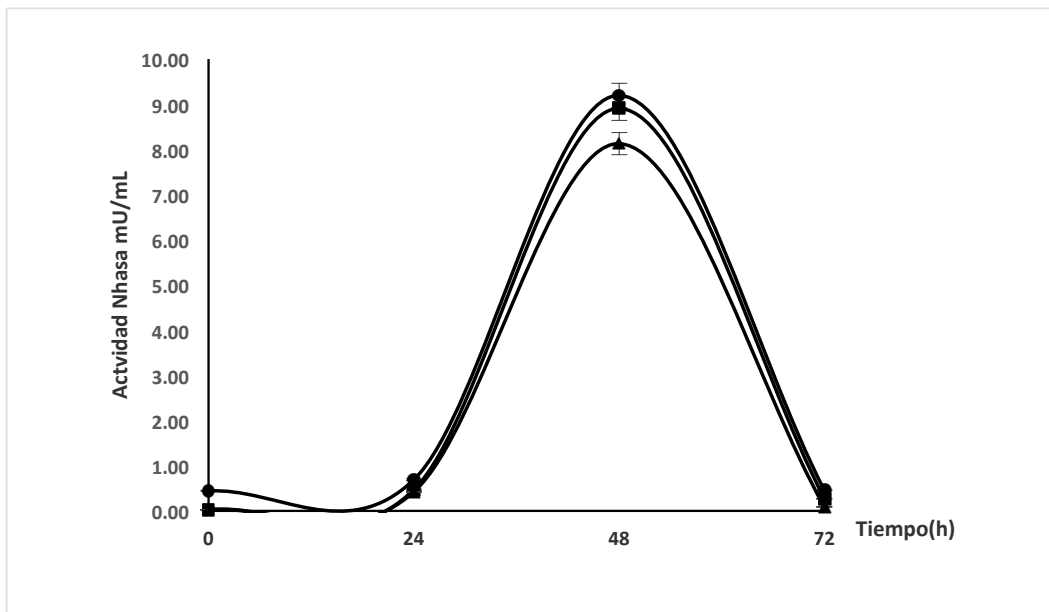


Figura 1. Producción de Nhasa a 25°C empleando *Beauveria bassiana* con sustratos quitinosos por fermentación en medio líquido. ● Chapulín; ■ Tenebrio; ▲ Camarón

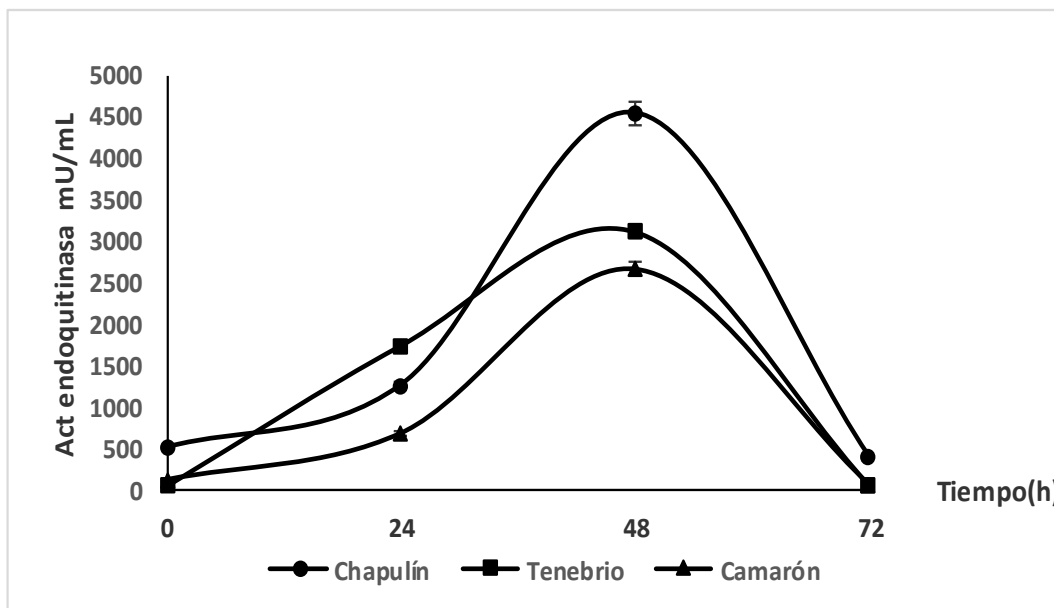


Figura 2. Producción de endoquitinasa a 25°C empleando *Beauveria bassiana* con sustratos quitinosos en fermentación líquida. ● Chapulín; ■ Tenebrio; ▲ Camarón



Cuando la temperatura se modificó a 20 y 30°C, disminuyeron las concentraciones volumétricas para todos los sustratos obteniéndose valores similares con los sustratos de insectos. La temperatura de mayor producción fue 25°C, mostrando un incremento de hasta 22 en comparación con las demás temperaturas. El tiempo de mayor producción enzimática (48h) coincidió con él de la máxima producción de azúcares reductores, proteína soluble y biomasa (Tabla 1).

Tabla 1. Evaluación de la temperatura de la FML empleando *Beauveria bassiana* con diferentes sustratos.

Determinaciones	Sustratos								
	Camarón			Tenebrio			Chapulín		
	20°C	25°C	30°C	20°C	25°C	30°C	20°C	25°C	30°C
Endoquitinasas (mU/mL)	50±0.001 (48 h)	2670±0.001 (48 h)	20±0.001 (48 h)	155±0.001 (48 h)	3120±0.001 (48 h)	190±0.001 (48 h)	205±0.001 (48 h)	4545±0.01 (48 h)	105.0±0.01 (48 h)
Exoquitinasas (mU/mL)	0.083±0.001 (48 h)	8.12±0.001 (48 h)	0.353±0.01 (48 h)	0.98±0.002 (48 h)	8.90±0.003 (48 h)	0.29±0.001 (48 h)	1.295±0.002 (48 h)	9.19±0.001 (48 h)	0.462±0.02 (48 h)
Biomasa (g/L)	0.0050±0.01 (48 h)	0.0060±0.01 (48 h)	0.0047±0.1 (48 h)	0.0050±0.01 (48 h)	0.0060±0.1 (48 h)	0.0047±0.1 (48 h)	0.0051±0.01 (48 h)	0.0060±0.01 (48 h)	0.0049±0.1 (48 h)
Proteína soluble(µg/mL)	6.5±0.001 (48 h)	7.99±0.001 (48 h)	5.19±0.002 (48 h)	8.24±0.001 (48 h)	12.55±0.01 (48 h)	7.15±0.001 (48 h)	10.08±0.09 (48 h)	11.70±0.007 (48 h)	10.17±0.02 (48 h)
Azúcares reductores (mg NAG/mL)	0.21±0.001 (48 h)	0.51±0.001 (48 h)	0.17±0.01 (48 h)	0.23±0.001 (48 h)	0.89±0.001 (48 h)	0.033±0.01 (48 h)	0.25±0.01 (48 h)	0.89±0.01 (48 h)	0.025±0.01 (48 h)

Los resultados mostraron que la temperatura de mayor producción de quitinasas con *Beauveria bassiana*, fue 25°C, que coincide con lo reportado en la literatura, con la cutícula de chapulín. Los resultados sugieren la idoneidad del escalamiento de este proceso para la producción de quitinasas para su posterior uso en programas de control biológico.

Agradecimientos

A CONACYT, al proyecto 169477 de la convocatoria SEP-CONACYT ciencia básica 2011-01, al instituto de Biotecnología y a la división de posgrado de la universidad del Papaloapan.



Literatura citada

- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding *Analytical. Biochemistry Methods in the biological Sciences* 72, 248.
- Ferrera C.R, Alarcon, A. (2007) *Microbiología agrícola*. Mexico: Edit, Trillas, 508.
- Huiping LI, Dazhuang H, Zhigang W. Potential of *Beauveria bassiana* for biological control of *Apriona Germari*. *Agricultural Sciences in china*, 5(4): 666-670.
- Miller G. L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Montesinos MR. (2012). Relación de la inducción/represión de enzimas hidrolíticas con la infectividad en cepas de *Beauveria bassiana* resistentes a 2-desoxi-D glucosa. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana.
- Ramírez-Coutiño, L.P (2009). Producción de quitinasas y proteasas de *Verticillium fungicola* y su evaluación en la hidrólisis de quitina para la producción de quitin oligómeros. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana.
- Tronsmo, A., and Harman, GE. (1993). Detection and quantification of N-acetil-D-glucosaminidase, chitobiosidase, and endochitinase in solutions and on gels. *Analytical. Biochemistry Methods in the biological Sciences* 208: 74-79.



**EFFECTO DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *Metarhizium anisopliae*
(DEUTEROMYCETES: MONILIALES) EN LA DINAMICA POBLACIONAL DE
MOSCA PINTA *Aeneolamia postica* (HEMIPTERA: CERCOPIDAE) EN EL CULTIVO
DE CAÑA DE AZÚCAR *Saccharum officinarum* L. (MONOCOTYLEDONEA:
GRAMINEA) EN EL INGENIO PUJILTIC CHIAPAS Y CARDENAS TABASCO,
MÉXICO.**

César G. Velasco - Morales¹, Benicio V. Hernández – García². ¹Centro de Reproducción e Investigación de Microorganismos Benéficos, Km 20 Carretera Venustiano Carranza-Comitan s/n, san Francisco Pujiltilic, Chiapas, C.P. 30310, vaquero-17@hotmail.com. ²Asociación local de productores de caña pujiltic A.C. Km 20 Carretera Venustiano Carranza-Comitan s/n, san Francisco Pujiltilic, Chiapas, C.P. 30310.

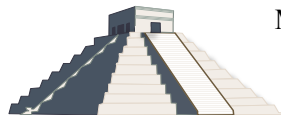
Resumen: la investigación se realizó en la zona de abastecimiento del ingenio Pujiltilic, Chiapas Y Presidente Benito Juárez Cárdenas, Tabasco en el Año 2013 durante la época de lluvias, los objetivos fueron evaluar el efecto del producto biológico META-CNPR *Metarhizium anisopliae* (deuteromycetes: moniliales) sobre las poblaciones de la mosca pinta *Aeneolamia postica* (hemiptera: cercopidae) en el cultivo de la caña de azúcar, así como identificar los predios con mayor incidencia de mosca pinta para realizar aplicaciones precisas y tener mejor control sobre la plaga. Se realizaron dos aplicaciones de META-CNPR en el cultivo antes mencionado durante los meses de Junio-Octubre del 2013 con un intervalo de aplicación de 40 días, a una concentración de 1×10^{12} esporas/ml. Dichas aplicaciones se realizaron con mochilas aspersoras motorizadas 25 lb de presión por la mañana o tarde de cada día, los resultados muestran que existe efecto en más del 75 % de la población de adultos de mosca pinta después de las aplicaciones de *Metarhizium anisopliae* y por encima del 80 % para el control de ninfas.

Palabras clave. *Metarhizium anisopliae*, *Aeneolamia postica*, META-CNPR

Introducción.

Actualmente el control biológico está teniendo un papel importante en el control de plagas que afectan a los diferentes cultivos. Es por ello que en el presente trabajo se plasman los resultados que fueron obtenidos al aplicar el hongo entomopatógeno (*Metarhizium anisopliae*) sobre la dinámica poblacional de mosca pinta (*Aeneolamia postica*), insecto plaga que causa pérdidas en el rendimiento de la caña de azúcar, donde el hongo actúa como controlador biológico (Cardenas, 1984), además de la importancia económica y sobre todo ambiental que tienen para la comunidad campesina y a la sociedad en su conjunto en términos de sustentabilidad.

Rescatando las ventajas que presenta el hongo entomopatógeno como: variedad de hospedantes, fácil producción masiva sobre sustratos simples, viabilidad de los conidios en el suelo por largos periodos de tiempo, pasa a tener un papel protagónico en el manejo integrado de plagas que puede ser usado eficientemente en el control de mosca pinta este realiza dos tipos de daños: el primero es provocado por la ninfa al alimentarse de las raíces y tallos de la planta y, el segundo,



provocado por el adulto al alimentarse de retoños y hojas, trayendo como consecuencia el bajo rendimiento de la producción del cultivo de caña (Byers, 1960).

Lo anterior fue razón suficiente para llevar a cabo el proyecto, teniendo como campo de estudio la región cañera de Pujiltilic, Chiapas, abarcando los municipios de Venustiano Carranza, Las Rosas y Socoltenango, mientras que en la región cañera del estado de Tabasco, el campo de estudio se ubicó en el municipio de Cárdenas.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó durante los meses de Junio-Octubre del 2013 en las zonas de abastecimiento de caña de azúcar de los ingenios San Francisco Pujiltilic y Presidente Benito Juárez, en los estados de Chiapas y Tabasco respectivamente. En ambos sitios se realizaron muestreos para diagnosticar las incidencias de Mosca pinta o salivazo, después de tener resultados de campo se programó la primera aplicación de META-CNR *i.a. Metarhizium anisopliae*, para ello se contaba con datos que el Centro de Reproducción e Investigación de Microorganismos había colectado y así poder hacer el muestreo post – aplicación, dichas aplicaciones se realizaron por las mañanas y por las tardes de manera terrestre con mochilas aspersoras a una presión de 25 libras, la concentración utilizada fue de 1×10^{12} esporas por ml. Para realizar la segunda aplicación se realizó de nueva cuenta un muestreo y con resultados en mano se programó la siguiente aplicación. Las variables a medir fueron adultos y ninfas antes y después de aplicación.

Resultados y discusión

El efecto del producto *M. anisopliae* sobre la dinámica poblacional de mosca pinta (*A. postica*) en los cultivos de caña de azúcar en el 2013 se concluyó satisfactoriamente. Esta actividad abarcó los meses de junio a octubre en el estado de Chiapas, mientras que en el estado de Tabasco solamente se aplicó durante tres meses (julio, agosto y septiembre). Los resultados del efecto que provocó el hongo entomopatógeno presenta variabilidad según la ubicación y características de los predios muestreados tales como, edad de la planta, variedad y altitud tal y como lo menciona Velasco, 2011. En el siguiente cuadro que se presenta, se ven reflejadas las medias poblacionales obtenidas antes y después de la aplicación por meses tanto de adultos como ninfas en la región cañera de Pujiltilic.

Cuadro 2: datos de medias poblacionales por meses en el periodo comprendido junio-octubre 2012. Región cañera de Pujiltilic, Chiapas.

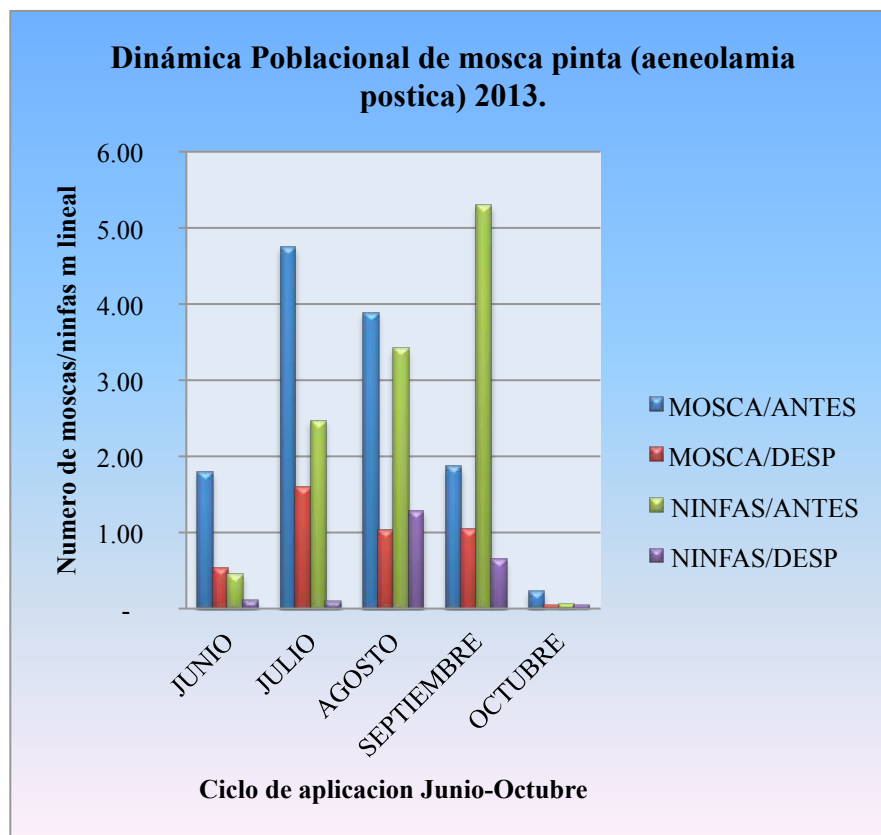
DESCRIPCIÓN	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE
MOSCA/ANTES	1.79	4.75	3.88	1.87	0.23
MOSCA/DESP	0.54	1.59	1.03	1.05	0.05
NINFAS/ANTES	0.45	2.46	3.42	5.30	0.07



NINFAS/DESP

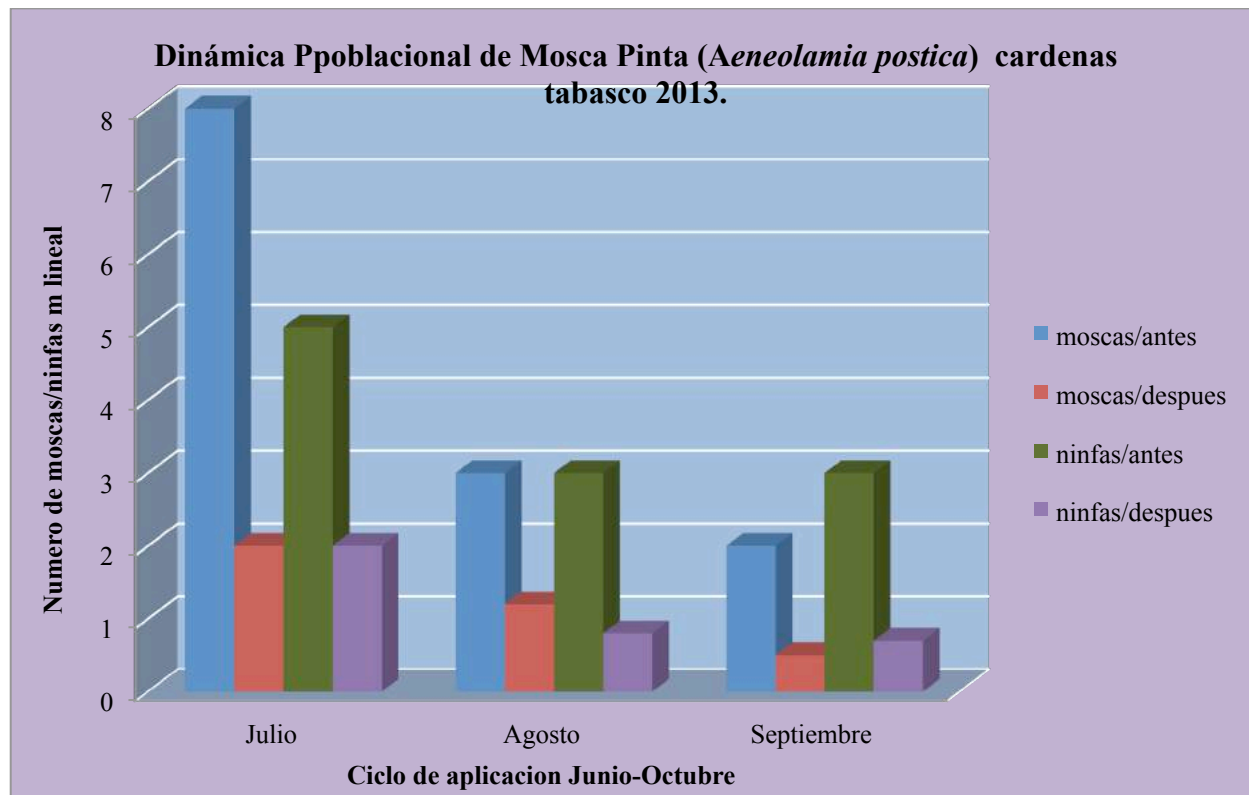
0.11 0.09 1.28 0.65 0.05

Se observa que en el periodo junio-octubre, el mes con más alta incidencia de mosca pinta fue julio, la cual correspondió a la primera generación del insecto. Con respecto a las ninfas, el pico más alto se presentó en el mes de septiembre, este brote correspondió a la segunda generación de mosca pinta, la cual dio pauta para garantizar la presencia de su especie en el siguiente ciclo de producción a través de los huevos diapáusicos. El efecto que el hongo entomopatógeno provocó en la dinámica poblacional tanto para adultos y ninfas se ve reflejado en los datos obtenidos después de la aplicación (ver grafica 1).



Grafica 1. Representación del efecto que el producto META-CNPR (*M. anisopliae*) provoca en la población de mosca pinta. Región cañera de Pujilic, Chiapas.

De la misma manera en la gráfica 2, se reflejan los resultados obtenidos en la región cañera de Cárdenas, después de la aplicación del producto biológico (*M. anisopliae*).

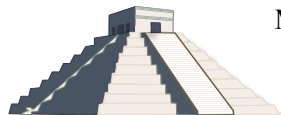


Grafica 2. Representación del efecto que el producto META-CNPR (*M. anisopliae*) provoca en la población de mosca pinta. Región cañera de Cárdenas, Tabasco.

Agradecimientos. Al centro de Reproducción e Investigación de Microorganismos (CRIM) por todas las facilidades prestadas y la confianza del representante legal DR. Benicio Valentín Hernández García.

Literatura citada

- Byers, R.A; Wells, H.D. 1966. Phytotoxemia of coastal bermudagrass caused by the two-lined spittlebug, *Prosapiabincta*(Homoptera: Cercopidae). Annals of the Entomological Society of America 59(6):1067-1071.
- Cardenas L. 1984. Observaciones preliminares sobre el barrenador menor de la caña de azúcar. en: Primer Congreso de la sociedad colombiana de técnicos de la caña de azúcar (TECNICAÑA). Cali. Memorias. Tomo 1, p. 133-143.
- Velasco M.C.G. 2011. Centro de Reproducción e Investigación de Microorganismos Benéficos de Pujilic S.P.R. de R.L. México.



EFICACIA DE *Hirsutella thompsonii* Fisher EN EL CONTROL DE *Oligonychus punicae* (Hirst) EN AGUACATE

Braulio Alberto Lemus-Soriano^{1,2}, Marco Antonio Mariano-Salvador¹, Caín Isidro Flores-Sanabria¹. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Col. Viveros, Uruapan, Michoacán, CP 60170, México. ²ZareAgrhos, Isabel la Católica No. 585-A, Fracc. Francisco Villa C.P. 59800, Jacona, Michoacán. México. lemus9@yahoo.com.mx

Resumen. El experimento se realizó en un huerto de aguacate Hass, durante el mes de mayo del 2014, en el municipio de Uruapan, Michoacán. El objetivo fue evaluar el porcentaje de mortalidad de *Oligonychus punicae* (Hirst), utilizando tres diferentes dosis del insecticida biológico *Hirsutella thompsonii* Fisher y un testigo sin aplicación en condiciones de campo. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. A los 7 días después de la aplicación y hasta los 21 días, las tres dosis del insecticida presentaron una disminución de las poblaciones de *O. punicae*, respecto al testigo sin aplicación que presentó incremento del ácaro; sin embargo, la mayor efectividad biológica se obtuvo con la dosis intermedia de 3.0 L en un volumen de 2000 L de agua por hectárea.

Palabras clave. *Oligonychus punicae*, aguacate, *Hirsutella thompsonii*, efectividad biológica.

Introducción

El ácaro café del aguacate *Oligonychus punicae* (Hirst) (Acari: Tetranychidae), es una de las principales plagas del aguacate en Michoacán, se presenta todo el año, aunque sus daños se hacen más evidentes en los meses de abril y mayo, llegando a defoliar el árbol, si se le descuida (GIIA, 20013). Altas poblaciones del ácaro pueden abortar el amarre del fruto, disminuyendo la producción (Bender, 1993; Cerna *et al.* 2009). Sin embargo el uso de insecticidas químicos, como única alternativa de control, ha originado un aumento en los costos de producción, contaminación del ambiente y posible resistencia del ácaro, aunado a las restricciones de residuos de plaguicidas en el fruto (Heredia, 2012). Motta-Delgado y Murcia-Ordoñez (2001) y Pucheta-Díaz *et al.* (2006) señalan el empleo de los hongos entomopatógenos como una alternativa viable y sustentable para el control de plagas, entre ellos a *Hirsutella*. Este hongo en particular ha sido reportado afectando poblaciones de ácaros y eriófidos de forma natural (Gopal y Gupta, 2001). El objetivo del presente estudio fue evaluar bajo condiciones de campo la efectividad biológica del insecticida comercial *Hirsutella thompsonii* (Thompzar[®]) para el control del ácaro café en aguacate var. Hass.

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó durante el mes de abril del 2014, en un huerto comercial de aguacate var. ‘Hass’, situada en la localidad de San Francisco Corupo, municipio de Uruapan Michoacán. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 4 tratamientos y 4 repeticiones. La unidad experimental fue un árbol de aguacate var. Hass de 12 años de edad. La variable utilizada fue el número de ácaros móviles por hoja, para ello se tomaron 10 hojas de manera



aleatoria en los 4 puntos cardinales en la parte media baja del árbol, realizando el conteo en el haz de la hoja. Se utilizaron tres dosis comerciales del producto a base de *Hirsutella thompsonii* en un volumen de agua por hectárea de 2000 L. Se realizó un muestreo antes de la aplicación y se tomaron datos a los 7, 14 y 21 días después de esta. La aplicación se realizó por la tarde para darle mejores condiciones de desarrollo al hongo, utilizándose una aspersora de motor marca ECHO® con boquilla de cono hueco y el agua fue buferizada para obtener un pH de 6.5. La variable evaluada fue el número de ácaros móviles por hoja.

Cuadro 1. Tratamientos a dosis comerciales de *Hirsutella thompsonii* utilizados para el control de *O. punicae* en aguacate.

Tratamientos	Dosis en 2000 L de agua/ha
1. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1×10^{10}	2.0 L
2. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1×10^{10}	3.0 L
3. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1×10^{10}	4.0 L
4. Testigo absoluto	

Resultados y Discusión

Los datos resultantes fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$ mediante el programa estadístico SAS v. 9.0. Mientras que la efectividad biológica se calculó con la fórmula de Henderson y Tilton (1955) (Cuadro 2). En las tres tomas de datos después de la aplicación, se presentó alta significancia entre los tratamientos, por lo que se realizó la comparación de medias de Tukey. A los 7 días después de la aplicación se observa una disminución considerable de las poblaciones del ácaro café, destacando las dosis de *Hirsutella thompsonii* de 2.0 y 3.0 L que fueron estadísticamente iguales; sin embargo, a los 14 y 21 días todos los tratamientos del hongo entomopatógeno presentaron igualdad estadística, reduciendo todavía más las poblaciones del ácaro, mientras que el testigo sin aplicación siguió en incremento de sus poblaciones. En cuanto la efectividad biológica, los resultados obtenidos con *H. thompsonii* son prometedores al tratarse de un insecticida microbiano, y nos demuestran una eficacia promedio de 70% en las dosis de 2.0 y 3.0 L. Los resultados obtenidos confirman la agresividad de este hongo hacia los ácaros tetránquidos, de acuerdo a reportes previos de Rosas *et al.* (1996) y Rosas y Sampedro (2000), quienes lo han aislado en forma natural de ácaros, y mediante ensayos de laboratorio han demostrado su patogenicidad.



Cuadro 2. Prueba de Tukey y efectividad biológica de Henderson y Tilton.

Tratamientos	Dosis/ha	Medias Tukey $\alpha=0.05$.			% eficacia de Henderson y Tilton (media)
		7 DDA	14 DDA	21 DDA	
1. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1x10 ¹⁰	2.0 L	21.35 B*	12.6 B*	9.72 B*	69.54
2. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1x10 ¹⁰	3.0 L	19.8 B	9.15 B	7.07 B	71.91
3. <i>Hirsutella thompsonii</i> 1x10 ¹⁰	4.0 L	31.95 BA	12.57 B	7.22 B	62.37
4. Testigo absoluto	---	39.82 A	42.9 A	43.05 A	---

DDA= Días después de la aplicación.

*Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey.

Literatura Citada

- Bender G.S. 1993. A new mite problem in avocados. California Avocado Society Yearbook 77: 73–77.
- Cerna, E., Badii, M.H., Ochoa, Y., Aguirre U., L.A. y Landeros, J. 2009. Tabla de vida de *Oligonychus punicae* Hirst (Acari: Tetranychidae) en hojas de aguacate (*Persea americana* Mill) variedad hass, fuerte y criollo. Universidad y Ciencia, 25(2), 133-140.
- GIIIA (Grupo Interdisciplinario e Institucional de Investigación en Aguacate). Bautista N, Beltrán H, Castañeda A, Chávez M, Equihua A, Durán E, Fierro D, Gonzáles H, Gonzáles G, Lomelí R, Marroquí F, Michúa J, Nava C, Nieto D, Ochoa S, Ochoa D, Rodríguez E, Santillán MT, Saucedo R, Soria J, Téliz D, Valdovinos G, y Vallejo M. 2013 El aguacate en Michoacán: Plagas y Enfermedades. APEAM AC-SENASICA, México. 56 p.
- Gopal, M. and A. Gupta. 2001. Has *Hirsutella thompsonii* the werewhital to counter coconut eryophid mite scourge. Current Science 80(7): 831-836.
- Henderson, C.F. and E. W. Tilton, 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite, J. Econ. Entomol. 48:157-161.
- Heredia, R. J.G. 2012. Control químico de la araña roja *Oligonychus punicae* (Hirst) en el cultivo del aguacate en Ziracuaretiro, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología. Uruapan, Michoacán. México. 31 p.
- Motta-Delgado, P. A. y B. Murcia-Ordoñez. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Ambi-Agua, Taubaté. 6(2): 77-90.
- Pucheta, D.M., Flores M.A., Rodríguez N.S. y M. de la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia 31(12): 856-860.
- Rosas, J. L. Alatorre, R., y J. Valdez, J. 1996. Pathogenicity bioassays of *Hirsutella thompsonii* Fisher and *H. nodulosa* Petch strains facing up to *Tetranychus urticae*. Revista Latino-Americana de Microbiología. 38: 177-184.
- Rosas, J. L., y Sampredo, L. 2000. Control Biológico del complejo *Brevipalpus* sp. en *Citrus aurantifolium* en Guerrero, México. Manejo integrado de plagas (Costa Rica). 55:56-59.



SELECCIÓN Y EVALUACIÓN *IN VITRO* E *IN VIVO* DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* PATÓGENAS A *Centrocestus formosanus* (DIGENEA: HETEROPHYIDAE)

Luis Javier Mendoza-Estrada¹, Guadalupe Peña-Chora², Iván Arenas-Sosa³, Víctor Manuel Hernández-Velázquez⁴. ¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Parasitología ²Vegetal, Centro de Investigaciones Biológicas, ⁴Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca; Morelos; México. C.P. 62209. Tel. (777) 3297029 Ext. 3243. Fax: (777)3297056. ³Instituto de Biotecnología /UNAM Av. Universidad #2001, Col. Chamilpa C.P. 62210 Cuernavaca, Morelos Apdo. Postal 510-3, C.P.62250 Tels: (52 777) 329 16 00, (52 55) 56 22 76 00 Fax: (52 777) 3 17 23 88

Resumen. El estado de Morelos por sus condiciones ambientales e infraestructura es uno de los principales productores de peces de ornato, pero diversos factores afectan su producción, como las enfermedades ocasionadas por parásitos. De entre las que destacan la enfermedad provocada por el trematodo parásito *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924), caracterizado por presentar una rápida diseminación, patogenicidad y alta mortalidad en gran diversidad de peces. La bacteria *Bacillus thuringiensis* produce una variedad de cristales de naturaleza proteica con efecto toxico a diferentes organismos como insectos, ácaros y algunos helmintos. Por lo que se realizó la selección *in vitro* de cepa(s) de *B. thuringiensis* que fueran patógenas a *C. formosanus*. Se probaron 37 cepas de *B. thuringiensis* de la colección del laboratorio de Parasitología Vegetal, del Centro de Investigaciones Biológicas, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos; determinando su patogenicidad mediante bioensayos ventana con dos concentraciones: 10 y 50 µg/mL de complejo spora-cristal en los estadios de cercaria y metacercaria de *C. formosanus*. Se registró que para el estadio de metacercaria, la cepa con mayor patogenicidad fue la GP308 con el 58.9% de mortalidad, seguida por la GP526 con el 34.4% y la IB-16 con el 33.3% a una concentración de 50 µg/mL. Para el caso de las cercarias, las cepas GP526 y ME1 presentaron una mortalidad del 58.8% y 95.5% respectivamente a una concentración de 50 µg/mL. Mediante un análisis de varianza y la prueba DMS con un $\alpha=0.05$, se determinó que para las metacercarias la cepa GP308 y para las cercarias, las cepas GP526 y ME1 fueron estadísticamente significativas del resto de las cepas evaluadas. Lo que las hace candidatas para ensayos de virulencia y su posterior evaluación *in vivo* con peces infectados.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, bioensayo, *Centrocestus formosanus*, cercarias, metacercarias.



CONTROL DE LA GARRAPATA DEL GANADO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI: IXODIDAE) MEDIANTE EL USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.

Christian M. Pech-Chuc, **Joel Lara-Reyna**. Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Carretera Haltúnchen - Edzná km. 17.5 Sihochac, Champotón, Campeche

Resumen. El uso inadecuado de acaricidas químicos y la escasa asesoría que se lleva a cabo con productores, ha generado problemas cada vez más acentuados con plagas de artrópodos. La falta de estrategias de educación en el uso de agroquímicos en general hacia los productores, ha generado que por lo general se haga caso omiso de las instrucciones en la etiqueta de los productos. De este modo, al observar falta de control con los productos utilizados, cada vez más los productores tienden al uso de mezclas que han acentuado la selección acelerada de resistencia en *Rhipicephalus microplus*. Lo anterior ha traído como consecuencia una acelerada presión de selección de la resistencia, haciendo que los productores manifiesten el que no se puede controlar al ácaro eficaz (y económicamente) con ningún producto. La opción del uso de insecticidas biológicos ofrece una opción muy viable de control de la garrapata del ganado como se demuestra en este documento; así mismo puede ayudar a disminuir la resistencia entre las poblaciones susceptibles del ácaro, al reducir la presión de selección por acaricidas químicos.

Un total de 37 cepas de hongos entomopatógenos, aisladas del estado de Campeche, fueron evaluados con base en su patogenicidad hacia garrapata del ganado *Rhipicephalus microplus*. Los 37 aislamientos fueron evaluados en las fases de huevecillo, ninfas y hembras ovigeras. En una segunda fase de campo, las cepas seleccionadas (siete), fueron evaluadas en campo aplicando de forma directa sobre tres animales eligiendo una zona con alta densidad de parásitos. Se aplicó una suspensión a una concentración de 10^8 conidios/ml. La aplicación se realizó después de que los animales fueron ordeñados. Se marcaron los animales con violeta de genciana en una oreja para su ubicación visual, y anotando el número de serie del arete identificador. Se aplicó directamente sobre la zona afectada tomando una foto digital; se evaluó cualitativamente al tercer día tomando una nueva foto evaluando la disminución de la población. Dos cepas (*M. anisopliae* HMa005, *B. bassiana* HBb014 y la mezcla de ambas) mostraron reducción de la población presente sobre la zona afectada por lo que se procedió a evaluarlas en forma extensiva en tres ranchos del ejido Ley de la Reforma Agraria del Municipio de Champotón (Campeche).

Se evaluaron tres tratamientos (HMa005 10^8 conidios/ml, HBb014 10^8 conidios/ml y mezcla de ambas cepas 1:1 (10^8 conidios/ml). Se realizó una aplicación cada 15 días en aquellos ranchos donde el nivel de infestación era bajo (15-30 garrapatas/animal) y semanalmente en aquellos con densidad alta (individuos incontables). Para el caso de infestaciones bajas los parásitos fueron controlados en la segunda aplicación. En los animales con alta densidad, esta fue controlada hasta la tercera aplicación. Los mejores resultados se obtuvieron con la cepa HMa005 combinada con una dosis subletal de acaricida comercial; los animales tardaron en promedio entre 7 y 9 días en liberarse de la infección.

Palabras clave: Control microbiano, Beauveria, Metarhizium, garrapata del ganado



EFFECTIVIDAD DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE INSECTOS PLAGA DEL CHILE HABANERO, CON MANEJO AGROECOLÓGICO EN JOSÉ MARÍA MORELOS, QUINTANA ROO.

Martha G. Peraza-Darza, María de Jesús Méndez- Aguilar. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, Carretera Muna- Felipe Carrillo puerto Km.137 s/n, C.P 77890, La Presumida, José María Morelos, Quintana Roo, Universidad Maya de Quintana Roo, José María Morelos, Quintana Roo. E-mail: gise_mar92102@hotmail.com.

Resumen: La investigación se realizó en un cultivo de chile habanero, a cielo abierto con manejo agroecológico en José María Morelos, Quintana Roo. Teniendo por objetivo evaluar la efectividad de cuatro concentraciones de *Beauveria bassiana* sobre poblaciones de *Bemisia tabaco* (Gennandius, 1888), *Anthonomus eugenii* (Cano, 1894) y *Erythrogonia* spp. Se estableció el cultivo de chile habanero (variedad "jaguar"). Se evaluaron concentraciones de *Beauveria bassiana* 5 g. L⁻¹, 10.5 g. L⁻¹, 14 g. L⁻¹ y 18 g. L⁻¹. Se recolectaron los insectos mencionados anteriormente, dos veces por semana con intervalos de cuatro días; estos insectos fueron trasladados en recipientes individuales al laboratorio y se colocaron en cámara húmeda, estos fueron observados cada tercer día durante 20 días. No hubo diferencia estadística entre tratamientos con respecto al control para ningún tipo de insecto. Por la presencia de *Erythrogonia* spp. y *B. tabaci* se reporta un nivel de daño indirecto del 23 % en el cultivo. El rendimiento acumulado fue de 14. 705 kg/ha⁻¹ obtenido durante 16 cosechas. La cepa nativa del hongo ejerce efecto sobre *Erythrogonia* spp. con la dosis de 5 g.l⁻¹ de arroz con hongo no así para *B. tabaci* y *Anthonomus eugenii*.

Palabras clave. Entomopatogenos, cepa nativa, patogenicidad, insectos plaga.

Introducción

El chile habanero es la segunda hortaliza de importancia económica para el estado de Quintana Roo, sin embargo, tiene serios problemas fitosanitarios, principalmente por el ataque de insectos plaga que reduce la calidad y rendimiento del cultivo. Por ello, los agricultores han recurrido al uso constante de agroquímicos para controlar estas poblaciones de insectos, lo que provoca problemas al ambiente y la salud humana a corto plazo. En José María Morelos se estableció un cultivo de chile habanero, con manejo agroecológico desde el 2011, en donde se hicieron aplicaciones del hongo *B. bassiana* sobre insectos plaga (Teh, 2012). Este trabajo da información relevante sobre el efecto de este hongo sobre insectos plaga presente en el cultivo de chile habanero con manejo agroecológico. Por ello, el presente objetivo fue conocer la efectividad de una cepa nativa de *Beauveria bassiana* (Agostino Bassi, 1835) para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennandius, 1888), picudo del chile (*Anthonomus eugenii*, Cano, 1894) y chicharrita (*Erythrogonia* spp.) a cielo abierto, en el cultivo de chile habanero con manejo agroecológico.



Materiales y método

La parcela (100 m²) contiene algunos árboles de cítricos y cedros. Se cultivó el chile habanero, variedad “Jaguar”, el trasplante se realizó en junio de 2012. Las plantas de chile habanero tenían una distancia entre plantas de 50 cm y entre surco 1 m. En total se tuvieron 14 surcos divididos en subparcelas (10 plantas de chile habanero por subparcela). La distribución de los cuatro tratamientos y el control, con sus cuatro repeticiones fueron definidos en forma secuencial, intercalando los tratamientos con un surco de control (compuesto por dos subparcelas).

Las aplicaciones del hongo se realizaron doce días después del trasplante; después de esa aplicación se hicieron seis más, en intervalos de 14 días (Perera *et al.*, 2011) hasta la última cosecha. La concentración de esporas empleada fue 1.47×10^8 .

Se hicieron 41 recolectas dirigidas a mosca blanca, chicharrita y picudo de chile. Las recolectas fueron sistemáticas, dos veces por semana (martes y sábados), un día por la mañana (6:00 hrs) y otro día por la tarde (16:30 hrs), esto para asegurar recolectar a los insectos que tienen distinto horario de actividad. Por el comportamiento de los insectos recolectados, se revisó el follaje, los frutos y las flores como lo recomienda Carballo *et al.* (2001). En el caso de mosca blanca y chicharrita la recolecta fue directa. Para recolectar picudo de chile se hicieron revisiones a las flores y frutos en la planta con síntomas de daño, además de recolectar frutos caídos.

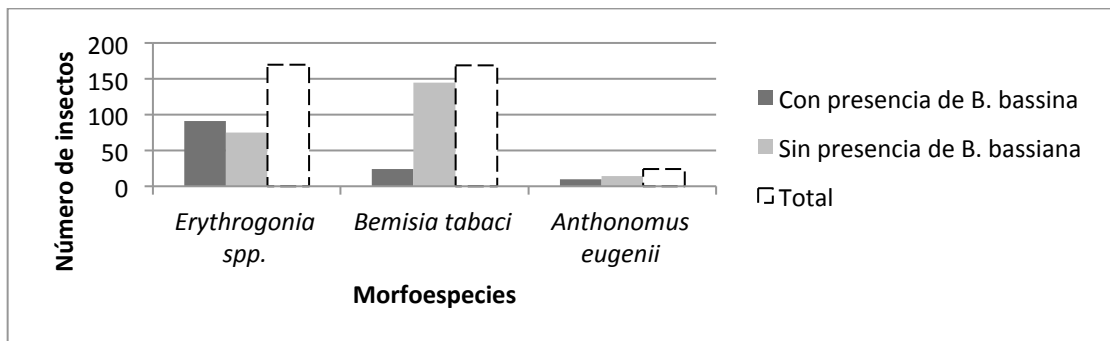
Todos los insectos recolectados se colocaron en recipientes individuales, debidamente etiquetados, con papel filtro. Los cuales se transportaron al laboratorio húmedo de la Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo (UIMQRoo). Estas muestras se humedecieron con agua destilada, cada tercer día (temperatura de 22 a 28°C de temperatura y 89 a 91% humedad relativa).

Se registró la mortalidad de los insectos con presencia o ausencia de *B. bassiana*, las observaciones se hicieron durante veinte días después de la recolecta. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA).

Para la calidad y cantidad de la producción de chile habanero se registró el rendimiento de la producción. También se registró presencia de virus o daño directo que realizan los insectos evaluados.

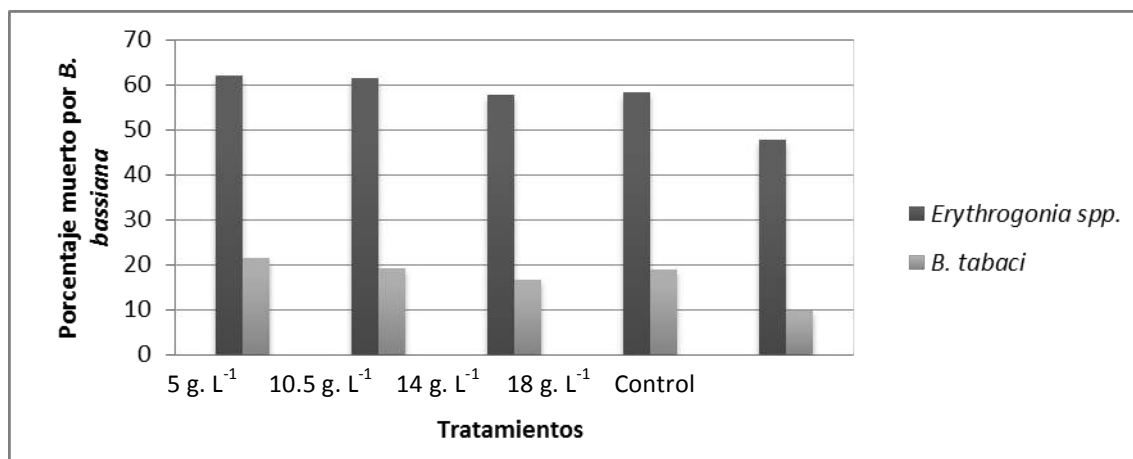
Resultados y discusión

De las 41 recolectas realizadas en la parcela de chile habanero se encontraron 363 insectos, de los cuales 170 fueron *Erythrogonia spp.*, 169 *B. tabaci* y solo 24 individuos de *A. eugenii*. Para las tres morfoespecies se registró 127 insectos (el 35 %) muertos por *B. bassiana* (Gráfica 1); de estos 91 insectos eran de *Erythrogonia spp.* (25 %); 24 de *B. tabaci* (7 %) y 10 de *A. eugenii* (3 %). Para *A. eugenii* la cantidad de insectos recolectados fueron mínimos (N= 24) por ello, no se detallan en los siguientes resultados.



Gráfica 1. Tres morfoespecies de insectos con y sin presencia de *B. bassiana*, recolectados en el cultivo de chile habanero, Santa Gertrudis, Quintana Roo (2012).

Por tratamiento, *Erythrogonia spp.* tuvo una mortalidad entre 50-60 % en todos los tratamientos, excepto para el control; para *B. tabaci* se reportó entre el 15-20 % de mortalidad por hongo (Gráfica 2). Por tratamiento no hubo diferencia significativa ($\alpha=0.05$); sin embargo, por morfoespecie *Erythrogonia spp.* y *B. tabaci* presentaron mayor cantidad de insectos muertos por el hongo en comparación con *A. Eugeniei*. Por lo tanto, con una dosis baja de 5 g. L⁻¹ se tendrá efecto sobre la mortalidad de *Erythrogonia spp.* Para *B. tabaci*, el hongo tiene baja patogenicidad. La mortalidad de *Erythrogonia spp.* en control probablemente se debió a las aplicaciones del hongo hechas en 2011 (Tah, 2013). Otra razón de encontrar insectos con hongo dentro de las subparcelas de control, pudo deberse al desplazamiento de los insectos, como lo registró Cardona *et al.* (2005).



Gráfica 2. Morfoespecies con y sin presencia de *B. bassiana*, por tratamiento, recolectadas en el cultivo de chile habanero, Santa Gertrudis, Quintana Roo (2012).

Erythrogonia spp. tiene una ligera tendencia a tener mayor actividad principalmente por las tardes; para el caso de *B. tabaci* se encuentra principalmente por las mañanas. Sin embargo, en esta región las altas precipitaciones se dan por las tardes, por ello es importante realizar recolectas o aplicaciones de preparados naturales durante las mañanas -6:30 hrs.



Del total de plantas de chile habanero (n=220 plantas), únicamente el 23 % (n= 52) presentaron daño indirecto ocasionados por *Erythrogonia* spp. o *B. tabaci*. Las plantas con virus se presentaron a partir de la segunda semana después del trasplante, pero se mantuvieron así hasta la cosecha y el nivel de virosis no incrementó, lo anterior, debido al control natural realizado. Al respecto Ucan (2011) indica que en el cultivo de chile habanero con manejo agroecológico a pesar de altas poblaciones de *Erythrogonia* spp. y *B. tabaci* reporta baja incidencia por virosis (15 - 25 %), lo cual coincide con este trabajo. La presencia de picudo de chile fue mínima; únicamente dos individuos se recolectaron sobre las plantas, el resto (22 picudos) se encontró en frutos dañados (n=15) sobre el suelo. Se presentó baja abundancia de este insecto a pesar de ser el cuarto año de producción en esta área. Coincidiendo con estos resultados en años anteriores (Teh, 2012 y Tah, 2013) se ha demostrado que la abundancia de los insectos fitófagos se mantiene en baja presencia, debido al manejo agroecológico.

En cuanto al rendimiento promedio de frutos (g) por planta se obtuvo 84.8 g., con una relación de largo: ancho promedio de 1.3 y un peso por fruto de 5.5 g. En 2011, se registró el mismo valor para largo:ancho por Teh (2012). A pesar de la presencia de insectos fitófagos durante toda la producción; por ello se considera que el manejo y control realizado, así como la diversificación del sistema mantiene la calidad de la producción a través del tiempo. La producción acumulada durante las 16 cosechas fue de 1, 470 kg/ha para el ciclo 2012. Para esa misma parcela, pero en 2010 se registró 2,967.8 kg/ha -1 (Ebel, 2013). Esta disminución se debe a la continua producción de chile habanero en la misma superficie.

Agradecimiento

Al Consejo Quintanroense de ciencia y tecnología (COQCYT) por el financiamiento otorgado para la etapa en laboratorio del experimento. A la Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo (UIMQRoo) por el material otorgado y la disponibilidad de uso de la boratorio húmedo para llevar a cabo esta investigación.

Literatura citada

- Carballo, M.; Rodríguez, L. y Duran, J. (2001). Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio. [Versión electrónica]. Recuperado el 15 de junio de 2012. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2114E/A2114E.PDF>
- Cardona, C.; Rodríguez I.; Bueno J. y Tapia X. (2005). *Biología y Manejo de la Mosca Blanca Trialeurodes vaporariorum en Habichuela y Frijol*. [Versión electrónica]. Recuperado el 18 de junio de 2012. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Car%C3%A1tula.pdf
- González, J. y Obregón, H. (2007). *Evaluación de alternativas de protección física y química de semilleros de chiltoma (Capsicum annum L.) contra el ataque del complejo mosca blanca (Bemisia tabaci, Gennadius) – Geminivirus*. [Versión electrónica]. Recuperado el 15 de junio de 2012. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf03g643e.pdf>
- Méndez A., M.; Brito E., E., Cáliz de Dios H. y R. Ebel (2013). Producción agroecológica de chile habanero en su asociación con la pitahaya. Ebel, R. (Ed.). En: Producción extensiva de chile habanero (*Capsicum chinensis* Jacq.) a cielo abierto con manejo agroecológico. Editorial Académica Española. Saarbrücken, Germany. 51p
- Mex, R. (2011). Efecto de la rotación de leguminosas a la producción agroecológica de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en Santa Gertrudis, Quintana Roo Tesis de Licenciatura. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo. José María Morelos, Quintana Roo. 16 p.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Orduño, N. (2009). Virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre picudo del nopal *Metamasius spinolae*. [Versión electrónica]. Recuperado el 27 de junio de 2014. Disponible en: http://www.cm.colpos.mx/2010/images/tesis_p/entomologia/resumen/resumen_virulencia.pdf
- Perera, S.; Suárez, T.; Padilla, M. y A. Camero (2011). *Evaluación de distintos métodos de aplicación de un formulado de Beauveria bassiana para el control de picudo de la platanera Cosmopolites sordidus en Tenerife (Islas Canarias)*. [Versión electrónica]. Recuperado el 05 de junio de 2012. Disponible en: http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/subt_384_Evaluacionpicudoplatanera.pdf
- Polanco, J.; Castro, A. y C. Ramírez (2010). *Patogenicidad de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos sobre el complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) de Los Altos de Chiapas, México*. Sansnenea, E., Zumaquero, J. y Del Rincón M. (Eds.). En: XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. México. Editorial. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. Pp: 229-232.
- Teh H., L. (2012). *Entomofauna presente en el cultivo de chile habanero con manejo agroecológico*. Tesis de Licenciatura. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo. José María Morelos, Quintana Roo. 16 p.
- Ucan, C. (2011). *Efecto del intercalado de Tagetes erecta L. y de la cobertura del suelo con aserrín sobre plagas severas en el cultivo de chile habanero (C. chinense Jacq.)*. Tesis de Licenciatura. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo. José María Morelos, Quintana Roo. 22 p.



EFFECTO DE LA OXIGENACIÓN EN LA PRODUCCIÓN HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Núñez-Camargo María del Carmen, Marco Antonio Mellin-Rosas; Hugo César Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico km 1.5, Carretera Tecomán-Estación FFCC, C.P.28120, Tecomán, Col. Correo electrónico: maria.nunez@senasica.gob.mx

Resumen. Para comprobar el efecto de la oxigenación sobre el rendimiento en la producción de conidios de hongos entomopatógenos, se evaluaron tres aislamientos de *Isaria fumosorosea* (CHE-CNRCB 303, CHE-CNRCB 305, CHE-CNRCB 307) y uno de *Metarhizium anisopliae* (CHE-CNRCB 224); los tres aislados de *Isaria fumosorosea*, mostraron comportamientos diferentes entre sí, no obstante las tres cepas tuvieron respuesta favorable a la inyección de aire comparado con la producción tradicional (sin aplicación de aire ni oxígeno). Los resultados indican que la cepa CHE-CNRCB 303 rindió 6.5 gr de conidios/kg de sustrato, mientras que CHE-CNRCB 305, 6.5 gr de conidios/kg de sustrato; la CHE-CNRCB 307, 4 gr y la CHE-CNRCB 224 8.9 gr de conidios por kilogramos de sustrato. En el tratamiento con oxígeno, la cepa CHE-CNRCB 307 registró la mayor producción (29.66 gr de conidios/kg de sustrato sólido), mientras que la cepa CHE-CNRCB 303 registro la producción más baja (11.38 gr conidios/kg de sustrato sólido). Para el caso de la cepa CHE-CNRCB 224 *M. anisopliae*, registro un incremento de 0.98 gr de conidios por kg de sustrato. Los conidios producidos de cada tratamiento fueron formulados en espora libre y polvo humectable (Celite 400) y conservados a 4 °C, cada 15 días fue monitoreado el porcentaje de germinación hasta registrar menos del 80%. Las formulaciones de todos los tratamientos mantuvieron el porcentaje de germinación por arriba del 80% por más de 75 días. La modificación de la atmosfera con la inyección de aire podría ser implementado para la producción masiva de hongos entomopatógenos.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*

Introduccion

El uso de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico se ha incrementando a nivel mundial, debido a que se pueden controlar numerosas plagas agrícolas de gran importancia económica (Sahayaraj y Namasivayam 2008). Actualmente existen diversas presentaciones y formulaciones de micoinsectidas comerciales en los que destacan las siguientes especies: *Beauveria bassiana* (33.9%), *Metarhizium anisopliae* (33.9%) e *Isaria fumosorosea* (5.8%) (Faria y Wraight, 2007). Se han logrado avances importantes en la producción masiva de hongos entomopatógenos, sin embargo dentro de los esquemas desarrollados para la producción masiva de hongos entomopatógenos básicamente se cuenta con tres procesos: 1) la producción de blastosporas 2) Cultivo producción bifásica; y 3) la producción de conidios aéreos los cuales se desarrollan sobre un sustrato precocido. Diversos investigadores han implementado técnicas de producción masiva para incrementar la producción de conidios sin dejar de atender las cualidades fisico-químicas del hongo. Bhanu Prakash *et al.* (2008) y Devi *et al.* (2001) concluyen que no todos los hongos entomopatógenos pueden ser producidos a gran escala bajo el mismo proceso de



producción masiva debido a que cada aislamiento tiene requerimientos nutricionales muy específicos.

Tecuitl-Beristáin *et al.* (2010) realizaron pruebas sobre la influencia de una condición hiperoxidante (exposición a atmósferas con concentraciones de oxígeno mayores a 21 %) como factor para incrementar la producción y calidad de conidios de hongos entomopatógenos; García-Ortiz *et al.* (2012) iniciaron pruebas con la producción de *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* con diferentes concentraciones de oxígeno en la cual hubo un incremento de conidios de 1.7 veces, concluyen que el oxígeno no alteró su actividad enzimática para iniciar el proceso de infección sobre las larvas de *Tenebrio molitor* L. Miranda-Hernández *et al.* (2012) evaluaron *Beauveria bassiana* bajo un esquema de atmosferas modificadas con la finalidad de incrementar su producción, con lo cual observaron que la producción fue la misma, sin embargo indujo cinco veces más el porcentaje de geminación de *B. bassiana* que es uno de principales factores a evaluar dentro de los parámetros de calidad de los hongos entomopatógenos. Nuestro objetivo fue evaluar el rendimiento de producción de conidios de cuatro aislamientos utilizados en un programa federal de control biológico del psilido asiático de los cítricos en México, de los cuales tres aislamientos corresponden a *Isaria fumosorosea* Wize CHE-CNRCB 303 [=Pf15], CHE-CNRCB 305 [=Pf17], CHE-CNRCB 307 [=Pf21] y un aislamiento a *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (CHE-CNRCB 224 [=Ma59]), mismos que fueron producidos en sustrato sólido con atmosferas modificadas aire y oxígeno al 26%.

Materiales y métodos

Este estudio se llevó a cabo en el Departamento de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) ubicado en Tecomán Colima. Las cepas utilizadas para esta evaluación pertenecen a la Colección de Hongos Entomopatógenos del CNRCB (CHE-CNRCB). Para el proceso de producción en sustrato sólido, la metodología que se empleó ha sido generada en el CNRCB. Se utilizaron granos de arroz de 2^a con un 40% de grano quebrado sin cascarilla. El arroz se lavo tres veces con agua potable, posteriormente se dejó en reposo por 30 minutos en agua con antibiótico Bio-D-Tif marca Biofarmex[®] (Amprolio 30mg + Enrofloxacin 30mg + Etopobato 4 mg por tableta) se utilizaron 2 tabletas/litro de agua (64 ppm) después se eliminó el exceso de agua, dejando el arroz escurrir durante 20 minutos; posteriormente se depositaron 300 gr de arroz por bolsa de polipapel de alta densidad de 22x30 cm, para cerrar cada bolsa se hizo un doblez en tres partes y se engrapo. Las bolsas con arroz se esterilizaron por 20 minutos a una presión de 120 kg/cm² (120 °C) (Hernández, *et al.*, 1995).

Antes de inocular las bolsas de polipapel con el sustrato precocido fueron marcadas con un plumón de tinta permanente en la parte central para indicar el lugar donde se realizó la inoculación, a cada bolsa se le agregaron 10 mL de una suspensión de conidios a una concentración aproximada de 2×10^6 conidios/mL, para ésta acción se utilizó un dosificador automático Marca Wheaton[®].



Las bolsas con sustrato sólido inoculadas se trasladaron a la sala de incubación donde permanecieron en estantes a una temperatura de 27 ± 2 °C por espacio de 16 días. Durante éste periodo las bolsas se movieron cada cuatro días con la finalidad de romper el micelio. Posterior a los 4 días de incubación y 24 horas después de la primer movida del sustrato se aplicaron los siguientes tratamientos: 1) a las bolsas testigo se denominaron tradicional, no se aplico nada; 2) las bolsas con aire, se les inyectó aire durante cinco segundos con un compresor Truper[®] capacidad 25 l, potencia 2HP calibrado a 40/lbs de presión a través de un filtro Millex-GS[®] de 0.22 μm ; y 3) bolsas con oxígeno, a las que se les inyectaron por cinco segundos una mezcla gaseosa oxígeno 26%/nitrógeno balance fabricada por Praxair-México, por medio de un filtro Millex-GS[®] de 0.22 μm .

Posteriormente las bolsas fueron transferidas a la sala de secado y extracción, misma que cuenta con equipos de deshumidificación y una temperatura de 26 ± 2 °C, donde se mantuvieron hasta que los conidios registraran una humedad $<10\%$. Para realizar la extracción de los conidios se utilizó el extractor automático Mycoharvester[™]MMH5 por periodos de 5 minutos.

A los conidios obtenidos en cada uno de los tratamientos se les realizó pruebas de control de calidad: concentración de conidios por gramo y el porcentaje de germinación de conidios; posteriormente se formularon en espora libre y polvo humectable (Celite 400), se conservaron a 4 °C y se evaluaron cada 15 días para monitorear el porcentaje de germinación hasta que el nivel de $\leq 80\%$ conforme los estándares internacionales que marcan las pruebas en control de calidad de hongos entomopatógenos. El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo bifactorial con cinco repeticiones, el factor A) cepas, el factor B) modificación de atmosferas. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), los datos fueron procesados con el paquete estadístico SAS (2002).

Resultados y discusión

La modificación de la atmosfera con la inyección de aire y oxígeno al 26% para la producción de conidios evidenció distintos comportamientos en las cuatro cepas de hongos entomopatógenos empleados en este estudio (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentración de conidios/gramo y concentración total (conidios obtenidos en un kilo de sustrato sólido).

Cepa	Tradicional	Concentración Total	Aire	Concentración Total	Oxígeno	Concentración Total
CHE-CNRCB 305	7.48×10^{10}	1.91×10^{12}	3.45×10^9	6.13×10^{13}	8.70×10^9	1.20×10^{11}
CHE-CNRCB 307	1.20×10^{11}	2.27×10^{12}	7.42×10^9	5.26×10^{13}	6.83×10^9	2.02×10^{11}
CHE-CNRCB 303	1.16×10^{11}	1.14×10^{12}	2.85×10^9	1.82×10^{13}	7.88×10^9	8.96×10^{10}
CHE-CNRCB 224	1.17×10^{11}	1.71×10^{12}	6.13×10^9	4.03×10^{13}	9.56×10^{10}	2.34×10^{12}

Los tres aislados de *Isaria fumosorosea*, a pesar de ser una especie en común, mostraron comportamientos diferentes entre sí, no obstante las tres cepas tuvieron respuesta favorable a la inyección de aire. Comparado los tratamientos con la producción tradicional, se registra un



incremento en la cepa CHE-CNRCB 303 de 6.5 gr de conidios/kg de sustrato, mientras que CHE-CNRCB 305, 6.5 gr de conidios/kg de sustrato; la cepa CHE-CNRCB 307 con 4 gr y la cepa CHE-CNRCB 224 tuvo 8.9 gr de conidios por kilogramos de sustrato. Para el caso de las bolsas con oxígeno al 26 %, la cepa CHE-CNRCB 307 registró la mayor producción con 29.66 gr de conidios/kg de sustrato sólido; la menor producción se observa en la cepa CHE-CNRCB 303 con 11.38 gr conidios/kg de sustrato sólido (Fig. 1).

Las cepas de *Isaria* en especial el aislamiento CHE-CNRCB 305 fue la que registró una mayor producción de conidios en el tratamiento tradicional (25.52 gr de conidios/kg de sustrato) y con la inyección de aire (32.04 gr de conidios/kg de sustrato), en la inyección de oxígeno tuvo un decremento en la producción de conidios (solo obtuvo 13.78 gr de conidios/kg de sustrato), esto concuerda con investigación realizada por Miranda-Hernández *et al.* (2014) quienes trabajaron con dos cepas de *Isaria* en las que observaron un comportamiento similar a nuestras cepas, debido a que una sus cepas en atmosfera normal produjo 4.72 conidios/cm², sin embargo con la inyección de oxígeno tuvo un decremento del 50 % (2.21 conidios/cm²). Con respecto a la cepa CHE-CNRCB 307 fue la que mejor respondió a la inyección de oxígeno su producción se incrementó en promedio 10.64 gr de conidios/kg de sustrato, y la cepa CHE-CNRCB 303 fue la que menor producción registro (11.38 gr de conidios/kg de sustrato), sin embargo tuvo un incremento de 16.1 gr de conidios/kg de sustrato en la producción con la inyección aire; Rangel *et al.* (2005) mencionan que cada aislamiento reaccionará diferente de acuerdo al stress osmótico o nutricional al que se someta.

Para el caso de la cepa CHE-CNRCB 224 de *M. anisopliae*, registro un incremento de 0.98 gr de conidios por kg de sustrato en la producción de conidios con las dos atmosferas modificadas, lo cual contrasta con lo obtenido por Tecuítl-Beristain *et al.* (2010), ellos obtuvieron el doble en cantidad de conidios con oxígeno al 26%.

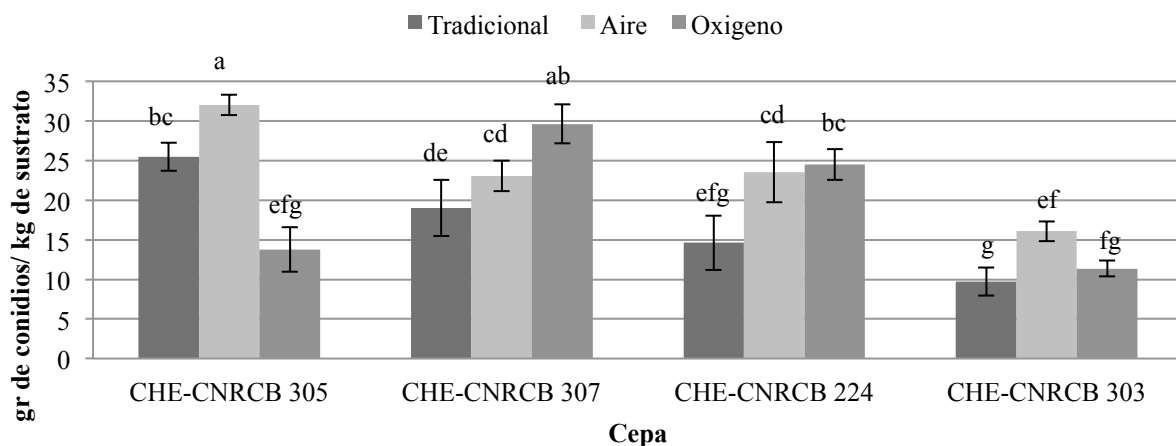
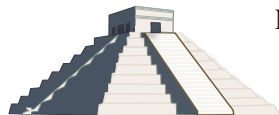


Figura 1.- Comparativo de producción de conidios en el tratamiento tradicional, aire y oxígeno de cada una de cepas. Tukey (p= 0.05); El error estándar se muestra en líneas arriba de las barras; el coeficiente de variación es 11.98.



Con los resultados obtenidos en esta evaluación con las cepas de *Isaria* se coincide con lo señalado por Miranda-Hernández *et al.* (2014), quienes concluyen que cada aislamiento/cepa de interés para la producción masiva debe ser sometida a evaluación en una atmósfera hiperoxidante para determinar si este medio incrementa o reduce su producción, debido a que la estructura bioquímica de cada aislamiento/cepa es diferente independientemente de que pertenezcan a la misma especie.

El porcentaje de germinación no se vio afectado por el origen de la producción de conidios (Cuadro 2 y 3), lo cual concuerda con Miranda-Hernández *et al.* (2012) quienes realizaron pruebas de viabilidad a conidios de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* producidos bajo pulsos de oxígeno.

Cuadro 2.- Resultados de monitoreo del porcentaje de germinación de conidios formulados en espora libre conservados a 4°C.

Espora libre	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
Tradicional												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	87.2	86.4	85.8	84.8	83.4	82.6	81.4	80.0	---	---	---	---
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	94.6	93.6	92.6	91.6	89.4	88.6	86.6	84.0	83.0	82	80	
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	94.8	93.6	92.6	91.6	88.0	87.0	86.6	85.0	84.4	83	81	80
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	87.8	87.0	86.4	85.0	84.4	83.6	82.4	81.0	80.0	---	---	---
Aire												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	89.0	88.8	88.4	87.9	86.4	85.4	84.0	82.6	81.0	80.0	---	---
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	88.8	88.8	88.0	87.2	86.0	84.6	83.0	81.0	80.0	---	---	---
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	91.8	91.6	90.6	89.0	87.0	85.4	84.2	82.6	81.4	80.0	---	---
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	88.4	88.4	88.0	87.5	85.0	83.4	82.6	81.0	80.0	---	---	---
Oxígeno												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	88.7	88.3	88.1	87.6	86.6	84.0	83.0	82.0	80.0	---	---	---
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	88.4	88.4	88.0	87.5	85.4	84.2	82.6	81.4	80.0	---	---	---
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	89.8	88.7	88.0	86.8	85.0	84.4	83.0	81.0	80.0	---	---	---
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	87.8	87.0	86.4	85.0	84.2	82.6	81.4	80.0	---	---	---	---

Cuadro 3.- Resultados de monitoreo del porcentaje de germinación de conidios formulados en polvo humectable (Celite 400) conservados a 4°C.

Formulado	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
Tradicional												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	84.6	83.8	82.9	81.8	80.0	---	---	---	---	---	---	
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	92.2	91.2	90.2	89.2	88.0	87.0	86.6	85.0	84.4	83.0	81.0	80.0
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	92.2	91.2	90.2	89.2	88.6	87.5	86.6	85.4	84.4	83.0	81.0	80.0
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	84.8	83.8	82.9	81.8	80.0	---	---	---	---	---	---	
Aire												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	88.7	88.3	88.1	87.6	86.0	85.0	84.2	83.0	82.0	81.0	80.0	
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	88.2	87.6	87.2	86.2	85.0	84.0	82.0	81.0	80.0	---	---	
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	89.8	88.7	88.0	86.8	85.0	84.4	83.0	81.0	79.0	---	---	
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	87.2	87.2	87.1	86.4	85.0	83.6	82.0	80.0	---	---	---	
Oxígeno												
CHE-CNRCB 303 = [Pf15]	88.1	88.0	87.6	86.8	84.0	83.0	82.5	81.0	80.0	---	---	
CHE-CNRCB 305 = [Pf17]	87.2	87.2	87.1	86.4	85.0	84.0	83.4	82.0	81.0	80.0	---	
CHE-CNRCB 307 = [Pf21]	88.8	88.8	88.0	87.2	86.0	85.0	84.5	83.2	82.0	80.0	---	
CHE-CNRCB 224 = [Ma59]	84.8	83.8	82.9	81.8	80.0	---	---	---	---	---	---	



Conclusiones

El aislamiento que mejor respondió a la inyección de aire fue el CHE-CNRCB 305 con 32.04 gr de conidios/kg de sustrato. Comparando con la producción tradicional se observa un incremento de 6.52 gr de conidios/kg de sustrato.

Con la inyección de oxígeno se registró un incremento en la producción de conidios en las cepas CHE-CNRCB 307 y CHE-CNRCB 224, con 10.64 y 9.88 gr de conidios/kg de sustrato respectivamente.

El porcentaje de germinación en las formulaciones de todos los tratamientos se mantuvo por más de 75 días por arriba del 80% de conidios germinados.

Con base en los resultados obtenidos, la inyección de aire puede ser aplicada en la producción masiva de las cepas de hongos entomopatógenos utilizadas para el programa federal de control biológico de *D. citri*.

Literatura citada

- Bhanu Prakash, G.V.S., V. Padmaja y R.R. Siva Kiran. 2008. Statistical optimization of process variables for the large-scale production of *Metarhizium anisopliae*. *Bioresource Technology* 99:1530-1537.
- Devi, P.S., A. Chowdary y Y.G. Prasad. 2001. Cost-effective multiplication of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson. *Mycopathologia*.151:35-39.
- Faria, M.R. y S.P. Wraight. 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A compressive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological control* 43:237-256.
- García-Ortiz, N., O. Loera-Corral, S. Tlecuítl-Beristain y E. Favela-Torres. 2012. Producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* en atmosferas oxidantes. pp. 176-179 *En Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico*. Puebla, México. BUAP, SMCB.
- Hernández Velázquez, V.M., E. Garza González y A. M. Berlanga Padilla. 1995. Control microbial de mosquitas blancas con *Paecilomyces* spp. en México, pp: 29-36. *En: Anónimo* (ed.), Memoria del simposio sobre control biológico de mosquita blanca. XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. Tapachula, Chis. CNRCB, SMCB y Colegio de la Frontera Sur.
- Miranda-Hernández, F., G. Saucedo-Castañeda, R. Alatorre-Rosas y O. Loera. 2014. Oxygen-rich culture conditions enhance the conidial infectivity and the quality of two strains of *Isaria fumosorosea* for potentially improved biocontrol processes. *Pest Management Science*.70:661-666.
- Miranda-Hernández, F., R. Alatorre-Rosas, G. Saucedo-Castañeda y O. Loera-Corral. 2012. Pulsos de oxígeno enriquecido afectan diferencialmente la calidad de conidios de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*. pp 169-172. *En Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico*. Puebla, México. BUAP, SMCB.
- Rangel, D.E.N., G.U.L. Braga, A.J. Anderson y D.W. Roberts. 2005. Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. *J. Invertebrate Pathology*. 88:116-125.
- Sahayaraj, K. y S. Namasivayam. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. *Afr J Biotechnol* 7:1907-1910.
- SAS/STAT. 2002. Versión 9.2 Carry, NC. SAS Institute Inc. USA.
- Tlecuítl-Beristain, S., G. Viniegra-González, G. Díaz-Godínez y O. Loera. 2010. Medium selection and effect of higher oxygen concentration pulses on *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* conidial production and quality. *Mycopathologia*. 5:387-394.



DISTRIBUCIÓN NATURAL DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELO DE USO AGRÍCOLA EN LOS MUNICIPIOS DE ZACUALTIPÁN Y FRANCISCO I. MADERO DEL ESTADO DE HIDALGO.

Jorge San-Juan Lara^{1*}, María de Jesús González-Barrera², Itzcóatl Ordoñez-Lozano², Argelia Ramírez-Sanjuán¹
¹Ingeniería en Agrotecnología. Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Carretera Tepatepec, San Juan Tepa Km. 2, Francisco I. Madero, Hidalgo, México. C.P. 42660. ²Departamento de Recursos Naturales. Universidad Tecnológica de la Sierra Hidalguense. Carretera México-Tampico Km100 tramo Pachuca-Huejutla, Zacualtipán de Angeles, Hidalgo. C.P. 43200. teotsintli@gmail.com*

Resumen: La colecta de las muestras de suelo se llevó a cabo en suelo de uso agrícola de los municipios de Zacualtipán y Francisco I. Madero del Estado de Hidalgo, se colectaron 140 submuestras a 5 cm de profundidad de la capa arable del suelo, cada submuestra tuvo un peso de 50 g de suelo, posteriormente se les agregó agua sin llegar a saturación, se incubaron 5 larvas de *Tenebrio molitor* como insectos cebo obteniendo un total de 350 larvas por lote. De las 700 larvas incubadas en 140 submuestras colectadas en los dos sitios agrícolas bajo estudio, 262 (74.8%) larvas murieron por infección para el lote Zacualtipán y 110 (31.4%) larvas muertas en el lote Francisco I. Madero, siendo el lote de Zacualtipán en donde hubo una mayor mortalidad de larvas infectadas por microorganismos. Los hongos tanto entomopatógenos como saprófitos fueron los que ocasionaron mayor mortalidad en larvas de *T. molitor* con respecto a los virus, bacterias y nemátodos. Los hongos entomopatógenos fueron los más prevalentes comparado con los saprófitos. De los patógenos a insectos *Metarhizium anisopliae* fue el más abundante en los dos sitios agrícolas (31%), seguido de *Beauveria bassiana* (8.6%), *Lecanicillium sp.* (5.1%) y *Paecilomyces sp.* (0.4%).

Palabras clave: Distribución, entomopatógenos, suelo, infección.

Introducción

El uso excesivo de plaguicidas provoca efectos negativos en el suelo, el agua y el ambiente, además ha contribuido a aumentar los problemas de plagas debido al desarrollo de resistencia y a la destrucción de los enemigos naturales (Monzón, 2001). Es por eso que se buscan otras alternativas para mitigar poblaciones de insectos plaga y una de ellas es el uso de los microorganismos entomopatógenos que son cualquier agente biótico, normalmente microscópico que origina enfermedad en artrópodos (Cabello, 2006). Los microorganismos entomopatógenos se clasifican en virus, hongos, nematodos, protozoos y bacterias, lo cual, constituyen uno de los grupos de mayor importancia en el control biológico de insectos. Ciertos insectos son susceptibles al ataque de hongos entomopatógenos, de forma natural, incluyendo algunos que se comportan como plagas en la producción agrícola. Estos hongos entomopatógenos son muy específicos y no atacan a las plantas ni otros animales. Los hongos se encuentran asociados con insectos que viven en diversos hábitats, como el agua, suelo y partes aéreas (Carruthers y Hural, 1990). Actualmente se tienen registradas más de 700 especies de hongos que pueden afectar diversas especies de insectos y ácaros en distintos ambientes y plantas. Es importante señalar que



alrededor del 80% de las enfermedades de los insectos son causadas por hongos. (Gómez, 2008). Se conocen aproximadamente 90 especies de bacterias causantes de enfermedades infecciosas en los insectos, de las cuales sólo algunas pocas tienen un alto potencial como agentes de control biológico (Cloutier y Cloutier, 1992). Los principales géneros con especies entomopatógenas son *Bacillus*, *Paenibacillus* y *Clostridium* (Cloutier y Cloutier, 1992). Los virus son patógenos obligados pero no son considerados como genuinos microorganismos de vida libre. Actualmente, se conocen más de 1.600 virus patógenos de invertebrados que afectan a un importante número de especies, la mayoría de las cuales son insectos pertenecientes a 13 órdenes distintos (Caballero, 2002). Los nemátodos entomopatógenos miden alrededor de 0.5 mm de largo. Los estadios juveniles parasitan a sus hospedantes, penetrando directamente la cutícula o a través de las aperturas naturales como los espiráculos; las bacterias que se introducen junto con el parásito se multiplican rápidamente y matan al hospedante, permitiendo que los nematodos crezcan y maduren sobre el tejido en descomposición, y convirtiéndose posteriormente en adultos. Después de una a dos semanas posteriores a la invasión del hospedante, aparece una nueva generación de estadios infectivos (Kaya y Gaugler, 1993). Conocer la importancia y la distribución de los microorganismos entomopatógenos es vital por lo anterior el objetivo del presente trabajo de investigación fue analizar la distribución de los microorganismos entomopatógenos en suelos de uso agrícola en los municipios de Zacualtipán y Francisco I. Madero del estado de Hidalgo.

Materiales y métodos

Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en 2 lotes agrícolas ubicados en Zacualtipán (20° 38' 36.9234" N, 98° 39' 39.4776" W) y Francisco I. Madero (20° 13' 48.1368" N, 99° 5' 22.3764" W) del Estado de Hidalgo.

Colecta de muestras de suelo

En Mayo del 2014 se realizó la colecta de las muestras de suelo. En cada lote se tomaron 10 muestras a 5 cm de profundidad de la superficie del suelo, cada muestra tuvo un peso de 1 kg, posteriormente en el laboratorio las muestras fueron cribadas para eliminar terrones y materia orgánica. Cada muestra se subdividió 7 veces, cada submuestra tuvo un peso de 50 g y se vertieron en vasos de plástico con capacidad de 100 ml, después de la criba se le agregó entre 5 a 15 ml de agua esterilizada para humedecer el suelo sin llegar a punto de saturación. Finalmente se dejaron reposar por 2 horas a temperatura ambiente.

Aislamiento de microorganismos

Se utilizó la técnica del insecto cebo (Zimmermann, 1986) para el trapeo de microorganismos entomopatógenos en suelo. Se incubaron 5 larvas de *Tenebrio molitor* por vaso. Las muestras fueron examinadas todos los días durante un mes. Cuando la larva presentó síntomas de infección fue retirada del vaso y lavada dos o tres veces con agua destilada y cloro al 1%, una vez



desinfectada la larva se incubó en un vaso de 20 ml con algodón húmedo para permitir el desarrollo del hongo entomopatógeno o microorganismo entomopatógeno, en el caso de los nematodos se incubaron en cajas petri con papel húmedo para permitir su desplazamiento y supervivencia. Para el caso de los hongos entomopatógenos cuando presentaron esporulación se aislaron en medio de cultivo Agar dextrosa sabouraud (ADS), posteriormente los aislamientos se resembraron para su purificación. La identificación de los entomopatógenos se realizó mediante el uso de claves taxonómicas propuestas por Humber (1997) y Weiser (1969).

Análisis de datos

Los datos obtenidos del porcentaje de larvas muertas por infección, por microorganismos entomopatógenos, por sitios de muestreo, por hongos en general y por hongos entomopatógenos fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la comparación de medias mediante la prueba de bonferroni utilizando SAS 9.0.

Resultados y discusión

De las 700 larvas incubadas en 140 submuestras obtenidas de las 20 muestras colectadas en los dos sitios agrícolas bajo estudio 262 (74.8%) larvas murieron por infección en muestras colectadas en Zacualtipán y 110 (31.4%) larvas muertas en Francisco I. Madero (Figura 1). El porcentaje de larvas muertas por infección de microorganismos en los dos sitios agrícolas mostraron diferencias significativas ($X^2= 43.1 < 0.0001$; $p < 0.0001$) (Figura 1). Respecto a la mortalidad por microorganismos entomopatógenos hubo diferencias significativas ($X^2=188.7 < 0.0001$; $p=0.0001$) siendo hongos los que ocasionaron mayor mortalidad con 320 (45.7%) larvas muertas por infección (Figura 2), dichos datos coinciden con lo reportado por Quesada-Moraga y autores en 2007 quienes colectaron 244 muestras de suelo de estos en 175 muestras fueron aislados hongos entomopatógenos. El porcentaje de larvas de *T. molitor* infectadas por hongos entomopatógenos y saprofitos en las muestras colectadas de los dos sitios agrícolas hubo diferencias significativas ($X^2= 263.3 < 0.0001$; $p < .0001$), *Metarhizium anisopliae* fue el más abundante con 217 larvas infectadas por este microorganismo (Figura 3), *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium* sp. fueron estadísticamente similares en la infección de larvas muertas (8.6% y 5.1%), así también, *Paecilomyces* sp., *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. no mostraron diferencias con la infección de larvas muertas (0.4, 0.3 y 0.1 %). Bing y Xing en 2007 reportaron el aislamiento de 377 hongos pertenecientes a 46 especies y 27 géneros identificados, de estos, 6 especies eran patógenos a insectos, 21 eran patógenos oportunistas y 19 colonizadores secundarios. Los hongos entomopatógenos fueron los más prevalentes, *Paecilomyces farinosus*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Hyphomycetes) fueron las especies más comunes con 19,6%, 14,1% y 10,6% respectivamente. Los patógenos oportunistas también tuvieron altas ocurrencias en el suelo con una frecuencia de hasta 36,9%. Entre los hongos oportunistas, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Geomyces pannorum*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata* y una especie de *Fusarium* sp no identificado.



Comparando la distribución de microorganismos entomopatógenos en los dos sitios de muestreo los resultados muestran diferencias significativas (Figura 4), siendo Zacualtipán el que presentó mayor abundancia de microorganismos entomopatógenos en hongos ($X^2=30.06<0.0001$; $p<0.0001$), virus ($X^2=4.6<0.0319$; $p<0.0242$) y nemátodos ($X^2=15.0<0.0001$; $p<0.0003$) mientras que para el caso de bacterias para Zacualtipán y Francisco I. Madero no mostraron diferencias significativas ($X^2= 3.30<0.0692$; $p<0.0601$). El porcentaje de larvas infectadas de *T. molitor* por hongos entomopatógenos y saprofitos por lote de muestreo muestran diferencias significativas para *Metarhizium anisopliae* ($X^2=18.3<0.0001$; $p<0.0001$), *Beauveria bassiana* ($X^2=3.73<0.0531$; $p<0.0449$) y *Lecanicillium* sp. ($X^2=20.75<0.0001$; $p<0.0001$) siendo Zacualtipán el sitio con mayor abundancia que Francisco I. Madero (Figura 5 y 6) mientras que *Paecilomyces* sp. ($X^2=3.04<0.08$; $p<0.0810$), *Aspergillus* sp. ($X^2=0.0000<1.0000$; $p<1.0000$) y *Penicillium* sp. ($X^2=0.9 <0.3243$; $p<0.3261$) fueron estadísticamente similares en la infección de larvas para ambos sitios agrícolas.

La mayoría de los reportes indican que los hongos entomopatógenos son menos frecuentes en suelos con manejo intensivo (agrícolas) que en suelos forestales (Vanninen *et al*, 1989; Vanninen, 1995; Chandler *et al*, 1997; Balazy, 2004). Los hongos entomopatógenos se encuentran comúnmente en el suelo y en la hojarasca de los bosques en todo el mundo, sin embargo, en los bosques templados la diversidad de hongos entomopatógenos es relativamente baja en comparación con los hábitats tropicales (Evans, 1982; Grunde-Cimerman *et al*, 1998; Aung *et al*, 2008). Sin embargo, en comparación con las zonas agrícolas la diversidad de hongos entomopatógenos en los bosques templados es bastante alto (Sosnowska *et al.*, 2004).

Los resultados del presente trabajo indican claramente que los microorganismos entomopatógenos se encuentran distribuidos en los suelos agrícolas de manera natural y que pueden ser utilizados en programas de MIP (Manejo integrado de plagas) con éxito en el futuro.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Politécnica de Francisco I. Madero por el soporte económico y las facilidades brindadas en la realización del presente trabajo de investigación.

Bibliografía

- Aung, O.M., Soyong, K. & Hyde, K.D. 2008. Diversity of entomopathogenic fungi in rainforests of Chiang Mai Province, Thailand. *Fungal Diversity*. 30: 15-22.
- Balazy, S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych [Significance of protected areas for the preservation of entomopathogenic fungi]. *Kosmos*, Vol. 53, No. 1, pp. 5-16.
- Bing DS, Xing ZL. 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology* 39: 100-108.
- Cabello, T. 2006. En línea. Entomopatógenos y sus características. http://www.ual.es/personal/tcabello/Temario_s/CBTema06Web.pdf Consulta: 8 de Mayo del 2014.
- Chandler, D.; Hay, D. & Reid, A.P. 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Applied Soil Ecology*. 5 (2): 133-141.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Cloutier, C. y C. Cloutier. 1992. Les solutions biologique de lutte puor la repression des insectes et acarines ravageurs des cultures, Chapitre 2. *En: La Lutte Biologique*. C. Vincent et D. Coderre (Eds.). Tec & Doc Lavoisier, Québec, Canada. p. 33.
- Evans, H.C. 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. *Ecological Entomology*. 7(1): 47–60.
- Grunde-Cimerman, N.; Zalar, P. & Jerm, S. 1998. Mycoflora of cave cricket *Troglophilus neglectus* cadavers. *Mycopathologia*. 144(2): 111–114.
- Humber, RA. 1997. Fungi: Identification. In: Lacey LA, editor. *Manual of Techniques in Insect Pathology*. pp. 153-185. Academic Press.
- Kaya, H. K. y Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes', *Annual Review of Entomology*. 38: 181–206.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Costa Rica* . 63: 95-103.
- Quesada-Moraga E., Navas-Cortes J.A., Maranhao E.A.A., Ortiz-Urquiza A., Santiago- Alvarez C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research* 111: 947-966.
- Rodríguez del Bosque L. A. y Arredondo Bernal, H. C. 2007. Teoría y aplicación del control biológico. p 134-185. México, D.F.
- SAS Institute Inc. 2011. Base SAS® 9.3 Procedures Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sosnowska, D.; Balazy, S.; Prishchepa, L. & Mikulskaya, N. (2004). Biodiversity of Arthropod Pathogens in the Białowieza Forest. *Journal of Plant Protection Research*. 44(4): 313-321.
- Vänninen, I. 1995. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat type and soil type. *Mycological Research*. 100 (1): 93–101.
- Vänninen, I.; Husberg, G.-B. & Hokkanen, H.M.T. 1989. Occurrence of entomopathogenic fungi and entomopathogenic nematodes in cultivated soils in Finland. *Acta Entomologica Fennica*. 53: 65–71.
- Weiser, J. 1969. An atlas of insect. Shannon: Irish University Press.
- Zimmermann G. 1986. The "Galleria bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*. 102: 213-215.



ANEXO GRÁFICAS

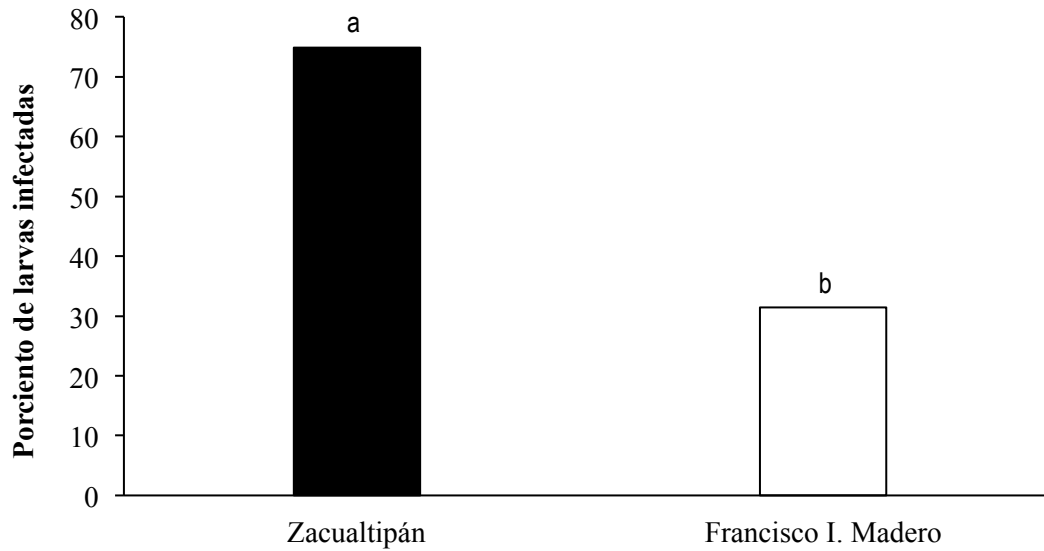


Figura 1. Porcentaje de larvas de *T. molitor* muertas por infección en suelo agrícola de dos sitios de muestreo en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).



Figura 2. Porcentaje de larvas (*T. molitor*) infectadas por microorganismos entomopatógenos en suelo agrícola en los dos sitios de muestreo del estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).

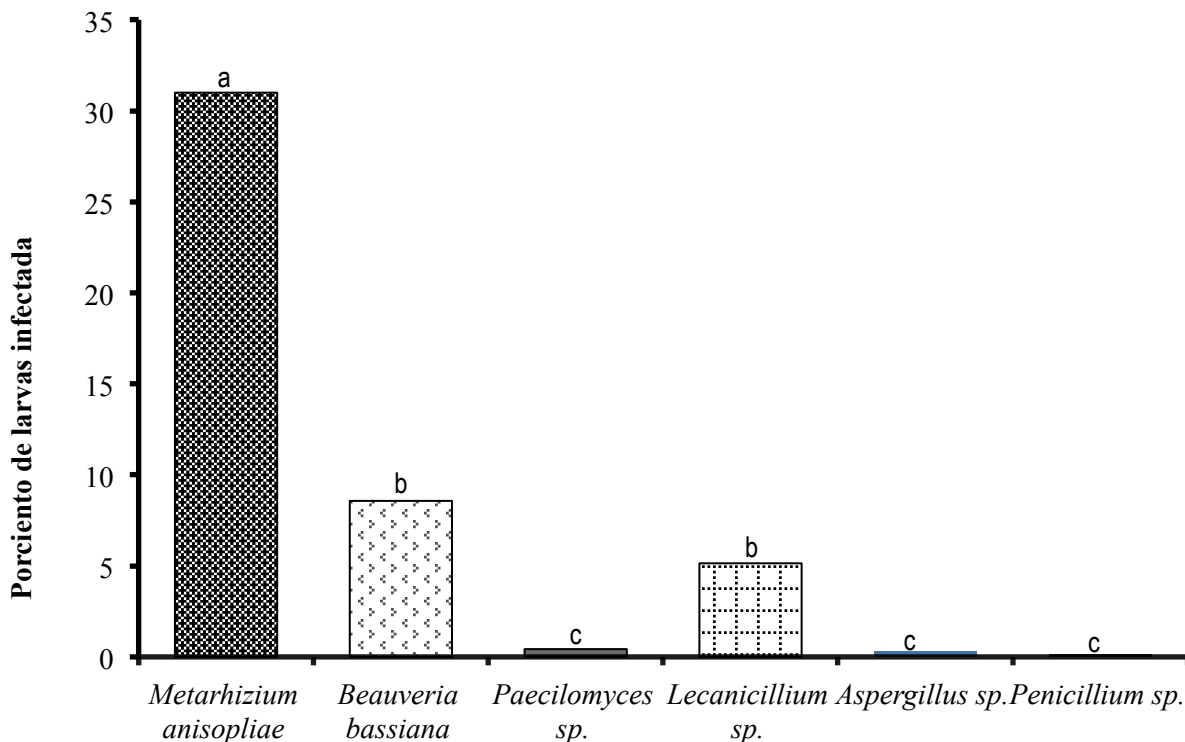


Figura 3. Porcentaje de larvas *T. monitor* infectadas por hongos en suelos agrícolas en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).

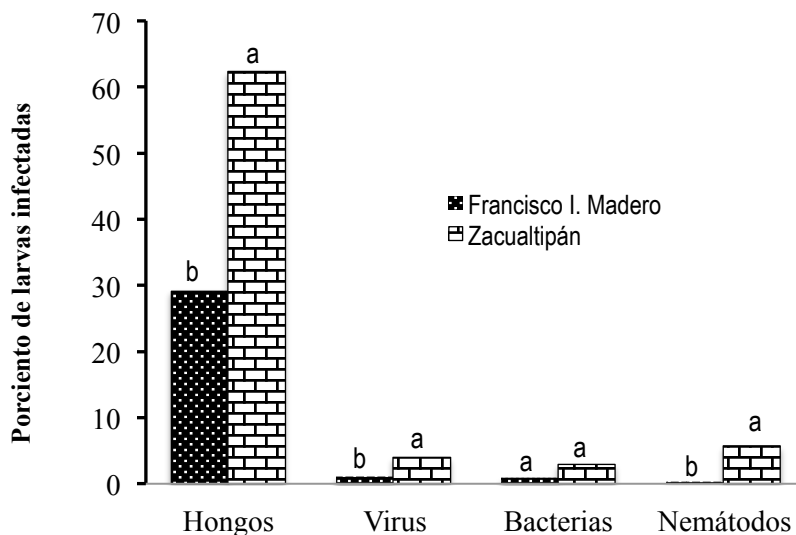


Figura 4. Porcentaje de larvas *T. molitor* infectadas por microorganismos entomopatógenos en suelos agrícolas de dos sitios de muestreo en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).

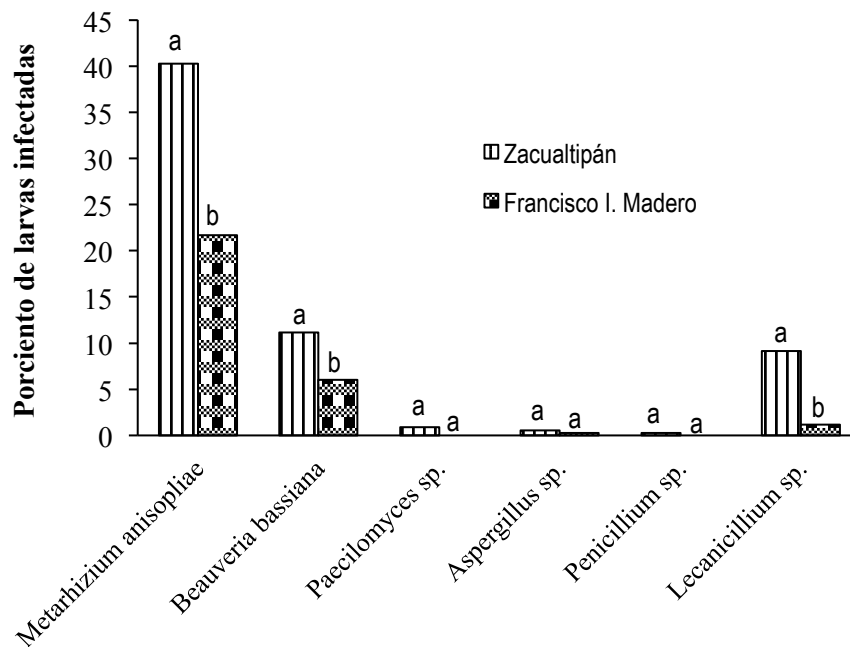


Figura 5. Porcentaje de larvas *T. molitor* infectadas por hongos entomopatógenos y hongos saprofitos en suelo agrícola de dos sitios de muestreo en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).

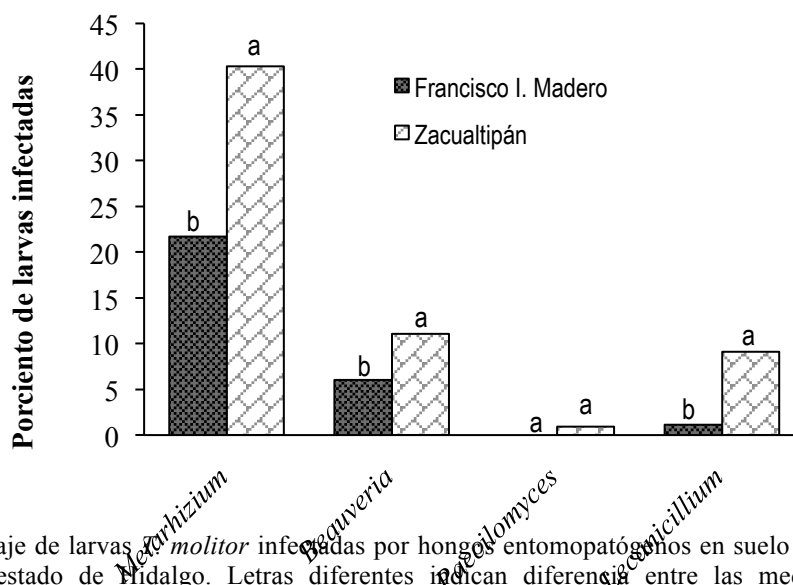


Figura 6. Porcentaje de larvas *T. molitor* infectadas por hongos entomopatógenos en suelo agrícola de dos sitios de muestreo en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p=0.05$).



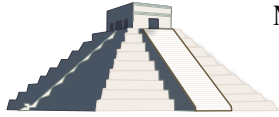
INTERACCIÓN DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. Y *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN CON INSECTICIDAS EN LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Maribel Rivero-Borja, Alejandro Pérez-Panduro, Ariel W. Guzmán-Franco y Esteban Rodríguez-Leyva. Posgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230. m_riveroborja@hotmail.com

Resumen. El gusano cogollero, *S. frugiperda*, es una de las plagas más importantes del maíz en México y Centroamérica. Su manejo con insecticidas implica riesgos para el ambiente y la salud de los trabajadores agrícolas, mientras que el uso de hongos entomopatógenos ha reportado baja eficiencia. Lo anterior motiva a estudiar la interacción entre estos agentes de manejo para buscar sinergia entre ellos. A través de bioensayos de dosis-respuesta se determinó la CL_{50} de cuatro insecticidas para larvas de tercer ínstar del gusano cogollero, posteriormente se evaluó el impacto de esas dosis en la germinación de esporas de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Finalmente, la CL_{50} de dos insecticidas, los menos agresivos con los hongos, se combinaron con una suspensión de conidios (1×10^8 /mL) en tres variantes de aplicación: primero hongos y después (a las 24 h), insecticidas; en la segunda, primero insecticidas y después hongos y en la tercera, ambos se aplicaron simultáneamente. Las cepas Bb88 (de *B. bassiana*) y ETL (de *M. anisopliae*) causaron mortalidad con esporulación en 0.86 y 0.32% de los individuos tratados, respectivamente, mientras que su aplicación simultánea con clorpirifos etil produjo mortalidad con esporulación en 40.3 y 38.7%, respectivamente y, su combinación con spinosad, en 47.6 y 32%, en el mismo orden. Clorpirifos etil y spinosad solos, causaron mortalidad en 62.5 y 44%, respectivamente. Las mortalidades producidas por las combinaciones hongo-insecticida no superaron a los testigos de insecticida solo, sin embargo, la mayor frecuencia de esporulación de ambas cepas demuestra que los insecticidas redujeron la resistencia natural de *S. frugiperda* a los hongos. Si bien las mortalidades obtenidas bajo las combinaciones observadas son agrónomicamente insuficientes, es posible que integrando otras cepas en la combinación se obtengan mortalidades mayores que en los testigos de insecticida, como se ha documentado en otros sistemas biológicos.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, germinación, clorpirifos etil, spinosad, concentración letal media.

Agradecimientos. Al CONACyT por la beca otorgada para realizar los estudios de Maestría. Al Colegio de Postgraduados por el financiamiento para realizar la investigación. Al Fideicomiso No. 167304 para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico, por el apoyo al proyecto de investigación de tesis de Maestría en Ciencias.



EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOR. EN GARRAPATAS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI) EN GANADO BOVINO DE TRES MUNICIPIOS DE MICHOACÁN

Elisa Valdez-Martínez¹, Ernestina Gutiérrez-Vázquez¹, Margarita Vargas-Sandoval², Roberto Lezama-Gutiérrez³, Aureliano Juárez-Caratachea¹. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo-¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Carretera Morelia-Zinapecuaro km9.5, Tarímbaro, Michoacán, CP 58880, México. mvzelivaldez@hotmail.com; ernestinagvazquez@gmail.com.²Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Col. Viveros, Uruapan, Michoacán CP 60170, México. vargasmarga@hotmail.com.³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Apartado postal No.36, Tecomán, Colima, CP 28100, México. rlezama@uacol.mx.

Resumen. La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) produce el mayor problema global de ectoparásitos en la ganadería bovina de las regiones tropicales y subtropicales en el estado de Michoacán. Tradicionalmente el control de garrapata se basa principalmente en el uso de ixodicidas; sin embargo, su uso irracional ha propiciado la aparición de garrapatas resistentes a las principales familias de ixodicidas. Además, por la demanda de alimentos libres de residuos químicos y por el cuidado del ambiente, se sugiere la utilización de sistemas alternativos de control. En el presente trabajo se evaluó la eficacia de la cepa de *Metarhizium anisopliae* Metsch. Sor. (Ma198) en el control de garrapatas adultas (*R. (Boophilus) microplus*) en ganado bovino de razas Cebú, Brahmán, Criollo y Suizo. El tratamiento se aplicó en siete hatos de ganado infestados de modo natural con garrapatas, en los municipios de Querendaro, Indaparapeo y Tzitzio del estado de Michoacán. Los animales fueron tratados por baños de aspersión con Ma198 a una concentración de 1×10^8 conidias/ml cada 15 días, por 6 veces realizando conteo de garrapatas en 2 hatos, con 12 bovinos cada uno. Los resultados *in vivo* demostraron una disminución en la población de garrapatas. El promedio inicial general de los tres municipios fue de 106.33 garrapatas por animal y finaliza con un promedio general de 7.95 garrapatas por animal después de las seis aplicaciones, siendo notoria la disminución a partir del tercer baño.

Palabras clave: Control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*



ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE AISLADOS DE MÉXICO DEL COMPLEJO *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae)

Brunner-Mendoza Carolina A¹, Navarro-Barranco Hortensia¹, Reyes-Montes María del Rocío¹, Ayala-Zermeño Miguel Angel², Mellín-Rosas Marco A², Hernández-Velázquez Víctor M³, Toriello Conchita^{1*} ¹Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 04510, México; ²Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SAGARPA, Tecomán, Colima; ³Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos. Email: *toriello@unam.mx

Resumen. El complejo *Metarhizium anisopliae* comprende un grupo de especies estrechamente relacionadas, las cuales son patógenas de una amplia variedad de insectos. En este estudio se evaluó la ubicación filogenética de 28 aislados monospóricos de distintos estados de México y obtenidos de diferentes hospederos. Se seleccionó la región correspondiente al gen que codifica para el factor de elongación uno alfa para el análisis filogenético. El análisis resultante es consistente con estudios previos utilizando el locus EF1a. La mayoría de los aislados monospóricos de México, se agrupan con secuencias de *M. anisopliae*, aunque existen aislados que se agruparon con secuencias de *M. robertsii*.

Palabras clave: *Metarhizium anisopliae*, filogenia, EF1alfa

Introducción.

Los hongos entomopatógenos han sido una alternativa eficiente y de bajo impacto ambiental en el control de insectos plaga (Zimmermann, 2007). En particular, el hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, ha sido empleado para el control de la mosca pinta o salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en cultivos de caña de azúcar y pastizales en México (SAGAR, 1999). A pesar de la importancia de esta especie en el control biológico, han existido limitantes para determinar su clasificación y filogenia. En años recientes, Bischoff *et al.* (2009) realizaron uno de los últimos trabajos de análisis filogenético para el género *Metarhizium*, el cual se llevó a cabo con base en la secuencia casi completa de los genes que codifican para el factor de elongación uno alfa (EF1a), subunidad mayor de la RNA polimerasa II (RPB1), segunda subunidad mayor de la RNA polimerasa II (RPB2) y beta tubulina (Btub), apoyando la monofilia de nueve taxa terminales en el complejo de especies de *Metarhizium anisopliae*. Propusieron con rango de especie a *M. anisopliae*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. acridum* stat. nov., *M. lepidiotae* stat. nov. y *M. majus* stat. nov., además de describir las nuevas especies de *M. globosum* y *M. robertsii*. Debido a que las especies que integran el género *Metarhizium* han sufrido diversas clasificaciones usando sus características morfológicas así como técnicas de biología molecular para su identificación, su filogenia aún no se encuentra completamente resuelta, y menos todavía la de los aislados provenientes de México. Por lo tanto, en vista de la aplicación actual de *M. anisopliae* en cañaverales y pastizales de México, es necesario conocer su filogenia y contribuir al estudio de su diversidad genética. En este trabajo se utilizó la región parcial del gen EF1a para el inicio del análisis filogenético.



Materiales y Métodos

Aislados. Se utilizaron 28 aislados monospóricos de *M. anisopliae* de México, de diferentes insectos hospederos, provenientes de diversas colecciones, entre ellas, la del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma de Morelos. También se utilizaron cepas de referencia del género *Metarhizium* pertenecientes a las colecciones de la “Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization” (CSIRO) de Australia, y de la “Agricultural Research Service of Entomopathogenic Fungi” (ARSEF) de United States Department of Agriculture (USDA).

Extracción del DNA. Los aislados monospóricos fueron cultivados individualmente en medio líquido de extracto de levadura al 1% (Universal Flavors; México), peptona de soya al 1% (Bioxon; México) y dextrosa al 4% (Droguería Cosmopolita) (YPG) en matraces de 250 mL, e incubados en baño María con agitación a 28°C por 3 días. Para la obtención del micelio se filtró y lavó el contenido de los matraces con agua destilada estéril y posteriormente fue secado con papel filtro en campana de flujo laminar en condiciones estériles y conservado a -45°C hasta su utilización. Para el proceso de extracción se utilizó el kit DNeasy Plant Mini (Qiagen, EUA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Cuantificación de DNA. Para la cuantificación de DNA se utilizó un espectrofotómetro Epoch™ (Biotek®, US), utilizando 2 µL de DNA genómico usando las indicaciones descritas por el fabricante. Posteriormente el DNA de cada uno de los aislados de *M. anisopliae* fue diluido para la obtención de una concentración final de DNA de 10 ng/µL para su utilización durante la amplificación por PCR.

Amplificación de PCR con EF1a. Para la amplificación y secuenciación de la región 5'-EF1a los oligonucleótidos utilizados fueron: EF1T (5-ATGGGTAAGGARGACAAGAC) y EF2T (5-GGAAGTACCAGTGATCATGTT) (Rehner y Buckley 2005). En un volumen final de reacción de 25 µL, se usó un amortiguador de PCR 1X, MgCl₂ a 1.5 mM, dNTPs a 200 µM (Applied Biosystems Inc, EUA), 50 µM/µL de cada oligonucleótido, 10 ng de DNA genómico y 1 U de Taq polimerasa (Applied Biosystems). Además se utilizó un testigo negativo con todo lo anteriormente descrito excepto DNA genómico de prueba. La amplificación se realizó por Touchdown PCR (Don *et al.*, 1991), en un termociclador BioRad® T100 siguiendo el programa descrito por Bischoff *et al.* (2009). Fue necesario estandarizar algunos parámetros realizando curvas para determinar la concentración óptima de DNA (5, 10, 20, 30 ng/µL), oligonucleótidos (25, 50 100, 200 y 300 pmoles) y MgCl₂ (1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mM). Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % con GelRed (10 µg/mL) en amortiguador TBE 0.5 X (Tris-Base 45 mM, ácido bórico 45 mM, EDTA 1 mM). Aquellos que presentaron una banda del tamaño molecular esperado (1200 pb) y sin presencia de bandas inespecíficas fueron enviados a secuenciar en ambos sentidos a High Throughput Genomic Center, Seattle, WA.



Análisis de los datos moleculares. Se llevó a cabo una búsqueda *in silico* con el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) utilizando las secuencias EF1a correspondientes a los aislados monospóricos de *M. anisopliae* de México de diversos hospederos y estados de la República. Las secuencias resultantes de la búsqueda con un porcentaje de identidad $\geq 98\%$ fueron integradas al análisis. Los electroferogramas fueron analizados y las secuencias fueron editadas y alineadas con Bioedit (Biological Sequence Alignment Editor) y Mesquite v. 2.75. La hipótesis filogenética fue desarrollada por el método de Máxima Parsimonia (MP) y Máxima Verosimilitud (MV). Se utilizó el programa TNT (Tree analysis using New Technologies) con una búsqueda exacta. El soporte estadístico de las agrupaciones se comprobó mediante análisis de bootstrap estándar con 1000 réplicas y con una búsqueda tradicional. Para la edición de los árboles se utilizó FigTree (Fast Improved Gauss Transform with Tree Data Structure). Para la selección de modelos de sustitución de nucleótidos que se ajuste mejor a los datos obtenidos, se utilizó el programa Jmodeltest con un criterio de Akaike (AIC). El análisis de ML se llevó a cabo con el programa RAxML (Randomized Axelerated Maximum Likelihood).

Resultados.

Una vez estandarizadas las condiciones para la PCR se realizó la amplificación para 28 aislados de *M. anisopliae* de diferentes hospederos pero solamente se lograron obtener secuencias de 9 de ellos hasta el momento. Todos los aislados mostraron la banda de 1200 pb aproximadamente, correspondiente a la región de interés, excepto algunos aislados como el EH-469/6 (Fig. 1).

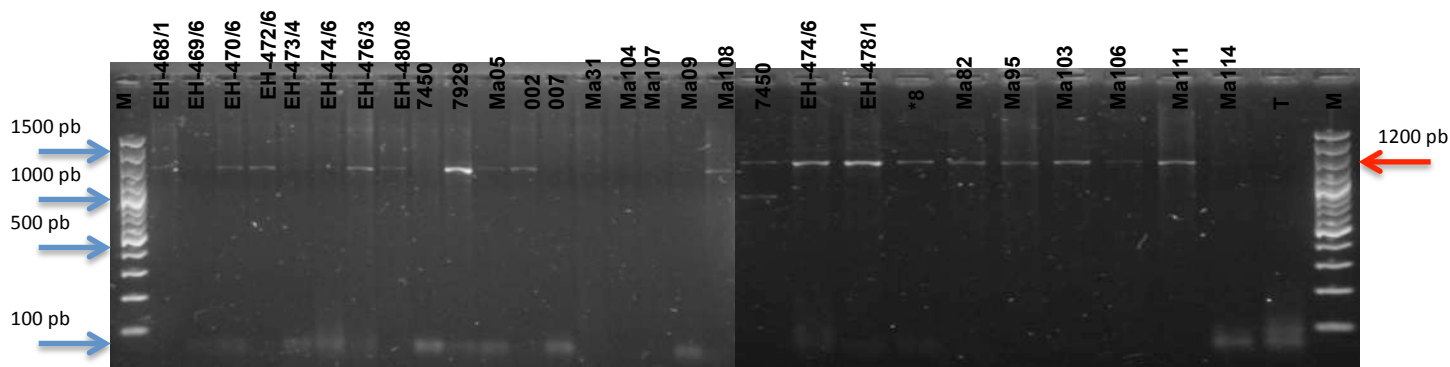


Fig. 1. Productos de PCR de los aislados de *M. anisopliae* de México con las condiciones estandarizadas para oligonucleótidos EF1T y EF2T. M = Marcador de tamaño molecular de 1500 pb; T = Testigo negativo. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1.5 % a 90 V, 80 min, con GelRed.

Los análisis por MP y por MV fueron altamente congruentes entre sí, ambos con un buen apoyo de ramas. La topología resultante es consistente con análisis previos utilizando el locus EF1a. Nueve secuencias correspondientes a aislados de *M. anisopliae* utilizando la región correspondiente al extremo 5' del EF1a, fueron utilizadas para el análisis con MP junto con algunas de las secuencias depositadas en el Genbank, las cuales fueron obtenidas por BLAST al realizar la búsqueda con secuencias correspondientes a *M. anisopliae* de México. El resultado de esta búsqueda arrojó secuencias del mismo locus y se hizo la selección con base en una identidad $\geq 98\%$. El análisis utilizando MV mostró que casi todos los aislados monospóricos de *M.*



anisopliae de México, se agruparon con las secuencias de *M. anisopliae* 7487, *M. anisopliae* 7450 y *M. anisopliae* E6 de Bischoff *et al.* (2009). El aislado Ma82/5, se agrupó con la secuencia de *M. robertsii* ARSEF 4739 publicado por Bischoff *et al.* (2009)(Fig. 2).

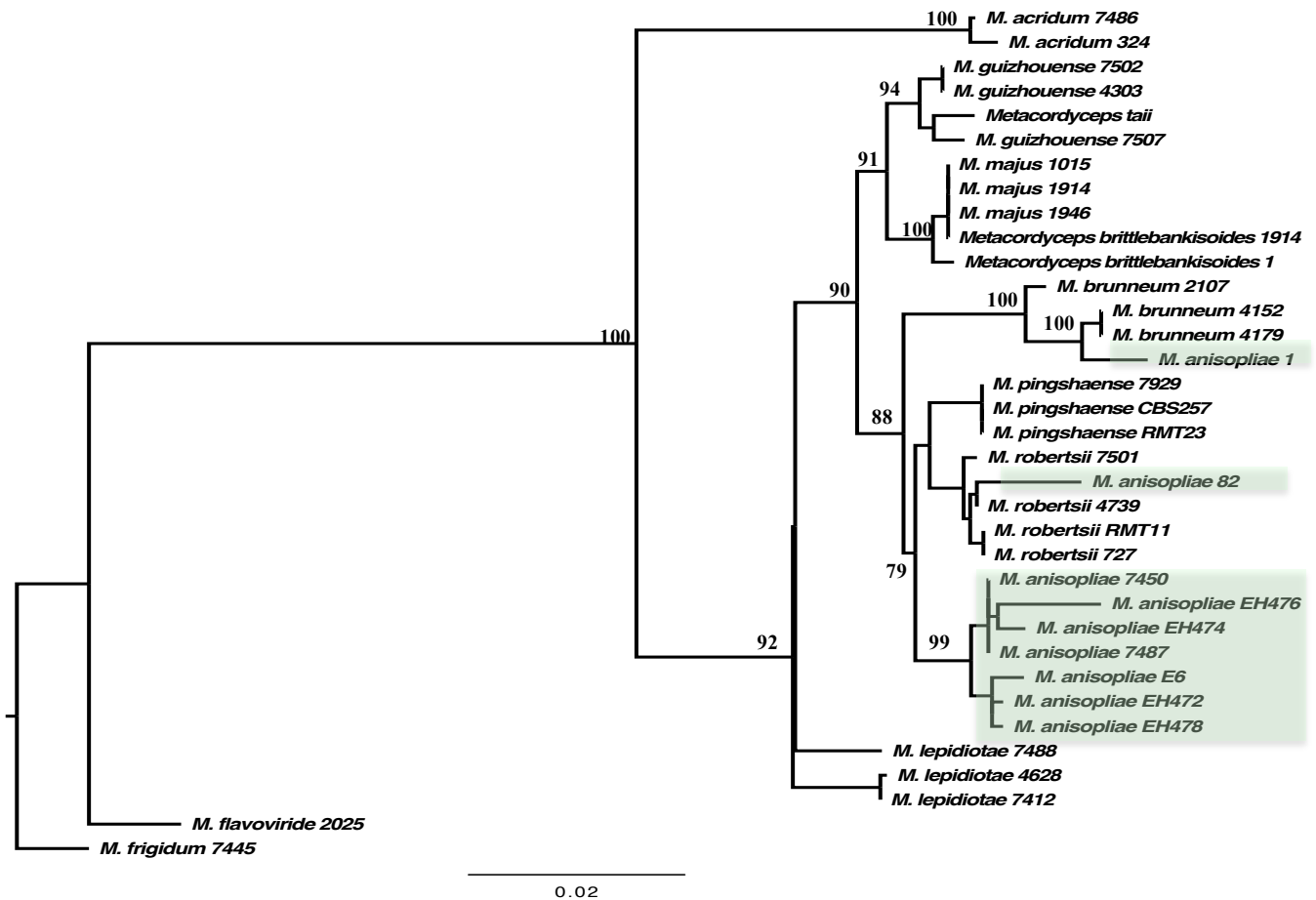


Fig. 2. Análisis filogenético con MV de la región EF1a, los números en las ramas representa los índices de soporte con base en 1000 réplicas por bootstrap. Las secuencias resaltadas corresponden a *M. anisopliae* 1(Desconocido); *M. anisopliae* 82 (*Phyllophaga*, México); *M. anisopliae* 7450 (*Coleoptera*, Australia); *M. anisopliae* EH476, EH474, EH472 y EH478 (*Aeneolamia*, México); *M. anisopliae* 7487 (*Orthoptera*, Eritrea); *M. anisopliae* E6 (Desconocido).

Discusión.

Las especies pertenecientes al complejo *M. anisopliae* son difíciles de distinguir morfológicamente, el reconocimiento de especies morfológicas tiende a subestimar el número de especies bajo un diagnóstico evolutivo. El uso del locus como el EF1a, nos permite realizar un análisis filogenético y conocer las relaciones entre especies muy cercanas, sin embargo, es necesario incluir un mayor número de loci que nos permita adoptar un criterio de concordancia filogenética para el reconocimiento de especies (Taylor *et al.*, 2000). La mayoría de los aislados utilizados en este estudio inicialmente fueron caracterizados únicamente con base en su



morfología, el realizar este tipo de análisis nos permite distinguir entre especies estrechamente relacionadas y morfológicamente indistinguibles.

Literatura citada

- Bischoff JF, Rehner SA, Humber RA. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycology* 101(4): 512-530.
- Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. 1991. "Touchdown" PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Resources* 19(14):4008.
- Rehner SA, Buckley E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97: 84-98.
- Secretaría de Agricultura (SAGAR), Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), Centro nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB). 1999. Control microbial de mosca pinta *Aeneolamia* spp. con *Metarhizium anisopliae*. Ficha técnica CB-08.
- Taylor JW, Jacobson DJ, Krokken S, Kasuga T, Geiser DM, Hibbett DS, Fisher MC. 2000. Phylogenetic Species Recognition and Species Concepts in Fungi. *Fungal Genetics and Biology* 31, 21-32
- Zimmerman G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*. 17: 879-920.



EL ESTRÉS HIDRICO EN MAIZ DISMINUYE LA EFICIENCIA DE CONTROL BIOLÓGICO DE LARVAS DEL GUSANO COGOLLERO CON UN NUCLEOPOLIEDROVIRUS

Raúl Omar Real-Santillán¹, Ek del Val-de Gortari¹, Ana Mabel Martínez-Castillo², Norma Zamora-Aviles², Trevor Williams³ y John Larsen¹. ¹Centro de Investigaciones en Ecosistemas, UNAM, Antigua Carretera a Pátzcuaro 8701 Col. Ex-hacienda de San José de La Huerta, CP. 58190 Morelia, Michoacán. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la UMSNH, Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro S/N, CP. 58880 Tarimbaro, Michoacán. ³Instituto de Ecología, Carretera antigua a Coatepec 351, CP. 91070, El Haya, Xalapa, Veracruz.
raul_omar@cieco.unam.mx

Resumen. Los baculovirus son virus entomopatógenos que infectan insectos plagas de lepidópteros como el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Pocos estudios han examinado como influyen prácticas agrícolas como la fertilización mineral y el estrés hídrico la interacción entre planta, insectos plagas y sus entomopatógenos. Por eso se realizó un experimento de invernadero sobre la interacción entre maíz, larvas del gusano cogollero y su nucleopoliedrovirus específico. Los nucleopoliedrovirus mostraron ser menos eficiente en su control biológico de larvas del gusano cogollero de las plantas bajo estrés hídrico. Por lo tanto el factor de la irrigación es posible que tenga un papel importante sobre la interacción de la planta, el virus y el insecto.

Palabras clave: Baculovirus, *Spodoptera frugiperda*, maíz, fertilización, irrigación.

Introducción

El maíz, *Zea mays* L. (Poaceae) es el cultivo de cereal más importante para la alimentación de los mexicanos por ser una fuente básica de carbohidratos. Sin embargo, este cultivo se ve amenazado por el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith L. (Lepidoptera: Noctuidae), que es la principal plaga de este cultivo en México así como en otros países del continente por su amplia distribución y por el daño que causa (Figueroa 2002). Cada vez se ha empezado a poner más atención a los baculovirus. Estos son una familia de virus que atacan insectos y que tienen un gran potencial de control de plagas (Vanarsdall *et al.* 2007), ya que no dañan al ambiente, salud de humanos y animales o a los insectos benéficos y persisten en el ambiente (Monobrullah y Nagata 1999). El objetivo del presente trabajo fue examinar cómo influyen las prácticas agrícolas fertilización e irrigación las interacciones entre maíz, *S. frugiperda* y nucleopoliedrovirus.

Materiales y métodos

Establecimiento del experimento.

Se utilizó la variedad híbrida de maíz NB9 (Novasem[®]), con un diseño experimental de tres factores: 1) irrigación con dos niveles (40% y 85% de la capacidad del campo), 2) fertilización mineral con dos niveles (con NPK y sin NPK) y 3) inoculación con el SfMNPV (con NPV y sin



NPV). Con seis repeticiones, resultando 48 unidades experimentales (2x2x2x6). Se utilizaron macetas contenían 800 g de suelo y arena de río en proporción 1:1. A los diez días del establecimiento de las plántulas se comenzó el tratamiento de irrigación con los diferentes tratamientos antes mencionados. Durante seis semanas se regó diariamente. El experimento se dividió en dos fases. En la fase a, las larvas recién eclosionadas fueron colocadas en las plantas con una malla fina de tela de tergal y se dejaron alimentándose hasta el segundo estadio. En la fase b las larvas se colectaron y fueron inoculadas con el virus *in vitro*, como se menciona abajo.

Cosecha y análisis

Al finalizar las diez semanas, las plantas que no llevaban el insecto se cosecharon (Fig. 1a), separando la parte aérea (tallos y hojas) de las raíces y se colocaron en bolsas de papel. La parte aérea se secó en un horno de la marca Fisher Scientific® durante 72 h y se peso en la balanza de la marca Ohaus®.

Colocación del insecto a las plantas

A las plantas se les colocó una malla de tela tergal francés con el tamaño del poro de 200 micrómetros (Fig. 1b). A continuación se pusieron entre 40 y 50 larvas neonatas (recién eclosionadas) aun sin alimentarse. A los cinco días que las larvas fueron aplicadas en las macetas, de los tratamientos que tenían la fertilización mineral se colectaron las larvas en L2 y en las que no tenían la fertilización se esperó hasta el día siguiente, pues las primeras llegaron antes al segundo estadio y las otras iban retrasadas por la alimentación. Por cada maceta se colectaron 12 larvas para aplicarles el virus y otras 12 que sirvieron como control.

*Inoculación del virus a *S. frugiperda**

Se usó el virus caracterizado por Escribano *et al.* (1999). Se prepararon diluciones de 1.4 mL por cada caja de cultivo 12 celdas de la marca Nunclon® (Fig. 1c). Se optó por usar la concentración de 30 OBs/mm² (mediante un prueba preliminar para encontrar la CL₅₀). En seguida se recortó un cuadrado de aproximadamente 1.5cm x 1.5cm, de las hojas para cada celda, procurando evitar la nervadura central. Las hojas se limpiaron previamente con cloro al 15%. Después las hojas se trataron con 100 µL de una solución de SDS (dodecil sulfato sódico) al 0.01% + SfMNPV (*Spodoptera frugiperda* Multinucleopoliedrovirus), con 30 cuerpos de inclusión entre mm².

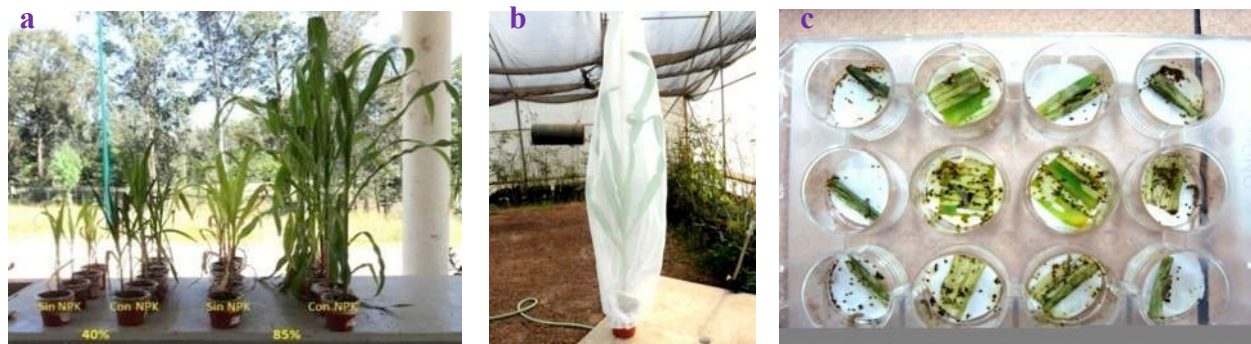


Figura 1. a) Se muestra como afectaron la irrigación y la fertilización el desempeño de las plantas, luego de diez semanas. b) Colocación de la malla de tela de tergal francés conteniendo las larvas de *S. frugiperda* recién eclosionadas. c) Larvas en la caja de celdas a los dos días de alimentarse de la hoja con virus.

Al grupo de testigo sólo se le trató con 100 μ L de SDS al 0.01%. Se colocó una larva en cada celda (Figura 1c). Cada celda fue humedecida a los dos días con 100 μ L de H₂O destilada estéril. Cuatro días después del tratamiento a todas las larvas se cambió a todas las larvas las hojas por otras limpias, y esto se repitió cada dos días. El experimento continuó por ocho días.

Análisis estadístico

Para evaluar los efectos del experimento se realizaron ANOVA de dos vías para buscar diferencias significativas entre tratamientos y se usó la prueba de Bartlett para verificación de homogeneidad de varianza y el test LSD (diferencias mínimas significativas). Para lo anterior se usó el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 de la empresa Statpoint®. Se usó el programa Polo Plus de la empresa Leora® para encontrar la CL₅₀. Para las gráficas se usó el programa SigmaPlot® de la marca Systat Software Inc. La fórmula de Abbott se usó para la mortalidad ajustada (Mushobozi *et al.* 2006).

Resultados y Discusión

Prueba preliminar para encontrar la concentración letal 50

En las cinco concentraciones de virus utilizadas (10 OBS/mm², 30 OBS/mm², 100 OBS/mm², 300 OBS/mm² y 1000 OBS/mm²), se encontraron diferencias significativas en relación a la concentración letal necesaria para matar al 50% de los insectos ($F_{4, 10} = 14.77$, $P = 0.0003$) (Figura 1a). El análisis Probit, encontró que la CL₅₀ se encontraba en 9.74 Obs/mm². Sin embargo entre la concentración que era más cercana al 50% de mortalidad y la próxima siguiente (30 OBS/mm²) no había diferencias significativas.

ortalidad larvaria



Se encontró que la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* fue significativamente afectada por la irrigación y hubo una diferencia significativa ($F_{2, 18} = 5.87, P = 0.0109$) (Figura 2a). El factor del SfMNPV y el control mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($F_{1, 18} = 59.32, P < 0.0001$) (Fig. 2b, 2c).

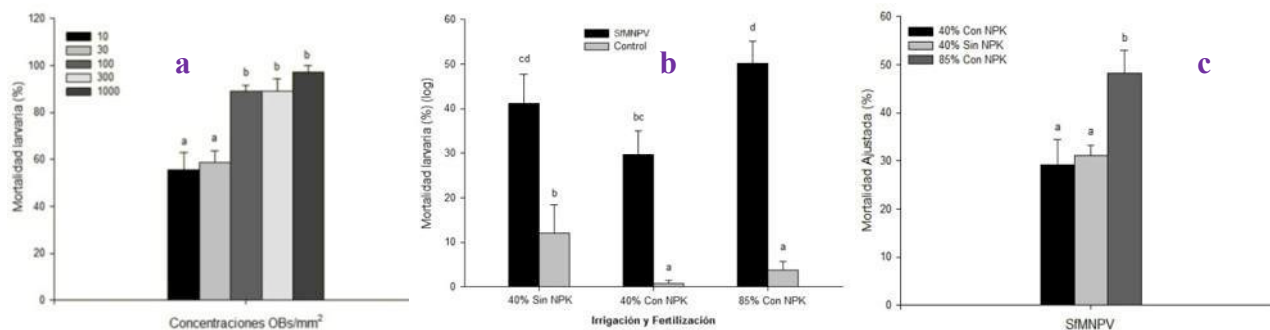


Figura 2. a) Prueba preliminar para encontrar la CL₅₀. b) Mortalidad larvária con el control. c) Mortalidad ajustada.

Las larvas tuvieron una mayor mortalidad con plantas bajo irrigación de 40% de la capacidad de campo en comparación de los otros tratamientos. Povey *et al.* (2013) demostraron la importancia de la nutrición del insecto es un factor que influye sobre los insectos inoculados con baculovirus. Por el contrario en los tratamientos sometidos a estrés hídrico, la mortalidad fue menor, incluso en presencia del fertilizante. Es probable que esto se deba a que la dispersión del virus en la hoja, no fuera homogénea, ya sea que la planta cerro sus estomas para evitar la pérdida de agua, capas cerosas que se producen para lo mismo o la influencia de los tricomas.

Conclusión

Los resultados del presente trabajo sugieren que la irrigación influye en la interacción maíz, *S. frugiperda* y baculovirus.

Por lo anterior se recomienda que para un correcto plan de manejo del gusano cogollero con entomopatógenos en cultivos, se deba tener en cuenta no solo la nutrición de las plantas sino también sus niveles de irrigación, con el fin de potenciar y tener mejores rendimientos con el producto usado.

Literatura Citada

- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D. C., Chapman, J. W. y Caballero, P. 1999. Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *Journal Economic Entomology* 92(5): 1079-1085
- Figuroa, B. R. 2002. Evaluación de extractos vegetales contra el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Tesis para obtener el Título de Maestro en Ciencias*. Facultad de Ciencias, División de estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 94



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Monobrullah, M. 2003. Optical brighteners-pathogenicity enhancers of entomopathogenic viruses. *Current Science* 84: 640-645
- Mushobozi, W., Grzywacz, D., Moscardi, F. y Wilson, K. 2006. The African armyworm *Spodoptera exempta* nucleopolyhedrovirus (NPV) production and application manual. *Natural Resources Institute*. Ministry of Agriculture and Food Security Tanzania pp. 71
- Povey, S., Cotter, S. C., Simpson, S. J. y Wilson, K. 2013. Dynamics of macronutrient self-medication and illness-induced anorexia in virally-infected insects. *Journal of Animal Ecology* 83: 245-255
- Vanarsdall, A.L., Mikhailov, V.S. y Rohrmann, G.F. 2007. Characterization of a baculovirus lacking the DBP (DNA-binding protein) gene. *Virology* 364: 475-85



CONTROL BIOLÓGICO DEL BARRENADOR PEQUEÑO, *Conotrachelus perseae* BARBER, 1919 (COLEOPTERA: CUCURLIONIDAE) DEL AGUACATE EN TEOPISCA, CHIAPAS

Felipe de Jesús Cruz-Solis¹, Adriana E. Castro-Ramírez² y **Concepción Ramírez-Salinas²**. ¹Centro Maya de Estudios Universitarios, Universidad Autónoma de Chiapas, Carretera Catazajá - Palenque km 4, 29980 Catazajá, Chiapas, México fecuso_02@hotmail.com; ²Agroecología, El Colegio de la Frontera Sur-San Cristóbal, AP 66 San Cristóbal de las Casas, Chiapas. 29200 México acastro@ecosur.mx, cramirez@ecosur.mx

Resumen. En una huerta de aguacate Hass con manejo orgánico en Teopisca, Chiapas, se identificó la especie del barrenador pequeño que reduce la producción del fruto, su biología, asimismo evaluó la acción de dos cepas nativas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, aplicado en líquido sobre el follaje y en sólido en el suelo. De febrero a junio de 2014 se realizaron muestreos mensuales, con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-2002, tanto de follaje como de suelo (área de goteo), en ellos se estimó el porcentaje de frutos dañados (con base en evidencia de oviposición), se recolectaron todos los frutos dañados y se diseccionaron en el laboratorio de Bioensayos de ECOSUR, donde se les conservó vivos para hacer observaciones periódicas hasta obtener la biología, duración de cada estadio y sus características. Se estableció un experimento con cinco árboles por tratamiento (dos cepas y el testigo), a los cuales se hicieron los dos últimos muestreos. La identidad del barrenador corresponde a *Conotrachelus perseae* Barber, 1919, siendo el primer registro de plaga para el fruto en Chiapas. Las dos cepas del hongo redujeron estadísticamente el número de adultos, lo cual fundamenta el manejo de la plaga en las huertas orgánicas de la entidad.

Palabras clave: Picudos, *Beauveria bassiana*, pequeños productores, cultivo orgánico.

Introducción

La mayor superficie de aguacate Hass se localiza principalmente en los estados de Michoacán y Nayarit (Teliz-Ortiz *et al.*, 2000). La importancia social y económica que ha presentado el cultivo de *Persea americana* Mill en el estado de Chiapas y, en especial, para los municipios aguacateros, ha sido relevante. Hasta la presente investigación no se encontraron registros de que en el estado hubiera presencia de plagas. En otras entidades se sabe que este cultivo es afectado por diversos factores como el clima, tipo de suelo, disponibilidad de agua, fertilización; pero las plagas y enfermedades representan una fuerte derrama económica, tanto en su prevención como en su control, reflejada en la cosecha. El aguacate es atacado por varias especies de insectos que se caracterizan por dañar diversas partes de la planta, como tallos, hojas, frutos.

Existen cinco plagas que limitan el comercio internacional del aguacate, estas son: el barrenador de ramas del aguacatero (*Copturus aguacatae*), el barrenador pequeño del hueso del aguacate (*Conotrachelus perseae* y *C. aguacatae*), el barrenador grande del hueso del aguacate (*Heilipus lauri*) y la palomilla barrenadora del hueso (*Stenoma catenifer*) (Castañeda-Vildózola *et al.*,



2007). En general estos insectos barrenadores muestran patrones de coloración y de hábitos de alimentación muy similares, lo cual puede crear confusión en su identificación (Cárdenas, 1984). En el municipio de Teopisca, Chiapas, las huertas de aguacate Hass habían estado produciendo orgánicamente de manera adecuada hasta hace un par de años, desde cuando el barrenador del hueso se ha convertido en un problema importante por los daños que causa; además, se trata de una plaga de interés cuarentenario. Antes de intentar reducir las poblaciones de este barrenador es necesario corroborar la identidad, conocer su biología y fenología. Además de determinar los productos biológicos que puedan controlarlo de manera efectiva, orgánica y económica. Así, en esta investigación se trataron de responder las siguientes preguntas: ¿Es más de una especie de picudo la que está afectando la producción en la huerta de aguacate Hass de Teopisca, Chiapas? ¿La aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en la huerta será efectiva para controlar eficientemente a los picudos? Con los objetivos de identificar la(s) especie(s) de barrenador y su biología, así como evaluar la acción del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para controlar los barrenadores del aguacate.

Materiales y métodos

El municipio de Teopisca se encuentra en el estado de Chiapas, México. Entre los paralelos 16°27' y 16°39' de latitud norte; los meridianos 92°22' y 92°37' de longitud oeste; altitud entre 800 y 2 700 m. Las actividades que se realizan en el municipio son las agrícolas y pecuarias; la agricultura ocupa un 18.74 %, la vegetación de bosque un 68.39 % y pastizal inducido el 10.58 %, mientras que las actividades pecuarias ocupan para el establecimiento de praderas cultivadas con maquinaria agrícola 2.97 %, para el aprovechamiento de la vegetación natural diferente del pastizal 27.37 % y para el aprovechamiento de la vegetación natural únicamente por el ganado caprino 0.65 % (INEGI, 2014).

De febrero a junio se realizaron muestreos mensuales, con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-2002, para detectar adultos de barrenadores del hueso en campo se seleccionaron 10 árboles por hectárea de manera aleatoria, inspeccionándose visualmente 10 frutos de cada árbol (pueden ser de los que están adheridos al árbol o caídos), los frutos con síntomas o daños externos similares a los causados por la plaga, se rebanaron en su totalidad para comprobar la ausencia de barrenadores del hueso. El muestreo para detección en follaje consiste en seleccionar 10 árboles y de cada uno se escoge una rama que presente buen desarrollo foliar a una altura promedio de 1.65 m, en la parte inferior de la rama se coloca una tela de 1.62 m² y la rama se sacude con fuerza para derribar los insectos. Esta actividad se realizó por la mañana, antes de la salida del sol. Para el muestreo en suelo se usaron cinco de los árboles seleccionados para muestreo foliar, la muestra fue de 1 m² por 15 cm de profundidad en el área de goteo del árbol, se extrajo y cribó en un tamiz de 8 mallas con el objeto de detectar los insectos (SENASICA, 2009).

En el laboratorio de Bioensayos de ECOSUR se siguió el desarrollo de huevecillos y larvas encontrados en los muestreos y frutos recolectados. En total se revisaban más de 90 individuos, registrando fechas de cambio de una fase a otra, se anotaban sus características de cada una, hasta



obtener adultos. Con ayuda de claves, comparación de especies y la corroboración por parte de dos especialistas se obtuvo la identidad taxonómica del barrenador pequeño del hueso de aguacate.

Beauveria bassiana es un hongo que tiene un amplio rango de hospederos, no causa resistencia a las plagas, no es tóxico para el hombre, animales o plantas, no contamina el ambiente, puede aplicarse en cualquier época del desarrollo del cultivo. Su acción es por contacto, las conidias actúan en los diferentes estadios del insecto plaga, logrando enfermar al insecto, lo cual ocasiona que deje de alimentarse y posteriormente muera. Las propiedades de los organismos entomopatógenos en general (Monzón, 2001): poseen un alto poder residual; conservan su virulencia en la preparación y antes de la dispersión del inóculo en campo; la especificidad es definida como el conjunto de adaptaciones recíprocas entre microorganismos patógenos y sus hospederos, en relación con las condiciones del medio en las cuales se encuentre; posibilidades de multiplicación y conservación en condiciones económicas rentables; alto poder patogénico suficientemente estable.

En campo se aplicaron dos cepas de *B. bassiana*, aisladas y conservadas en la colección de ECOSUR-SC, correspondieron a las cepas 2 y la 5APr, ambas procedentes de la región de Teopisca. Con base en el desarrollo que iban teniendo los organismos en el laboratorio, se decidió hacer la primera aplicación en líquido, con una bomba aspersora al follaje, durante el mes de abril, antes del inicio de las lluvias. Durante mayo, ya con el temporal, se repitió la aplicación pero en sólido, distribuyéndolo en círculos en el suelo bajo la zona de goteo de cada árbol. Se tenían cinco árboles para cada una de las dos cepas, e igual cantidad fungieron como testigo (sin aplicación). En los 15 árboles se realizaron los muestreos de mayo a julio de 2014. La concentración de esporas de la cepa 2 fue de 8.6×10^7 esporas por mililitro y la de la cepa 5 APR fue de 2.8×10^8 esporas por mililitro.

Resultados

El 49 % de frutos mostraron daño evidente por el barrenador pequeño de aguacate. El 99 % de larvas obtenidas correspondió a adultos de *C. perseae*. Sin embargo también se observaron dos larvas con mayor tamaño, quizá correspondan a la especie *Heilipus lauri* (barrenador grande). Sus etapas de desarrollo, duración en días y el periodo en que se encuentran se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Etapas de desarrollo (en laboratorio) de *Conotrachelus perseae* con algunas características morfológicas y fenológicas, así como el número de especímenes obtenidos de los frutos recolectados en Teopisca, Chiapas (2014)

Característica	Huevo	Larva	Pupa	Adulto
Longitud	0.8 mm a 1 mm	0.5 mm a 1.3 cm	7 mm a 9 mm	7 mm
Presencia	Marzo	Abr-may-jun-jul	Jun-jul-ago	Ago-sep
Intervalo / promedio (días)	6-8 d / 7 d	20-52 / 37.2	5-25 / 12	
Especímenes obtenidos de frutos	2	196	27	36



Las larvas se obtuvieron mayoritariamente en los muestreos de mayo y junio, los adultos procedieron de éste último muestreo.

En cuanto a los resultados por la aplicación de las cepas de *B. bassiana*, el modelo general lineal, corrido en SPSS, considerando como factores de comparación los tres tratamientos y las dos fechas de muestreo, evidencia diferencias estadísticas solo en el número de adultos entre los árboles testigo y los tratados con las dos cepas de hongo ($F_{(2,26)} = 3.573$, $P = .043$). Para las demás variables: cantidad de frutos caídos, larvas totales, larvas micosadas y pupas no hubo diferencias significativas (cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias (MGL) de las variables consideradas durante los muestreos de mayo y junio en la huerta de aguacate Hass, Teopisca, Chiapas (2014).

Variable	F	gl	P
Frutos	1.896	2, 26	.170
Total de larvas	2.607	2, 26	.093
Larvas micosadas	1.352	2, 26	.276
Pupas	.000	2, 26	1.000

Discusión

En ausencia de antecedentes de plagas en aguacate para Chiapas, se tuvo que seguir la biología hasta obtener adultos. Inicialmente se pensó que las dos especies de *Conotrachelus* estaba afectando la producción en la huerta de aguacate Hass de Teopisca. Sin embargo se pudo corroborar que el barrenador pequeño *C. perseae* es el responsable de los daños y pérdida de rendimiento. Con ello se registra por primera vez su presencia en el estado.

Aunque no es un estado reconocido por la producción de este fruto, productores pequeños, como el dueño de la huerta de estudio, sufren las consecuencias del barrenador pequeño; pues dependen de la comercialización del aguacate orgánico para solventar la economía de la unidad familiar, por lo que no se debe dejar a un lado o minimizar su importancia.

Los muestreos se realizaron cada mes hasta encontrar adultos del insecto para conocer su biología, ciclo de vida, duración de cada estadio y etapa en que se presenta el daño en el fruto; conocimiento base para poder establecer medidas de control.

Las 13 larvas por fruto encontradas coincide con Adame (1996), quien señala que la hembra realiza en promedio dos perforaciones por cada fruto que ataca, ovipositando de uno hasta siete huevecillos en cada una de las cavidades.

La aplicación de *Beauveria bassiana* como se hizo en este estudio, en líquido por la tarde, a la caída del sol y antes de la temporada de lluvia y, al inicio de ésta, en el suelo en forma sólida en círculos concéntricos al tallo cubriendo la zona de goteo, resulta prometedora para mantener bajo control al barrenador pequeño con la producción orgánica; debido a que no causa resistencia a las plagas, no es tóxico para el hombre, animales o plantas, no contamina el ambiente. Se sugiere la aplicación en líquido en los meses de febrero-marzo y en agosto; mientras que en sólido en junio.



El análisis estadístico no mostró diferencia en la cantidad de larvas infectadas entre las dos cepas de las dos cepas (2 y 5APR), pero sí con el testigo (sin hongo), por lo que ambas cepas son recomendables para la aplicación en campo.

Agradecimientos. A todo el equipo del proyecto, dirigido por la segunda autora, su valiosa participación en las fases de campo. La investigación corresponde a la tesis de Ingeniero Agrónomo del primer autor, desarrollada con recursos fiscales del grupo académico de Agroecología.

Literatura citada

- Cárdenas M., R. (1984). Plagas en aguacate. Notas y Noticias Entomológicas. Mayo – Junio.
- Castañeda-Vildozola, A.; Valdez-Carrasco, J.; Equihua-Martínez, A.; González-Hernández, H.; Romero-Nápoles, J.; Solís- Aguilar, J. y Ramírez-Alarcón, S. (2007). Genitalia de tres especies de *Heilipus germar* (Coleoptera: Curculionidae) que dañan frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) en México y Costa Rica. Neotropical Entomology. <<http://www.scielo.br/scielo> pp: 914-918.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 63: 95-103.
- SIAP. 2010. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Cierre de la Producción agrícola por cultivo <http://www.siap.gob.mx> (consultado el 5 de febrero del 2014).
- Teliz, D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. Coordinador Editorial Daniel Téliz. Mundi – Prensa, México D. F., México. 23 p.



PATOGENICIDAD DE AISLADOS NATIVOS MEXICANOS DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPTACEAE) SOBRE LARVAS NEONATAS DE *Helicoverpa zea*, *Spodoptera exigua* y *Trichoplusia ni* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Luis Antonio Rodríguez-Gómez¹, Isela Quintero-Zapata¹, María Guadalupe Maldonado-Blanco¹, Mónica Guadalupe Lozano-Contreras², Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹, Myriam Elías-Santos¹. ¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. C.P. 66450. San Nicolás de los Garza, N.L., México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias Km. 25 Carretera Merida-Motul, Merida C.P. 97454, Mochá, Yucatán, México. myriam.eliassn@uanl.edu.mx

Resumen El objetivo del presente estudio fue evaluar la patogenicidad y virulencia de dos aislados nativos (HIB-4 y HIB-7) y una cepa de referencia (GHA) de *Beauveria bassiana* con potencial para el manejo de los lepidópteros *Helicoverpa zea* (Boddie), *Spodoptera exigua* (Hübner) y *Trichoplusia ni* (Hübner), mediante el método de inmersión. Se realizaron bioensayos a nivel laboratorio utilizando larvas neonatas en placas para cultivo celular de múltiples pocillos conteniendo dieta artificial Shorey. Las larvas de cada uno de los lepidópteros fueron sumergidas en suspensiones de 1×10^8 conidios mL^{-1} de *B. bassiana* posteriormente fueron incubados en una cámara bioclimática a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $50 \pm 5\%$ H.R. y 14:10 h L:O. Los resultados obtenidos muestran que el aislado HIB-4 fue el que presentó la mayor mortalidad mostrando un 70.1% en larvas de *H. zea*; y la menor mortalidad reportada en el ensayo fue por la cepa de referencia GHA en el mismo lepidóptero causando un 34.0% de mortalidad.

Palabras clave: Patogenicidad, *Beauveria bassiana*, lepidópteros.

Introducción

En México se producen alrededor de 70 variedades de hortalizas como elote, sandía, melón, col, calabaza, pepino, coliflor, por mencionar algunas (Financiera Rural 2008). Sin embargo, actualmente existen diferentes plagas que afectan a este tipo de cultivos entre las que se encuentran los lepidópteros *Helicoverpa zea*, *Spodoptera exigua* y *Trichoplusia ni*. Las estrategias para el manejo de éstos lepidópteros se han basado en diferentes métodos que incluyen al control químico, biológico y cultural; los hongos se han erguido como una de las mejores alternativas para el control de plagas en los últimos años. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar mediante bioensayos a nivel laboratorio la patogenicidad y virulencia de dos aislados nativos y una cepa de referencia de *Beauveria bassiana* que han mostrado actividad entomopatógena en trabajos anteriores (Gandarilla-Pacheco *et al.* 2013ab) para establecer su posible potencial como agentes de control biológico sobre larvas neonatas de *Helicoverpa zea*, *Spodoptera exigua* y *Trichoplusia ni*.



Materiales y Métodos

Las larvas neonatas de *Helicoverpa zea*, *Spodoptera exigua* y *Trichoplusia ni* fueron adquiridas de la Unidad de Cría Masiva de Insectos del Instituto de Biotecnología ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FCB- UANL). Los aislados nativos con clave HIB-4, HIB-7 y la cepa de referencia GHA de *Beauveria bassiana* fueron proporcionados por la Colección de Hongos Entomopatógenos del Laboratorio L6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL.

Se emplearon suspensiones de los hongos a 1×10^8 conidios mL^{-1} , además de dos testigos, agua destilada estéril y una solución de Tween 80 al 0.01% en agua destilada estéril. Las suspensiones de conidios fueron utilizadas inmediatamente para realizar los bioensayos y hacer la prueba de viabilidad. Para evaluar la viabilidad de los hongos se utilizó Agar Papa Dextrosa (PDA), en cajas petri se inocularon alícuotas de 5 μL , una vez inoculadas las placas se incubaron a 25 ± 2 °C durante 10 horas.

Para los bioensayos se colectaron 75 larvas neonatas, según el lepidóptero a tratar, en copas de plástico del No.15 y se agregaron 3 mL del tratamiento a aplicar durante 30 segundos; transcurrido el tiempo se vertió con cuidado la solución con las larvas sobre un papel toalla para eliminar el exceso de humedad, una vez que presentaron actividad (movimiento), se seleccionaron 24 ejemplares y con ayuda de un pincel cada uno de éstos se colocó en un pozo de las placas para cultivo celular de múltiples pocillos conteniendo dieta artificial Shorey. Una vez colocadas las larvas en la placa, los pocillos se cubrieron con un pliego de papel toalla, se colocó la tapa y se selló por los costados con cinta masking tape. Todos los tratamientos fueron incubados en una cámara bioclimática a 26 ± 2 °C, 50 ± 5 % H.R. y un fotoperiodo de 14:10 L:O. Los insectos fueron monitoreados diariamente, las larvas muertas se colocaron en cámara húmeda para estimular la emergencia del micelio y la mortalidad fue evaluada a los siete días después de la inoculación. Se realizó una prueba de comparación de medias por Diferencia Mínima Significativa ($p \leq 0.05$) con el paquete de computo de diseños experimentales FA-UANL, versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994). Los experimentos se realizaron por triplicado y se repitieron en dos ocasiones.

Resultados y Discusión

La viabilidad de los conidios de los hongos evaluados fue del 100%. Los resultados obtenidos muestran que las larvas de *H. zea*, *S. exigua* y *T. ni* inoculadas presentaron síntomas compatibles con la infección causada por *B. bassiana* a partir del día dos post-inoculación y morían a partir del día tres. Los testigos no registraron mortalidad durante el ensayo. Para *H. zea* los resultados muestran un índice de mortalidad inferior al 71% para todos los tratamientos y se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los mismos. La cepa GHA causó una mortalidad del 34%, mientras que los aislados nativos HIB-4 y HIB-7 registraron una mortalidad del 70.1 y 65.9% respectivamente (Fig. 1 y 2).

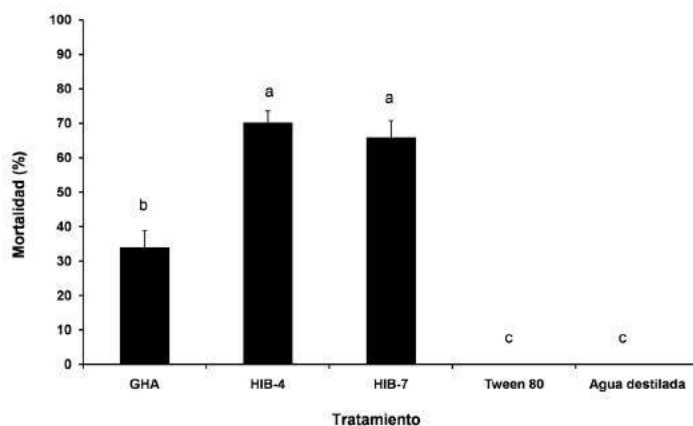
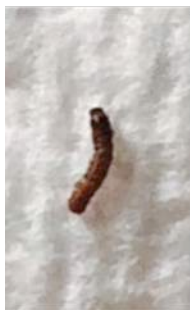


Fig. 1. Mortalidad de *Helicoverpa zea* por *Beauveria bassiana* mediante el método de inmersión (GHA, HIB-4 y HIB-7) bajo condiciones de laboratorio, $26\pm 2^\circ\text{C}$; $50\pm 5\%$ H.R; 14:10h L.O. Los tratamientos con diferente letra son significativamente diferentes ($p\leq 0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.



A



B



C

Fig. 2. Larvas de *Helicoverpa zea*. (A) control (B) muerta por *Beauveria bassiana* (C) completamente cubierta por el micelio.

Respecto a *Spodoptera exigua* el índice de mortalidad fue inferior al 55%, el aislado HIB-4 presentó la mayor mortalidad (54.1%) y se encontraron diferencias altamente significativas entre este aislado y el resto de los tratamientos, la cepa GHA y el aislado HIB-7 no mostraron diferencias significativas entre sí y causaron una mortalidad del 47.2 y 44.4% respectivamente (Fig. 3 y 4).

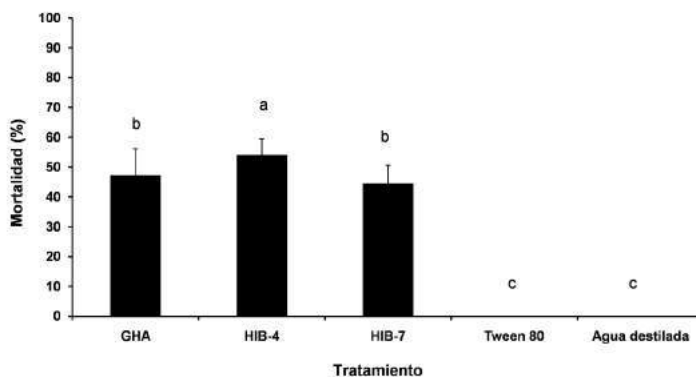


Fig. 3. Mortalidad de *Spodoptera exigua* por *Beauveria bassiana* mediante el método de inmersión (GHA, HIB-4 y HIB-7) bajo condiciones de laboratorio, $26\pm 2^{\circ}\text{C}$; $50\pm 5\%$ H.R; 14:10h L:O. Los tratamientos con diferente letra son significativamente diferentes ($p\leq 0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.



A



B



C

Fig. 4. Larvas de *Spodoptera exigua* (A) control (B) muerta por *Beauveria bassiana* (C) completamente cubierta por el micelio.

Para *T. ni* el índice de mortalidad fue menor al 62% en todos los tratamientos evaluados. HIB-4 registró la mayor mortalidad de las larvas reportando un 61.8%, al ser comparado con el resto de los tratamientos este aislado presentó diferencias altamente significativas ($p\leq 0.05$); la cepa GHA y el aislado HIB-7 causaron una mortalidad del 45.1 y 42.3% respectivamente, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p\leq 0.05$) entre estos (Fig. 5 y 6).

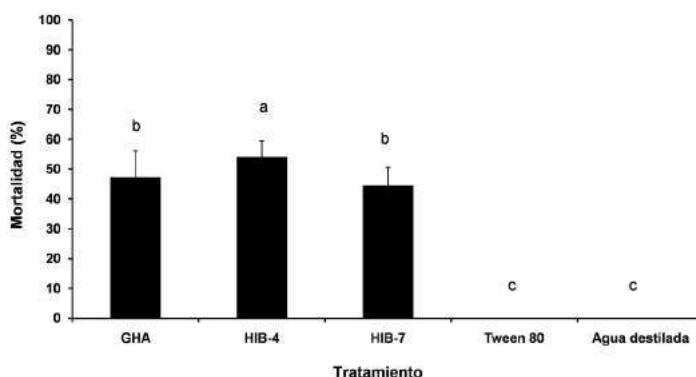


Fig. 5. Mortalidad de *Trichoplusia ni* por *B. bassiana* mediante el método de inmersión (GHA, HIB-4 y HIB-7) bajo condiciones de laboratorio, $26\pm 2^{\circ}\text{C}$; $50\pm 5\%$ H.R; 14:10h L:O. Los tratamientos con diferente letra son significativamente diferentes ($p\leq 0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.



A



B



C

Fig. 6. Larvas de *Trichoplusia ni* (A) control (B) muerta por *Beauveria bassiana* (C) completamente cubierta por el micelio.

Existen reportes de estudios para evaluar la patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre diferentes lepidópteros plaga (Rodríguez *et al.* 2006; García *et al.* 2011; Malpartida-Zevallos *et al.* 2013) en los cuales los métodos de evaluación difieren notablemente, incluyendo variaciones desde el método de inoculación, estadio a tratar, dosis de inoculación, por mencionar solo algunos. En el presente estudio se usó una metodología para evaluar la virulencia sobre larvas neonatas de *H. zea*, *S. exigua* y *T. ni* mediante el método de inmersión a una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} . Los resultados obtenidos oscilaron entre un 34 a 70.1% de mortalidad, lo que indica la susceptibilidad de los diferentes lepidópteros en su estadio larvario por hongos entomopatógenos. Wraight *et al.* (2010) realizaron un amplio estudio utilizando 43 aislados de *B. bassiana* para evaluar su virulencia sobre larvas de segundo instar de *Plutella xylostella*, *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Agrotis ipsilon*, *Pieris rapae* y *Trichoplusia ni*, los resultados para *H. zea*, *S. exigua* y *T. ni* fueron de hasta el 98% de mortalidad. La mortalidad alta es importante, puesto que asegura una máxima disminución en las poblaciones de las plagas objetivo después del tratamiento. El porcentaje de mortalidad debida a micosis también es primordial debido a que la capacidad de esporulación del hongo sobre su hospedero es fundamental para la diseminación de la enfermedad en condiciones



de campo, y esto se relaciona con re-infestaciones a partir de insectos parasitados (Gottwald y Tedders, 1984). Un aislado que cause altas tasas de mortalidad y sea capaz de colonizar y esporular en un alto porcentaje en los cadáveres infectados es probable que sea un patógeno mucho más efectivo desde el punto de vista de control, comparado con uno que cause mortalidad elevada pero que esporule sobre pocos hospederos. Un aislado o cepa que sea capaz de inducir altos porcentajes de mortalidad y esporulación aumentaría la carga del inóculo en el hábitat del insecto plaga, incrementando así la posibilidad de infectar (Gandarilla-Pacheco *et al.* 2013a).

Literatura citada

- Financiera Rural. 2008. La producción de hortalizas en México. <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/documents/hortalizas.pdf>. Accesado Mayo 27 2014.
- Gandarilla-Pacheco, F. L., L. J. Galán- Wong, J. I. López-Arroyo, R. Rodríguez-Guerra, and I. Quintero-Zapata. 2013a. Optimization of pathogenicity tests for selection of native strains of entomopathogenic fungi isolated from citrus-growing areas of México on adults of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Fla. Entomol. 96: 187-195.
- Gandarilla-Pacheco, F. L., J. I. López-Arroyo, L. J. Galán-Wong, e I. Quintero-Zapata. 2013b. Patogenicidad de hongos entomopatógenos nativos de la zona citrícola de México sobre ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Southwest. Entomol. 38: 325-338.
- García, C., M.B. González, y N. Bautista. 2011. Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). Rev. Colomb. Entomol. 37: 217-222.
- Gottwald, T.R., and W.L. Tedders. 1984. Colonization transmission and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metharhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hypomycetes) on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. Environ. Entomol. 13:557-560.
- Malpartida-Zevallos J., M. Narrea-Cango y W. Dale-Larraburre. 2013. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. Ecol. Apl. 12: 75-81.
- Olivares-Saénz, E. 1994. Paquetes de diseños experimentales FA-UANL. Programa de Software Estadístico, Versión 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, Nuevo León, México.
- Rodríguez, M., M. Gerding, A. France. 2006. Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric. Téc. 66:151-158.
- Wraight, S.P., M.E. Ramos, P.B. Avery, S.T. Jaronski, J.D. Vandenberg. 2010. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. J. Invertebr. Pathol. 103:186-199.



VIRULENCIA DE *Metarhizium anisopliae* E *Isaria fumosorosea* EN NINFAS N4 DEL INSECTO *Meccus pallidipennis* TRANSMISOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Rodríguez-Pérez Ana Cecilia¹, Navarro-Barranco Hortencia¹, Medrano-García Andrés¹, Jiménez-Santiago Berenice¹, Salazar-Schettino Paz M.², Cabrera-Bravo Margarita², Flores-Villegas Laura², Vences-Blanco Mauro², Hernández-Velázquez Víctor³, Toriello Conchita¹. ¹Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Micología Básica, México D.F., ²Universidad Nacional Autónoma de México: Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Biología de Parásitos, México D.F., ³Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigación en Biotecnología, Cuernavaca, Morelos, México., toriello@unam.mx

Resumen. Los hongos entomopatógenos son importantes agentes microbianos en el control biológico de plagas agrícolas e insectos vectores de enfermedades humanas. En México, la enfermedad de Chagas es un problema de salud pública con diversas especies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) como vectores de la enfermedad. La resistencia de los insectos a insecticidas químicos (Piretroides) ha llevado a investigar otras alternativas menos dañinas para la salud humana y ambiental en el control de vectores de enfermedades. Se investigó el efecto de una cepa de *Metarhizium anisopliae* (EH-273/4) y una de *Isaria fumosorosea* (EH-511/3) en la virulencia del triatoma *Meccus pallidipennis*, importante vector de la tripanosomiasis en México, para conocer el mejor de los dos hongos como futuros probables agentes microbianos para el control biológico del insecto. Los dos hongos fueron probados en el laboratorio empleando un total de 75 ninfas de cuarto estadio (N4) del triatoma para cada uno y 25 testigos con una dosis de 1×10^7 conidios/mL, aplicado en el pronoto de cada ninfa de *M. pallidipennis*. Se registró la emergencia de las hifas y la mortalidad diariamente. Se realizó un análisis de Probit para calcular el tiempo letal 50 (TL50). El TL50 para ninfas de cuarto estadio infectadas con *M. anisopliae* fue de 3 días y para *I. fumosorosea* de 19 días respectivamente; por lo que se sugiere *M. anisopliae* como un mejor candidato para el biocontrol de ninfas de *M. pallidipennis*.

Palabras clave: control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, virulencia, *Meccus pallidipennis*.

Introducción

Los vectores de la enfermedad de Chagas son insectos reduvidos (Hemiptera: Reduviidae) hematófagos obligados de mamíferos, pertenecientes a la subfamilia Triatominae; los cuales, están agrupados dentro de 17 géneros (Dujardin *et al.*, 2000). Los triatomas tienen 5 estadios ninfales y tardan en promedio de 3 a 8 meses en llegar a adultos, viviendo en promedio entre uno y dos años.

La transmisión del parásito *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, se lleva a cabo cuando el triatoma al alimentarse de sangre de mamíferos hospederos, absorbe también los parásitos. Una vez dentro del insecto se transforman, replican y migran hacia el recto. Al alimentarse nuevamente el triatoma libera los parásitos cuando defeca en la piel de los



mamíferos; y estos penetran en la piel del hospedero por medio de micro heridas de la piel generadas por el rascado.

En México, la enfermedad de Chagas es un problema de salud pública con diversas especies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) como vectores de la enfermedad. Se han registrado 32 especies de triatominos de los cuales, seis pertenecen al género *Meccus*, el cual es considerado responsable del 74% de las transmisiones vectoriales de *Tripanosoma cruzi*. En particular, la especie *Meccus pallidipennis* es considerado uno de los vectores epidemiológicos más importantes en la transmisión de *T. cruzi* en humanos y reservorios animales (Martínez-Ibarra et al., 2012) ya que este se encuentra distribuido en trece estados a través del occidente, centro y sureste de México (Salazar-Schettino et al., 2010).

Los hongos entomopatógenos son importantes agentes microbianos en el control biológico de plagas agrícolas e insectos vectores de enfermedades humanas. La reciente resistencia de los insectos a los insecticidas químicos (Piretroides) ha llevado a investigar otras alternativas menos dañinas para la salud humana y ambiental en el control de vectores de enfermedades. *Metarhizium anisopliae* ha sido ampliamente utilizado como agente microbiano de control biológico para combatir diversas plagas y también vectores de enfermedades (Zimmermann, 2007) y pruebas de su bioseguridad realizada en mamíferos (Toriello et al., 2006); *Isaria fumosorosea* aunque no tan ampliamente utilizado como *M. anisopliae* se emplea como agente microbiano en diversas plagas entre ellas, especies de la mosquita blanca (Hemiptera: Aleyrodidae) (Zimmermann, 2008) y también estudiado por su bioseguridad en mamíferos (Mier et al., 2005). En México, distintas cepas autóctonas de estos dos hongos se utilizan en el combate de plagas de cultivos, pero no se ha probado el efecto que tienen en especies de triatominos de México. En este trabajo se investigó la virulencia de estos dos hongos en ninfas de cuarto estadio de *M. pallidipennis* para considerar cuál de ellos sería el mejor candidato como agente microbiano para el control biológico del insecto estudiado.

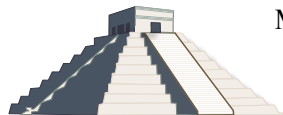
Materiales y Métodos

Obtención de ejemplares de *M. pallidipennis*

La colonia de *M. pallidipennis* se obtuvo del laboratorio de Biología de parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM. A partir de parejas de triatomas con las que se cuentan, se obtuvieron los estadios N4 empleados en este estudio.

Aislados fúngicos de *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*

Se utilizó la cepa de *I. fumosorosea* EH-511/3 y *M. anisopliae* EH-273/4 (cultivos monospóricos), derivados de aislados originales de insectos de México provenientes del CNRCB, Dirección General de Sanidad Vegetal, SAGARPA. Estos cultivos monospóricos se encuentran depositados en la colección de cultivos del Laboratorio de Micología Básica del Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de



México y registrada en el “World Federation of Culture Collections (WFCC)” con el número BMFM-UNAM 834.

Preparación de las suspensiones fúngicas

A partir de cultivos de las cepas en agar papa dextrosa (APD) se suspendieron los conidios en una solución de Tween 0.05%; la concentración de cada suspensión se determinó mediante el conteo de conidios en cámara de Neubauer y fue ajustada a una concentración de 1×10^7 conidios/mL. Se utilizaron conidios con una viabilidad mayor a 95%.

Bioensayos de infección con las cepas *M. anisopliae* e *I. fumosorosea*

Para cada uno de los bioensayos se utilizó un total de 75 triatomas (25 por tres bioensayos) N4 para cada cepa de hongo y 25 triatomas testigos. Todos los insectos se lavaron en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% y agua estéril por treinta segundos y se colocaron en cajas pequeñas de Petri con papel filtro en el fondo previamente esterilizado. Posteriormente fueron infectados depositando 30 μ L de la suspensión de conidios en el pronoto de cada ninfa de *M. pallidipennis* con la ayuda de una micropipeta. Se realizó en dos aplicaciones de 15 μ L y un intervalo de 30 minutos. Los triatomas testigo fueron tratados de igual manera pero empleando solo Tween al 0.05%.

Evaluación de la virulencia de ambos hongos

Se registró la mortalidad y la aparición de micelio sobre el cuerpo del insecto. El registro se llevó a cabo diariamente y el tiempo letal 50 (TL50) y 90 (TL90) se obtuvo mediante un análisis de Probit (Probit and Logit Analysis versión 1.0). Así mismo se aceptó una mortalidad en los testigos de hasta 10% (dos insectos).

Resultados

Comparación del TL50 entre ambos hongos

La cepa que requirió menor tiempo para matar al 50% de los insectos infectados fue *M. anisopliae* con 3.32 días e *I. fumosorosea* 18.92 días. Los triatomas que fueron infectados con la cepa de *M. anisopliae* presentaron una emergencia de hifas en el cuerpo del insecto al segundo día, mientras que la emergencia de hifas en insectos infectados con *I. fumosorosea* se dio entre el tercero y cuarto día (Cuadro 1).

El 100% de insectos muertos infectados con *M. anisopliae* se obtuvo al séptimo día de la infección; mientras que con *I. fumosorosea* obtuvo el 85% de mortalidad hasta el día 36 (11 vivas 64 muertas).



Todos los insectos que fueron infectados, presentaron esporulación, pero en *M. anisopliae* el tiempo en el que el hongo esporuló fue mucho menor que en *I. fumosorosea* (Fig 1 A y B).

Cuadro 1. Virulencia de ninfas N4 de *M. pallidipennis* infectadas con *M. anisopliae* e *I. fumosorosea* en condiciones de laboratorio ($N = 75$ ninfas N4/hongo)

Especie	Cepa	Emergencia de hifas	TL50 (días)	TL90 (días)	Heterogeneidad	X ²
<i>Metarhizium anisopliae</i>	EH-273/4	2º día	3.3 (2.8-3.7)*	5.7 (4.9- 7)	2.90	20.33
<i>Isaria fumosorosea</i>	EH-511/3	3er. día	18.92 (18.3-19.5)*	38.7 (36.7-41.2)*	0.62	22.53

*Límite inferior-límite superior

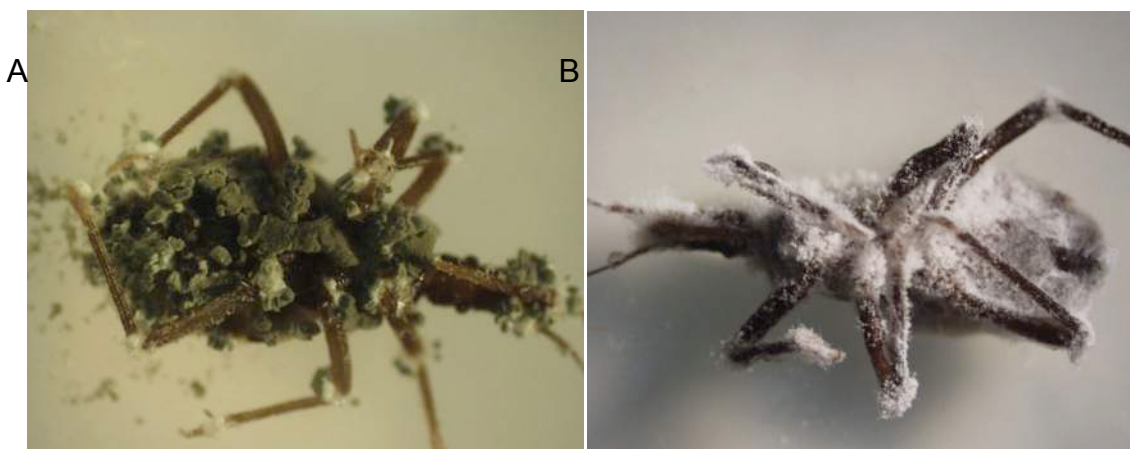


Figura 1 A y B. Infección de (A) *M. anisopliae* (EH-273/4) y (B) *I. fumosorosea* (EH 511/3) en ninfas de cuarto estadio de *M. pallidipennis*, a los 10 y 40 días de la infección, respectivamente. Se pueden observar los cúmulos de hifas y conidios que salen de las partes más blandas del insecto.

Discusión

En este estudio se observó que la infección y muerte ocasionada por las dos cepas de hongos en ninfas N4 de *M. pallidipennis* fue significativamente diferente entre ambas. Para ninfas tratadas con conidios de *M. anisopliae*, se registró el 100 % de mortalidad al séptimo día, mientras que en N4 infectadas con *I. fumosorosea* se alcanzó el 85% de mortalidad al día 36 pos-infección. El TL50 de la cepa EH-273/4 de *M. anisopliae* se alcanzó a los 3.3 días; incluso mucho menor que en un estudio realizado por Rocha *et al.* (2011) donde se obtuvo un TL 50 de 6.5 días con la cepa IP1 de *M. anisopliae* en ninfas de tercer estadio de *Triatoma infestans*.

En la cepa de *I. fumosorosea* (EH-511/3) se alcanzó una TL50 de 18.92 días; mientras que el aislado de IP126 empleada en el estudio de Rocha *et al.*, 2011 alcanzó una TL 50 de 13.5 días y la cepa IP148 una TL50 de 17.5 días.

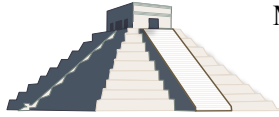


La diferencia significativa del TL50 de *I. fumosorosea* y *M. anisopliae* encontrado en este estudio en ninfas de cuarto estadio de *M. pallidipennis* muestra la mayor virulencia de *M. anisopliae* hacia este insecto. Estos resultados sugieren este último hongo como un candidato ideal como bioinsecticida para el control biológico de *M. pallidipennis*, especie transmisora de la enfermedad de Chagas.

Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo otorgado por la DGAPA-PAPIIT/UNAM, proyecto N° IT202012. ACRP agradece la beca de posgrado (Maestría), otorgada por CONACYT, y al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Literatura citada

- Dujardin JP, Schofield JC, Panzera F (2000) Les Vecteurs de la Maladie de Chagas. Recherches taxonomiques, biologiques et genetiques. Brussels: Academie Royale des Sciences d'Outre Mer, Classe des Sciences Naturelles et Medicales. 162 p.
- Mier T, Olivares RG, Navarro H, Pérez A, Lorenzana M, Pérez A, Toriello C. 2005. Acute oral intragastric pathogenicity and toxicity in mice of *Paecilomyces fumosoroseus* isolated from whiteflies. *Antonie van Leeuwenhoek* 88: 103–111.
- Rocha LF, Luz C. 2011. Activity of *Metarhizium* spp. and *Isaria* spp. from the Central Brazilian Cerrado against *Triatoma infestans* nymphs. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*; 105: 417-419.
- Salazar SP, Rojas WG, Cabrera BM, Bucio TJ, Martínez IM, Monroy EA, Rodas RY, Guevara GM Vences BA, Ruiz H, Torres GE. 2010. A revision of thirteen species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease in Mexico. *J. Selva Andina Res. Soc*; 1: 57-80.
- Toriello C, Pérez TA, Díaz BA, Navarro BH, Pérez MA, Lorenzana JM, Mier T. 2006. Lack of acute pathogenicity and toxicity in mice of an isolate of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* from spittlebugs. *Ecotoxicol Environ Safety*. 65 278-287.
- Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci Technol*; 17: 879-920.
- Zimmermann G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology, and use in biological control. *Biocontrol Sci Technol*; 18: 865-901.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



SISTEMÁTICA



**IDENTIFICACIÓN Y REPORTE DE *Exochomus marginipennis* (LeConte)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) COMO DEPREDADOR DE *Diaphorina citri*
Kuwayama (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

Martín Palomares-Pérez¹, José Manuel Rodríguez-Vélez¹, Beatriz Rodríguez-Vélez¹, Antonio Marín-Jarillo², Jorge Antonio Sánchez-González¹, Hugo Cesar Arredondo-Bernal¹. ¹Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, Colonia Tepeyac, Colima México. C.P. 28110. ²INIFAP-CEBAJ Campo Experimental Bajío, Guanajuato. Carr. Celaya-San Miguel de Allende Km. 6.5. Celaya, Guanajuato C.P. 38010 A.P. 112.

Resumen: En el 2013 se observó una especie no identificada de la familia Coccinellidae alimentándose de *Diaphorina citri* Kuwayama en Colima, México. Por tal motivo el presente estudio tuvo el objetivo de identificar la especie y corroborar su asociación con el psílido asiático de los cítricos. De acuerdo a las características observadas los especímenes fueron identificados como *Exochomus marginipennis* (LeConte). El adulto de *E. marginipennis* consumió huevos y ninfas de los instares I, II y III de *D. citri* en su totalidad, mientras que la ninfa IV y V solo depredó la parte ventral. Se reporta por vez primera la presencia de *E. marginipennis* alimentándose de *D. citri* en el estado de Colima, México.

Palabras clave: HLB, *Candidatus Liberibacter* spp., psílido asiático de los cítricos, control biológico, enemigo natural.

Introducción

Los insectos depredadores constituyen uno de los grupos más importantes de enemigos naturales (Hagen *et al.* 1999). La mayor parte de ellos son carnívoros a lo largo de todo su ciclo de vida, aunque en algunos grupos la depredación está confinada exclusivamente a los estadios juveniles o al estado adulto (Hagen *et al.* 1999) o en ambos, como es el caso de la familia Coccinellidae (Núñez-Pérez *et al.* 1992), los cuales forman un complejo de especies cuyo rol es importante en el establecimiento del control biológico de insectos plaga en muchos agroecosistemas. Los coccinélidos se caracterizan por su amplio rango de aceptación de presas, fundamentalmente conocidos como consumidores de áfidos, aunque se les cita también como reguladores poblacionales de cochinillas, de estados juveniles de lepidópteros, coleópteros, himenópteros, dípteros, tisanópteros, psílidos entre otros (Hodek 1973, Núñez-Pérez *et al.* 1992, Arnett *et al.* 2002).

Dentro de la familia Coccinellidae, existen especies como *Olla v-nigrum* (Mulsant), *Cycloneda sanguinea* L., *Chilocorus cacti* L., *Axion* sp., *Arawana* sp., *Azya orbiger* (Mulsant) y *Brachiacantha decora* (Casey) que se les ha reportado atacando a pulgones, cóccidos y en especial al psílido asiático de los cítricos (PAC) *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Michaud, 2001, 2002, 2004; González *et al.*, 2010), considerada como una de las plagas más importantes de los cítricos por transmitir al agente causal del HLB *Candidatus Liberibacter* spp. que es responsable de la muerte de millones de árboles en el mundo (Halbert y Manjunath, 2004; Bové, 2006).



En septiembre de 2013, se observó una especie no identificada de la familia Coccinellidae en una huerta de naranja dulce ubicada en la localidad de los Asmoles perteneciente al municipio de Colima, México (19° 06' 19.76'' N y 103° 46' 35.99'' O) y en los alrededores de los invernaderos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) en Tecomán, Colima (18° 55' 37.62'' N; 103° 53' 01.45'' O) sobre plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack alimentándose en ambos casos de *D. citri*. Por tal motivo, el objetivo de este estudio fue identificar la especie del coccinélido y corroborar su relación con el PAC.

Materiales y Métodos

Con la finalidad de corroborar si los coccinélidos se alimentaban del PAC, durante el mes de mayo de 2014 se recolectaron sobre plantas de *M. paniculata* infestadas con *D. citri* y con un aspirador de 25 mL, 20 adultos del coccinélido en los alrededores de los invernaderos del CNRCB ubicado en la ciudad de Tecomán, Colima. -Los ejemplares se colocaron durante 48 h en cajas Petri de 5.30 cm de diámetro por 1 cm de altura, alimentados con huevo de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae). Pasado el tiempo establecido, 10 ejemplares fueron puestos en ayuno durante un periodo de 24 h, los 10 restantes se siguieron alimentando con huevo de *S. cerealella*. Posteriormente, los insectos, tanto los que se conservaron en ayuno como los alimentados fueron colocados por separado en cajas Petri de acrílico con las dimensiones antes mencionadas con brotes de *M. paniculata* infestadas 100 huevos y 100 ninfas (20 de cada uno de los cinco instares) del PAC. Se realizaron observaciones durante 48 h con intervalos de 1 h para detectar el momento en que el coccinélido se alimentaba del psílido.

Para la identificación se extrajo la genitalia de cinco machos. Con una aguja de disección y con unas pinzas entomológicas se procedió a desprender el abdomen con la finalidad de extraer la genitalia. Para poder observar los caracteres diagnósticos, fue sometida a un proceso de limpieza y aclaración, sumergiéndola en hidróxido de potasio al 10% y calentándola a 70°C durante 25 minutos, posteriormente fue enjuagada dos veces en agua destilada para después sumergirla en ácido acético glacial durante 10 minutos. Una vez limpia fue transferida a viales con glicerina para su conservación.

Para la determinación se utilizaron las claves dicotómicas de Gordon (1985). Los especímenes se observaron con un estéreo microscopio Discovery V20 de Carl Zeiss, con oculares 10x/23 y objetivos 0.6x, 1.0x y 1.5x de acuerdo a las necesidades de óptica.

Las fotografías fueron capturadas con una cámara Axion cam ICc3 de Carl Zeiss montada al microscopio antes descrito. Las imágenes fueron elaboradas mediante el empalme de varias fotografías a diferentes enfoques. El empalme se llevó a cabo con el programa Combine Z.



Resultados y Discusión

Los especímenes examinados fueron determinados como *Exochomus marginipennis* (LeConte) (Coleoptera: Coccinellidae) en base a los siguientes caracteres: Coccinellidae de 2.5 a 3.6 mm de largo por 2.0 a 2.7 mm de ancho, con forma oval ligeramente aplanado dorsoventralmente. Pronoto negro, macho con el ángulo antero lateral del pronoto y patas de color cobrizo (Fig. 1 B-C), hembra con el ángulo anterolateral del pronoto ligeramente pálido, patas oscuras del mismo color que la superficie del vientre, epipleura descendiendo verticalmente hacia el exterior. Élitros pulidos y brillosos, color cobrizo con una banda negra de forma irregular al centro y 2 manchas negras en la parte posterior (Fig. 1 A). Genitalia masculina con sifho curvado (Fig. 1 E) con un ligero estriado antes del ápice sifonal (Fig. 1 D), capsula sifonal con membrana; lóbulo basal de casi la mitad de longitud que el largo total de la falobase (Fig. 1F). Los ejemplares identificados se encuentran en depósito en la Colección de Insectos Entomófagos (CIE) del CNRCB.

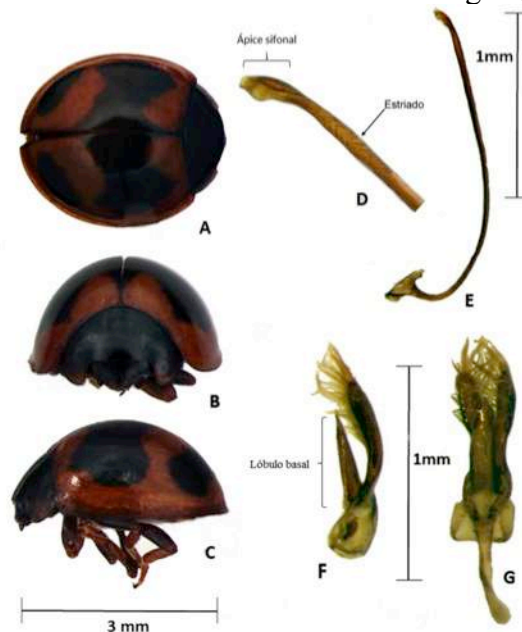


Figura 1. Macho de *Exochomus marginipennis*. A. Vista dorsal, B. Vista frontal, C. Vista lateral, D. extremo del sifho con un ligero estriado antes del ápice sifonal, E. sifho, F. Falobase vista lateral, G. Falobase y trabas vista frontal.

Sin especificar su presa ni la planta donde fueron recolectados, en México reportan la presencia de *E. marginipennis* para las localidades de Cuernavaca, Mor., Huetabampo, Son., Tesopaco, Son., Comitán, Chis., y Celaya, Gto. (Antonio Marín, comunicación personal). Para el estado de Colima no existen documentos que reporten la presencia de este insecto ni su relación con el PAC.

Para determinar la asociación del coccinélido identificado como *E. marginipennis* con *D. citri* se pudo observar que los adultos puestos en ayuno y los alimentados con *S. cerealella* consumieron indistintamente las ninfas del psílido.



e igual forma se registró que los huevos y las ninfas I, II y III fueron consumidas en su totalidad, mientras que la ninfa IV y V solo la parte ventral. Respecto a esto, la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas en Cuba (2010) considera que los miembros del género *Exochomus* presentan una diversidad alimenticia. Así también Arnett *et al.* (2002), Michaud (2004) y González *et al.* (2010) indican que de igual forma llegan a depredar psílidos, como en el caso de *Exochomus quadripustulatus* L. y en especial *E. cubensis* Dimmock y *E. childreni* Mulsant, donde Michaud (2002) y González *et al.* (2003) lo mencionan como un enemigo natural de *D. citri*.

Conclusión

Se reporta por vez primera la presencia de *E. marginipennis* alimentándose de *D. citri* sobre árboles de naranja dulce y plantas de *M. paniculata* en el estado de Colima, México.

Revisión de literatura

- Arnett, R.H. Jr., M.C. Thomas, P.E. Skelley y J.F. Howard. 2002. American Beetles: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea, Volumen 2. CRC PRESS, www.crcpress.com. p. 384.
- Bové, J.M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant. Pathol.* 88: 7-37.
- Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas (Cuba). 2010. Informe de la Estación Experimental Agronómica, Volumen 1904- 1905. República de Cuba, Secretaria de Agricultura, Comercio y Trabajo, Estación Experimental Agronómica, 1906.
- González, C., M. Borges, M. Gómez, M. Fernández, D. Hernández, R.J. Tapia, I. Cabrera y A. Beltrán. 2003. Manejo de *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae) en agroecosistemas citricolas de Cuba. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. La Habana, Cuba. p. 14.
- González, C., M. Gómez, M. Fernández, D. Hernández, J.L. R. Tapia, and L. Batista. 2010. Behavior and Natural Enemies of *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae) in Cuban Citriculture Proceedings, 17th Conference IOCV. P. 203-205.
- Gordon, R.D. 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America North of Mexico. *J. New York Entomol. S* 93(1): 1-912.
- Halbert, S.E. and K.L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids *Diaphorina citri* (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease in citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Fla. Entomol.* 87: 330-353.
- Hagen, K. S., N. J. Mills, G. Gordh y J. A. McMurtry. 1999. Terrestrial Arthropod predators of insects and mites pests, *En: Urbaneja, A., J.L. Ripollés, R. Abad, J. Calvo, P. Vanaclocha, D. Tortosa, J.A. Jacas y P. Castañera.* 2005. Importancia de los artrópodos depredadores de insectos y ácaros en España. *Bol. San. Veg. Plagas* 31:209-223.
- Hodek, I. 1973. Biology of coccinellidae. *En: Curis, M.C. y M.A.T.I. Bertolaccini.* 2013. Influencia de presas criadas sobre maíces Bt sobre parámetros biológicos de *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Rev. de Ciências Agrárias* 36(2): 174-181.
- Michaud, J.P. 2001. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of asian citrus psyllid, (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Fla. Entomol.* 84(4): 608-612.
- Michaud, J.P. 2002. Biological control of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: a preliminary report. *Entomol. News.* P. 216-222.
- Michaud, J.P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biol. Control.* 29(2): 260-269.
- Núñez-Pérez, E., E.J. Tizado-Morales y J.M. Nieto-Nafría. 1992. Coccinélidos (Col.: Coccinellidae) depredadores de pulgones (Hom. Aphididae) sobre plantas cultivadas de León. *Bol. San. Veg. Plagas.* 18: 765-775.



ESPECIES DE CATARINAS (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) ASOCIADAS A *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (HEMIPTERA: APHIDIDAE), EN CULTIVOS DE SORGO DEL ESTADO DE TAMAULIPAS, MÉXICO

José Manuel Rodríguez-Vélez, Mariza Araceli Sarmiento-Cordero y Hugo César Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV Km. 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, C.P. 28110, Tecomán, Colima, México. jm_rodriguez81@yahoo.com

Resumen. El cultivo del sorgo *Sorghum* sp. representa el producto agrícola más abundante para el ciclo de otoño-invierno para el estado de Tamaulipas en México, desafortunadamente en otoño de 2013 se detecta la presencia de *Melanaphis sacchari* (Zehntner) comúnmente llamado pulgón amarillo de la caña, en cultivos de sorgo del sur de Texas, E.U.A., y en el estado de Tamaulipas, México (INIFAP, 2013). *Melanaphis sacchari* es un insecto cosmopolita y su distribución geográfica obedece a los cultivos de caña y sorgo en todo el mundo, siendo en sorgo en donde se ven reflejadas las mayores pérdidas económicas, sin embargo se conocen varias especies de insectos depredando a *M. sacchari*, entre los cuales destacan los pertenecientes a la familia Coccinellidae. En abril de 2014 personal del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), en coordinación con el Comité Estatal de Sanidad Vegetal en el Estado de Tamaulipas (CESAVETAM), realiza exploraciones en ocho localidades de los municipios de Altamira, El Mante y Tampico en el cultivo de sorgo con la presencia de *M. sacchari*, con la intención de recolectar e identificar insectos entomófagos relacionados con la recién detectada plaga. En total fueron recolectados 315 ejemplares de la familia Coccinellidae incluidos en 11 especies. La especie más abundante fue *Hipodamia convergens* Guerin con 211 ejemplares, seguido de *Cycloneda sanguinea* Leng con 47 (ambas especies se observaron alimentándose de la plaga) y *Diomus terminatus* Say con 27 especímenes respectivamente; por el contrario cuatro especies estuvieron representadas con solo un ejemplar. De las 11 especies identificadas durante la presente investigación 2 pertenecen a *Brachiacantha* e *Hyperaspis*, estos géneros se reportan por primera vez en coexistencia con *M. sacchari*. Se concluye que las especies de coccinélidos concurrentes en las localidades exploradas son organismos a considerar para el seguimiento de futuras investigaciones pertinentes al control biológico del pulgón *M. sacchari*.

Palabras clave: Coccinélido, pulgón amarillo de la caña, depredador, control biológico.

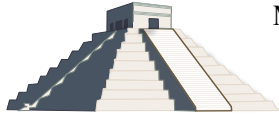


EL GÉNERO *Encarsia* FÖRSTER (HYMENOPTERA: APHELINIDAE), EN EL ESTADO DE VERACRUZ, MÉXICO

Daniel Alfonso García-Guerrero¹; Oswaldo García-Martínez¹; Svetlana Nikolaevna-Myartseva² y Luis Alberto Aguirre-Uribe.¹ ¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo; Coahuila, México. ²Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Centro Universitario Adolfo López Mateos, C.P 87149. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. ggda28@gmail.com.

Resumen. La familia Aphelinidae está ampliamente distribuida en el mundo, e incluye más de 1120 especies en cerca de 100 géneros, aunque solo se reconocen 40 como válidos. En México se han registrado 12 géneros, siendo *Encarsia* el más importante y abundante con 94 especies descritas, que parasitan moscas blancas, escamas suaves y armadas. Dada la diversidad de especies de *Encarsia* en los ecosistemas agrícolas, se realizaron identificaciones taxonómicas de especímenes de dicho género para actualizar su lista en el estado de Veracruz. La obtención de ninfas de Aleyrodidae se realizó mensualmente de enero a noviembre de 2013 en los municipios de Tampico Alto y Ciudad Cuauhtémoc, donde se cortaban hojas de diferentes cultivos y maleza con ninfas de mosquitas blancas y se depositaban en cajas de Petri etiquetadas; posteriormente se trasladaban al Laboratorio de Taxonomía de Insectos y Ácaros del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Campus Saltillo, donde se esperaba la emergencia de los parasitoides adultos, de los cuales una parte se conservaba en viales de plástico de 2 mm con alcohol etílico al 75 %, y otra se montó en laminillas (porta-cubreobjeto) utilizando bálsamo de Canadá y aceite de clavo. La identificación taxonómica a nivel de especie se apoyó en las claves de Girault y Dodd, y Myartseva y colaboradores. *Encarsia* es el género de Aphelinidae más estudiado en México, 13 de estas especies se han localizado en Veracruz: *Encarsia catemaco*, *Encarsia dmitrii*, *Encarsia flaviceps*, *Encarsia trilineata*, *Encarsia tuxtla*, *Encarsia tampicana*, *Encarsia citrina*, *Encarsia clypealis*, *Encarsia colima*, *Encarsia perniciosi*, *Encarsia tuxpan*, *Encarsia americana* y *Encarsia dominicana*. Este estudio permitió registrar 4 nuevos reportes para el estado, siendo estas *Encarsia andrewi*, *Encarsia sophia*, *Encarsia tapachula* y *Encarsia trialeurodis*, que junto con las previamente registradas forma un total de 17 especies para el estado de Veracruz.

Palabras clave: *Encarsia*, moscas blancas, parasitoides, Veracruz.



GÉNEROS DE EULOPHIDAE (HYMENOPTERA) PRESENTES EN EL ESTADO DE NAYARIT

Valenzuela-García Rita Dinora¹, Aguirre-Uribe Luis Alberto¹, Flores-Dávila Mariano¹, Cerna-Chávez Ernesto¹, González-Hernández Alejandro², Landeros-Flores Jerónimo¹. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, C.P.25315, Saltillo, Coahuila, México; Universidad Autónoma de Nuevo León, C.P. 66450, San Nicolás de los Garza, Nuevo León. rita.dinora@gmail.com

Resumen. Dentro del Orden Hymenoptera, las avispas de la familia Eulophidae son de gran importancia económica ya que atacan a una gran variedad de insectos plaga. Esta familia se divide en cuatro subfamilias, Entedoninae, Euderinae, Eulphinae y Tetrastichinae. Debido a la gran diversidad que existe en esta familia y a que en el estado de Nayarit, México se cuenta con pocos trabajos sobre la diversidad en las zonas de cultivo, se planteó el objetivo de identificar los géneros de Eulophidae en la región costera del estado de Nayarit. El área de estudio se ubicó en los municipios de San Blas y Santiago Ixcuintla del estado de Nayarit, México. El trabajo de campo se realizó de octubre del 2012 a noviembre del 2013 con muestreos mensuales. Los insectos recolectados se trasladaron al Departamento de Parasitología Agrícola (DPA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) para su separación y montaje e identificación con las claves de Gibson *et al.*, 1997; Burks, 2003; Gibson 2000. Se recolectaron 1639 especímenes, en San Blas con 1390 y Santiago Ixcuintla 293. Los géneros registrados en el estado actualmente son *Tamarixia*, *Euderus*, *Aprostocetus* y *Sympiesis* para el estado. Se identificaron ocho géneros, de los cuales, siete no estaban reportados; *Paragaleopsomyia*, *Pnigalio*, *Euplectrus*, *Emersonella*, *Asecoedes*, *Chrysocharis* y *Euderus*. Estos fueron encontrados en maleza (*Amaranthus* sp., *Cynodon dactylon* y *Digitaria sanguinalis*), Jitomate (*Solanum sculentum* Mill.), Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y Tomate verde (*Physalis ixocarpa*).



DIVERSIDAD DE ARAÑAS (ARANEAE) EN CÍTRICOS DE TRASPATIO EN MICHOACÁN

Crystal Y. Bastida-Alcaraz¹, Cesar Duran-Barrón², Carlos A. García-Bonilla¹, Margarita Vargas-Sandoval¹, Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Salvador Aguirre-Paleo¹, Ana Carem Vilchis García¹. 1. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdena Esq. Berlin S/N, Uruapan, Michoacán. 2. Colección Nacional de Ácaros, Instituto de Biología, UNAM. vargasmarga@hotmail.com

Resumen. En México el cultivo de los cítricos es muy importante ya que se tiene los primeros lugares en producción y exportación, recientemente este cultivo se ha visto afectado por plagas y enfermedades que han acabado con grandes plantaciones. *Diaphorina citri* es una de las plagas principales no solo por los daños directos sino también por ser el vector de la bacteria causante del “Huanglongbing” o dragón amarillo de los cítricos. El objetivo de este trabajo plantea determinar la diversidad de arañas, en un ciclo anual en cítricos (naranja; naranja agria y limón) de traspatio en Ziracuaretiro y Cutzato, Michoacán, para uso potencial en control biológico de dicha plaga. Se hicieron colectas durante un ciclo anual y se obtuvo un total de 1,064 arañas, 501 para Ziracuaretiro y 563 para Cutzato. Se utilizaron tres métodos de colecta; colecta directa, lavado de brotes y manto. Los mejores resultados se obtuvieron con el manto, seguido por el lavado de brotes. Cabe mencionar que los cítricos muestreados se encontraban dentro de una huerta de aguacate, en Cutzato están en una huerta sin manejo, en contraste con los colectados en Ziracuaretiro que es una huerta en la que se hace un manejo convencional. Se han distinguido alrededor de 24 morfo especies de aproximadamente 16 familias, con una diferencia notable entre huertos y una abundancia importante de familias que pudieran ser usadas para control biológico. Agradecimiento: Financiado por proyecto P/PIFI-2013-16MSU0014T-04 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Palabras clave: Cítricos, Michoacán, Arañas, Control biológico Potencial



CECIDOMIDOS Y PARASITOIDES ASOCIADOS AL CULTIVO DEL AGUACATE EN MICHOACÁN

Carlos Alberto García-Bonilla¹, Refugio Lomeli-Flores², Margarita Vargas-Sandoval¹, Crystal Yesenia Bastida-Alcaraz¹, Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Teresita del Carmen Ávila-Val¹ y Felipe Delgado-Ortiz¹. 1. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Uruapan, Mich. vargasmarga@hotmail.com 2. Colegio de Postgraduados, Carr. México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Resumen. De los insectos del orden Diptera, se han registrado dos especies de Cecidomyiidae asociados al aguacate, en Guatemala *Asphondylia websteri*, y en Colombia y Costa Rica a *Bruggmanniella perseae*. El objetivo de este trabajo es dar a conocer el primer registro de *Bruggmanniella perseae* afectando aguacates mexicanos en Michoacán, México, así como los parasitoides e hiperparasitoides asociados a esta plaga.

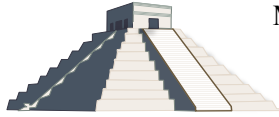
Se tomaron muestras de frutos sospechosos en una huerta de Ziracuaretiro durante un ciclo anual. Los frutos dañados tenían de 0.2 a 20 mm de diámetro, fueron abiertos y presentaron en su interior una, dos o hasta tres larvas de insecto. El 51.5% de los árboles presentó el cecidomido al menos una vez al año, con una infestación de frutos deformes entre 8 y 88%. Dentro de los frutos, asociados a las larvas de los cecidómidos, se encontraron larvas de Hymenoptera parasitoides en 42.2 % de las larvas de cecidomidos y de estos el 3.6% presentó hiperparasitismo.

Un conocimiento detallado de la taxonomía, biología y ecología del enemigo natural la mosca es una gran ventaja para el control biológico. Todos los parasitoides como los hiperparasitoides encontrados son ectoparasitoides solitarios y permiten que los hospederos crezcan después de ser atacados, es decir koinobiontes. Se recuperó un total de 1232 ejemplares de parasitoides y 45 hiperparasitoides en la siguiente proporción *Galeopsomyia* sp. (Eulophidae) 62.5%, *Torymus* sp. 1 (Torymidae) 6.25%, *Torymus* sp. 2 (Torymidae) 29.1% y 1 especie aún no determinada de Eulophidae 3.1%.

Es importante el alto porcentaje de infestación con cecidomidos durante la formación de los frutos porque aun cuando el grado de parasitoidismo también es alto y aparentemente no tendrían problemas para exportación, si existe una merma importante en la producción.

Agradecimiento: Financiado por proyecto P/PIFI-2013-16MSU0014T-04 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Palabras clave: Plaga emergente, Aguacate, Cecidomyiidae, Parasitoides



ÁCAROS DE LA PHYTOSEIIDAE EN MÉXICO

Margarita Vargas-Sandoval¹, José de Jesús Ayala-Ortega¹, Mayra Ramos-Lima², Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Héctor Guillén-Andrade¹, Xochitl Sánchez Lulo¹ y Ma. Marcela Ponce Zarco¹. 1. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdena esq. Berlín s/n, Uruapan, Mich. 2. Departamento de Medio Ambiente. Universidad de Tecnologías y Ciencias Aplicadas InSTEC. La Habana, Cuba. vargasmarga@hotmail.com

Resumen. Se sabe que alrededor de 27 familias de ácaros son depredadoras o parásitas de invertebrados que pueden ser plagas importantes en los agroecosistemas, pero solamente ocho son importantes en control biológico: Phytoseiidae, Stigmaeidae, Anystidae, Bdellidae, Cheyletidae, Hemisarcoptidae, Laelapidae y Macrochelidae. Los Phytoseiidae son los más importantes y los más conocidos.

El número de especies descritas de ácaros de la familia Phytoseiidae ha aumentado rápidamente, en 1951 se conocían 20 especies, en 30 años hubo un aumento de más de mil especies de tal forma que para 1986 se habían descrito ya 1500 especies. En la actualidad contamos con aproximadamente 2250 especies a nivel mundial. Esto debido al gran interés como depredadores de ácaros fitófagos, especialmente tetraníquidos. Chant y McMurtry en el 2007 proponen una clasificación taxonómica de la Familia que incluye tres subfamilias Amblyseinae con 9 tribus y 58 géneros, Phytoseiinae con tres géneros y Triphlodominae con 6 tribus y 19 géneros.

En México, ya desde 1959 y sobre diferentes especies de plantas, se realizaron registros de Phytoseiidae. De Leon (1961) encontró a *Typhlodromus ellipticus*, *T. alveolaris*, *T. adjacenti*, *T. cornus*, *T. conspicuus*, *T. floridanus*, *T. annectens*, *T. carinulatus*, *T. luculentis*, *T. pacificus* y *T. juniperi*, luego, este mismo autor reportó a *Amblyseius megaporus*, *A. chiapensis*, *A. coffeae*, *A. nayaritensis*, *A. gliricidii*, *A. arbuti*, *A. divisus*, *A. sinuatus*, *A. limonicus* y *A. largoensis*. Hasta la fecha se han registrado aproximadamente 109 especies asociados a diferentes cultivos depredando tanto ácaros como insectos, pero muy pocas son utilizadas en control biológico.

Agradecimiento: Financiado por proyecto P/PIFI-2013-16MSU0014T-04 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Palabras clave: Phytoseiidae, ácaros depredadores, México



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



CRÍA MASIVA Y CONTROL DE CALIDAD



EFECTO DEL ALIMENTO LARVARIO IRRADIADO Y SIN IRRADIAR EN EL PROCESO DE CRÍA MASIVA DEL PARASITOIDE *Diachasmimorpha longicaudata* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

Flor de María Moreno-Coutiño, Juan Heliodoro Luis-Álvarez, Dina Orozco-Dávila, María del Refugio Hernández-Ibarra y José Luis Quintero-Fong. Programa Nacional Moscas de la Fruta, Programa Operativo Moscafrut, SAGARPA-IICA. Calle Cacaohotales S/N, C.P. 30860. Metapa de Domínguez, Chiapas, México. juan.luis@iica-moscafrut.org.mx

Resumen. *Diachasmimorpha longicaudata* es un endoparásitoide de larvas maduras de moscas de la fruta, como parásitoide introducido es el mejor adaptado a condiciones de campo en América. En México actualmente en la Planta Moscafrut se producen 18 millones de pupas por semana. En cría masiva cumple su ciclo biológico dentro de su hospedero, el pupario de *Anastrepha ludens*, emergiendo 15 días después; en la parasitación se utiliza alimento larvario reciclado como vehículo, disipador de calor metabólico y como atrayente mezclado con larvas, esta mezcla simula la pulpa del fruto con el hospedero. En este estudio evaluamos el alimento larvario irradiado y sin irradiar, para determinar su uso como sustrato en la cría de *D. longicaudata*. Los resultados indicaron que no existen diferencias significativas en calidad, ni en producción, por lo que es factible utilizar el alimento larvario sin irradiar, además de considerar que es el tratamiento más barato y el que representa menos riesgos para el personal durante su manejo.

Palabras clave: Endoparásitoide, atrayente, dieta larvaria, irradiación

Introducción

Diachasmimorpha longicaudata es endoparásitoide solitario de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae), es originario de la región Indoaustraliana, introducido inicialmente a Hawaii para combatir la presencia de *Bractocera dorsalis* desde 1945 (Bess *et al.*, 1961), este parásitoide fue introducido en 1954 a México donde ha sido ampliamente utilizado en liberaciones inundativas contra moscas de la fruta y en 1994 en Brasil se introdujo para combatir *Anastrepha fraterculus* (Walder, 1995), porque ha demostrado su eficacia en el ataque de especies de importancia económica como *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *Bactrocera dorsalis* (Hendel) y *Anastrepha* spp. (Knipling, 1992; Montoya *et al.*, 2000). En la Planta Moscafrut se utiliza como hospederos de oviposición para hembras de *D. longicaudata*, larvas de *A. ludens* de tercer instar, son producidas sobre alimento larvario y previamente seleccionadas e irradiadas con 4.5 Krads. Este proceso implica que, para el proceso de parasitación, el alimento larvario se separe de la larva por medio de la utilización de una tómbola (proceso en seco) o bien en húmedo empleando el sistema ventury, esto depende de la textura de la dieta (seca o compacta, respectivamente). Posteriormente, se incorpora alimento larvario reciclado tratado con vapor durante 35 minutos con 1 kilogramo de presión, con la finalidad de eliminar larvas fértiles de moscas de *A. ludens* y de *Drosophila* spp. El alimento reciclado es empleado como vehículo y como disipador de calor metabólico cuando las larvas hospederas son ofrecidas a los parásitoides, de alguna manera esta



mezcla simula la pulpa del fruto con el hospedero. Además, se tiene la certeza de que funciona como atrayente para incentivar a la hembra del parasitoide a la oviposición. Esta actividad podría eficientizarse, considerando la condición de que emplear el tratamiento con irradiación se evitaría la pérdida de olores que podrían resultar atractivos a los parasitoides. En este proyecto, se evaluó el alimento larvario irradiado con el propósito de determinar su uso como sustrato en la cría de *D. longicaudata*. Su posible implementación reducirá costos y tiempo del personal que labora en este proceso. Así como, mejoras en los parámetros de calidad.

Materiales y Métodos

Las evaluaciones se realizaron en el módulo de producción del parasitoide *D. longicaudata* de acuerdo a la metodología establecida en la Planta Moscafrut. Se utilizaron para el proceso de parasitación, hembras del parasitoide de 5 a 10 días de edad, además de unidades de parasitación (1 bolsa de tela tricot de 12 x 30 cm). Cada unidad contiene, una proporción de 50 g de alimento larvario reciclado con 3,000 larvas irradiadas de *A. ludens* que se colocó dentro de un casete de plástico (de 14 x 23 cm) color amarillo, éste se insertó en una jaula (42 x 42 x 30 cm) con parasitoides. Normalmente, en el proceso de cría se realizan tres exposiciones de larvas a parasitoides. En la primera exposición que dura 1 hora se agregaron 3,000 larvas irradiadas en cada casete, para la segunda (que dura 1 hora) y tercera exposición (1.45 horas) se incorporaron 2,300 larvas. Se utilizaron los siguientes tratamientos: a) larvas irradiadas (4.5 Krads) de *A. ludens* de tercer instar más alimento larvario sin tratamiento de vapor de agua y sin irradiación, en este tratamiento el alimento fue previamente tamizado manualmente por medio de una malla mosquitera de fibra de vidrio de 1.5 mm de diámetro. b) Larvas irradiadas (4.5 Krads) de *A. ludens* de tercer instar más alimento larvario irradiado (8 Krads). c) Y como testigo, larvas irradiadas (4.5 Krads) de *A. ludens* de tercer instar más alimento larvario reciclado y tratado con vapor. Los tratamientos se probaron en las tres exposiciones larvarias.

Se evaluaron parámetros de calidad (pupación, mortalidad larvaria a 72 horas, peso de pupa, viabilidad de la pupa, emergencia y proporción sexual) y de producción (porcentaje de transformación larva- pupa). Se evaluaron 6 repeticiones de cada tratamiento.

Los datos de pupación, viabilidad y emergencia, previo al análisis estadístico se normalizaron por medio de la transformación arco seno y se analizaron por medio de un análisis de varianza de un solo factor, seguido de una comparación múltiple de medias de Tukey.

Resultados

Los resultados de parámetros de calidad evaluados en los tratamientos de alimento tratado con vapor, irradiado y sin tratamiento se muestran en el cuadro 1.



Cuadro 1. Parámetros de calidad de *D. longicaudata* tratada con alimento larvario con vapor, irradiada y sin irradiar.

Parámetros de calidad	T1 (testigo) Alimento tratado con vapor	T2 Alimento tratado con irradiación	T3 Alimento sin vapor y sin irradiación
Pupación	74.48 a	74.76 a	74.56 a
Mortalidad	03.86 a	03.76 a	03.98 a
Peso de pupa	12.48 a	12.60 a	12.55 a
Pupa viable	79.41 a	79.43 a	80.72 a
Transf. larva-pupa	90.39 a	88.17 a	92.11 a
Emergencia	69.84 a	70.78 a	69.77 a
Proporción sexual	02.88 a	03.01 a	02.92 a

Media con distinta letra en una fila indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Los resultados del estudio no indicaron diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros de pupación a 72 horas ($F=0.01$; $GL=2,51$; $P=0.991$), mortalidad larvaria a 72 horas ($F=0.29$; $GL=2,51$; $P=0.751$) peso de pupa ($F=0.16$; $GL=2,51$; $P=0.852$), Viabilidad de pupa ($F=0.37$; $GL=2,51$; $P=0.694$), Transformación larva-pupa ($F=2.36$; $GL=2,51$; $P=0.104$), emergencia ($F=0.09$; $GL=2,51$; $P=0.917$) y proporción sexual ($F=0.00$; $GL=2,51$; $P=0.997$).

Discusiones

Los resultados del estudio no indican efecto significativo de la dieta larvaria irradiada y sin irradiar en el proceso de cría del parasitoide *D. longicaudata*. Los resultados de calidad larvaria, pupa y adulto entre los tres tratamientos evaluados fueron similares. De acuerdo a las observaciones realizadas en el proceso de parasitación, los parasitoides se posaron sobre los casetes de manera muy similar en los tres tratamientos y de acuerdo a los resultados de calidad, la oviposición de los parasitoides sobre los hospederos no presentó diferencias significativas. Sin embargo, se observaron algunas diferencias de olor y color, principalmente en el tratamiento de dieta sin vapor e irradiación donde se detectaron aparentes olores de acetaldehído, característico de frutos en proceso de fermentación y que en este caso, es generado por los azúcares y proteínas contenidos en el alimento larvario. Se documenta que los parasitoides responden a compuestos volátiles de organismos asociados con sus hospederos o sus hábitats (Dicke, 1988). Por ejemplo, un hongo asociado con larvas de moscas tefritidas en frutas produce acetaldehído, el cual atrae a *D. longicaudata* (Greany *et al.*, 1977). Considerando lo anterior, existe la posibilidad de que los tratamientos de vapor o de irradiación sobre el alimento larvario reciclado, estén eliminando microorganismos (hongos o bacterias) que estén asociados en la producción de acetaldehídos y por ende se estén eliminando los atrayentes que el parasitoide requiere para llevar a cabo la parasitación. Sin embargo, al ser los parasitoides de cría es posible que estos atributos hayan disminuido y no se reflejen en los estándares de calidad. En la coloración de dieta, la más oscura fue observada en el tratamiento irradiado, menos oscura el tratamiento con vapor, finalmente el color más claro fue el tratamiento sin vapor y sin irradiación, el cual no fue alterado en sus características de color.

De acuerdo a los resultados, la utilización de alimento larvario sin vapor y sin irradiar representaría un ahorro económico para el Programa Moscafrut. Además, es importante



mencionar los beneficios al medio ambiente al eliminar el consumo de combustible que provoca la emisión de gases y evita riesgos de daños a la salud del personal.

Por otra lado, irradiar el alimento larvario reciclado para la exposición larvaria del parasitoide, puede ser otra alternativa, ya que no representaría un gasto de la fuente de irradiación al tener un periodo de vida media se use o no se use (comunicación personal con Yeudiel Gómez-Simuta, encargado del Área de Irradiación).

En conclusión, los resultados del estudio indican que es viable la implementación del alimento larvario irradiado y sin irradiar en los procesos de cría del parasitoide *D. longicaudata*.

Agradecimientos. Se agradece al personal de Producción, Control de Calidad, Irradiación y de Validación Tecnológica del Programa Moscafrut por su valiosa colaboración para el desarrollo de este proyecto. Esta investigación fue financiada por el Programa Nacional Moscas de la Fruta, Programa Operativo Moscafrut.

Literatura Citada

- Bess, H.A., R. Van Den Bosch and F. Haramoto. 1961. Fruit fly parasites and their activities in Hawaii. Proc. Hawaiian Entomol. Soc. 17:367-378.
- Dicke, M. 1988. Microbial allelochemicals affecting the behavior of insects, mites, nematodes, and protozoa in different trophic levels, pp. 125-163. In: Barbosa, P. and D.K. Letourneau (eds.). Novel Aspects of insect-Plant Interactions. John Wiley and Sons, New York.
- Greany, P.D., J.H. Tumlinson, D.L. Chambers, and G.M. Bousch. 1977. Chemically-mediated host finding by *Biosteres (Opius) longicaudatus*, a parasitoid of tephritid fruit fly larvae. Journal of Chemical Ecology 3:189-195.
- Knipling E. F. 1992. Insect parasitism analyzed from new perspective. Agriculture Handbook. USDA. Washinton, D.C. pp. 101-143.
- Montoya, P., P. Liedo, B. Benrey, J. Cancino, J. Barrera, J. Sivins and M. Aluja. 2000. Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through amentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). Biological Control. 18:216-224.
- Walder, J.M.M. & S. R.V. Sarries. 1995. Introducción del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) para control de moscas de la fruta en el estado de Sao Paulo. Memorias. XV. Congreso de Entomología. Brasil. Pp. 299-230.



EVALUACIÓN DE ASERRÍN COMO SUSTRATO DE PUPACIÓN EN LA CRÍA MASIVA DE *Diachasmimorpha longicaudata* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

Jorge Cancino-Díaz, Flor de María Moreno-Coutiño, María del Refugio Hernández-Ibarra, Juan H. Luis-Álvarez, Dina Orozco-Dávila y **José Luis Quintero-Fong**. Programa Nacional Moscas de la Fruta, Programa Operativo Moscafrut, Camino a los Cacahotales S/N. CP., 30860, Metapa de Domínguez, Chiapas, México.
jose.quintero@iica-moscafrut.org.mx

Resumen. La investigación se realizó en el programa operativo Moscafrut, en el proceso de cría del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) ubicada en Metapa de Domínguez, Chiapas, México. El objetivo fue evaluar el aserrín (desperdicio del proceso de serrado de la madera) como sustrato de pupación de *D. longicaudata*. Este sustrato tiene como característica principal su bajo costo, fácil adquisición y es biodegradable. La posibilidad de eliminar el uso de vermiculita en los procesos de cría, evitará problemas de desecho, costos y de salud para el personal que maneja este producto. Se utilizaron como unidades experimentales lotes de larvas de *Anastrepha ludens* recién parasitadas, cada lote fue dividido en dos tratamientos: a) Larvas con vermiculita (Testigo) y b) larvas con aserrín. Los datos se analizaron por medio de un análisis de t-student con un nivel de probabilidad del 95%. Los resultados del estudio no indicaron diferencias significativas de producción y calidad entre los sustratos de aserrín y vermiculita. En conclusión, el uso del aserrín es viable para el proceso de cría del parasitoide de *D. longicaudata*.

Palabras claves: Endoparasitoide, *Anastrepha ludens*, Cría masiva, Transformación larva-pupa, Sincronización de la emergencia.

Introducción

En México a partir de 1992, se puso en marcha la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta, con el objetivo de crear zonas libres y de baja prevalencia de moscas de la fruta nativas de importancia económica que pertenecen al género *Anastrepha* Schiner. La campaña utiliza un enfoque de manejo de plagas que incluye el uso de estrategias favorables al medio ambiente para suprimir o erradicar la mosca de la fruta, como la aplicación de cebos tóxicos selectivos, el uso de la técnica del insecto estéril (TIE), y programas de control biológico como la liberación del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Montoya *et al.* 2007). *D. longicaudata* es un endoparasitoide solitario exótico de moscas de la fruta, originario de la región indo-pacífico que ha sido dispersado en América y Hawaii (Ovrusky *et al.* 2000). En México comúnmente parasita larvas del tercer estadio (fase larva-pupa) del género *Anastrepha*, particularmente de frutas comerciales exóticas en el estado de Veracruz (Sivinski *et al.* 2000; Sivinski *et al.* 2001) y también están siendo criados masivamente en larvas de *A. ludens* en el estado de Chiapas (Cancino *et al.* 2002; Montoya and Cancino 2004). Actualmente, la Planta Moscafrut de Metapa de Domínguez, Chiapas, produce semanalmente en promedio 16 millones de *D. longicaudata* que son enviados para su liberación a los estados de Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Zacatecas y Sinaloa. Su cría implica mantener altos estándares de calidad y sincronización de las emergencias para su liberación. Un parámetro importante en la sincronización es la pupación, ya que permite evitar



desfases durante la emergencia de los adultos (Meza *et al.* 2005). En la planta Moscafrut, se utiliza como sustrato de pupación vermiculita, el cual por sus características (similares al suelo) favorece la pupación de la larva, al mantenerse en condiciones de temperatura y humedad adecuada para el proceso de transformación larva-pupas de moscas de la fruta (Asley *et al.* 1976, Greany *et al.* 1977, Alyokhin *et al.* 2001, Hulthen y Clarke 2006). A pesar de que este sustrato es viable para la pupación, existen problemas de desecho (no biodegradable), costos y de salud para el personal que maneja este producto. Con el objetivo de eliminar el uso de la vermiculita en los procesos de cría de *D. longicaudata*, en este estudio evaluamos el sustrato de aserrín (desperdicio del proceso de serrado de la madera), el cual presenta como característica principal su bajo costo y fácil adquisición.

Materiales y Métodos

Las evaluaciones se realizaron en el proceso de cría de la Planta Moscafrut ubicada en Metapa de Domínguez, Chiapas. Se utilizaron como unidades experimentales lotes de larvas de *Anastrepha ludens* recién parasitadas con *D. longicaudata*, cada lote fue dividido en dos tratamientos: a) 1.0 kg de larvas por charola (77x40x7 cm) con 1.5 litros de vermiculita (testigo). b) 1.0 kg de larvas por charola con 1.5 litros de aserrín (prueba). Lotes provenientes de la primera, segunda y tercera exposición larvaria fueron evaluados. En la planta Moscafrut, se realizan tres exposiciones larvarias para el proceso de cría. Se evaluaron parámetros de calidad: pupación, mortalidad larvaria a 72 horas, peso de pupa, viabilidad de pupa, emergencia y longevidad sin agua y sin alimento. También se determinó la producción de pupas de cada uno de los tratamientos. Se evaluaron seis repeticiones para cada uno de los tratamientos y exposiciones larvarias.

Análisis de datos. Los datos de pupación, mortalidad larvaria a 72 horas, viabilidad, emergencia y transformación larva-pupa, se normalizaron antes del análisis por medio de la transformación arcoseno. Los resultados fueron analizados por medio de un análisis de t-student, el valor de significancia usado en esta prueba fue de 95%. El análisis estadístico se realizó con el software Minitab 16.

Resultados y discusión

La pupación del hospedero es un proceso importante en la cría de *D. longicaudata*, en su interior se incuba y desarrolla la larva-pupa-adulto del parasitoide. Los resultados del estudio no indican diferencias significativas de producción, ni de calidad entre los sustratos de aserrín y vermiculita. Esto indica la posibilidad de utilizar el aserrín en los procesos de cría del parasitoide *D. longicaudata*. Además del bajo costo y fácil adquisición, es un producto biodegradable que facilitaría su desecho. De acuerdo a pruebas preliminares (no reportadas), parece ser que existe también la posibilidad de su reciclado, lo cual favorecería aun más su uso y almacenaje. Este sustrato ha sido empleado como medio de pupación en diversos estudios (Hurtrel *et al.* 2001; Kitthawee 2000) y en la colonización de parasitoides como *Fopius ceratitivorius* Wharton (Lopez *et al.* 2003), sin embargo, no existe estudios que avalen su uso a nivel de cría masiva.

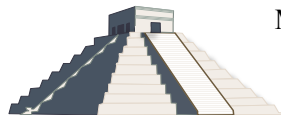


Tabla 1. Parámetros de calidad y producción de *D. longicaudata* con sustrato de aserrín y vermiculita.

Sustratos de pupación	Transf. Larva-pupa (%)	Larva viva 72 horas.	Pupación (%)	Mortalidad 72 horas (%)	Peso de pupa (mg)	Viabilidad (%)	Emergencia (%)	Longevidad (horas)
1ª. Exposición Larvaria								
Aserrín	74.45±2.05 a	11.68±2.83 a	80.69±2.27 a	8.63±1.10 a	12.19±0.20 a	77.50±2.23 a	63.38±2.95 a	210.41±10.3 a
Vermiculita	77.32±1.21 a	9.74±2.03 a	79.69±3.24 a	9.57±2.09 a	12.36±0.20 a	75.17±2.15 a	66.33±2.84 a	212.67±6.46 a
2ª. Exposición Larvaria								
Aserrín	78.70±4.07 a	14.62±1.52 a	78.10±3.30 a	6.00±0.35 a	12.52±0.28 a	76.83±1.05 a	71.47±1.95 a	220.71±8.61 a
Vermiculita	81.26±2.86 a	13.72±2.51 a	79.39±1.73 a	8.16±1.69 a	12.56±0.25 a	74.17±2.52 a	72.57±2.15 a	209.13±5.56 a
3ª. Exposición Larvaria								
Aserrín	80.84±2.52 a	14.10±3.45 a	84.67±3.32 a	4.94±0.80 a	12.32±0.23 a	75.67±4.50 a	77.33±0.83 a	213.25±5.67 a
Vermiculita	84.14±1.07 a	9.79±2.21 a	80.96±3.86 a	5.54±1.15 a	12.70±0.19 a	80.83±1.70 a	78.33±1.19 a	212.35±7.26 a

Media con distinta letra indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

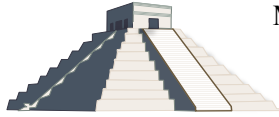
En conclusión, los resultados de este estudio indican la viabilidad de utilizar el aserrín en el proceso de cría del parasitoide *D. longicaudata*.

Agradecimientos

Se agradece a Marco P. Pérez, José L. Zamora, Jesús A. Escobar, Facundo D. y Juan H. Luis (Programa Moscafrut) por su invaluable asistencia técnica y al grupo de trabajo de cría masiva y de control de calidad de *D. longicaudata*. Esta investigación fue financiada por el Programa Nacional Moscas de la Fruta, Programa Operativo Moscafrut.

Literatura citada

- Alyokhin, A. V., C. Mille, R. H. Messing, & J. J. Duan. 2001. Selection of Pupation Habitats by Oriental Fruit Fly Larvae in the Laboratory. *Journal of Insect Behavior*. 14: 57-67.
- Cancino, J., L. Ruiz, Y. Gomez, and J. Toledo. 2002. Irradiación de larvas de *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) para inhibir la emergencia de moscas en la cría del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Folia Entomol. Mex.* 41:195-208.
- Greany, P. D., G. E. Allen, J. C. Webb, J. L. Sharp & D. L. Chambers. 1977. Stress-induced septicemia as an impediment to laboratory rearing of the fruit fly parasitoid *Biosteres (opius) longicaudatus* (Hymenoptera: Braconidae) and the Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Invertebrate Pathology*. 29:156-161.
- Kitthawee, S. 2000. Seasonal Occurrence of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae) in a Guava Orchard in Central Thailand. *ScienceAsia*. 26: 87-92
- Hulthen, A. D. & A. R. Clarke. 2006. The influence of soil type and moisture on pupal survival of *Bactrocera tryoni* (Froggatt)(Diptera: Tephritidae). *Australian Journal of Entomology*. 45: 16-19.
- Hurtrel, B., Quilici, S., Nenon, J.P. & LeLannic, J. 2001. Preimaginal developmental biology of *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron), a parasitoid of the mediterranean fruit fly. *Insect Science and its Application* 21: 81-88.
- Lopez, M., J. Sivinski, P. Rendon, T. Holler, K. Bloem, R. Copeland, M. Trostle, and M. Aluja. 2003. Colonization of *Fopius ceratitivorus*, a newly discovered African egg-pupal parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*. 86: 53-60



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Meza, J. S., F. Díaz Fleischer, and D. Orozco. 2005. Pupariation time as a source of variability in mating performance in mass-reared *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 98: 1930–1936.
- Montoya, P. y Cancino, J. 2004. Control biológico por aumento en moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae). *Folia Entomol. Mex.* 43:257–270.
- Montoya, P. y Cancino, J. Zenil, M., Santiago, G., and Gutierrez, J. M. 2007. The augmentative biological control component in the Mexican National Campaign against *Anastrepha* spp. fruit flies, pp. 661-670.
- Ovruski, S. M., M. Aluja, J. Sivinski, and R. A. Wharton. 2000. Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. *Int. Pest Management Rev.* 5:81–107.
- Sivinski, J., J. Piñero, and M. Aluja. 2000. The distributions of parasitoids (Hymenoptera) of *Anastrepha* fruit flies (Diptera: Tephritidae) along an altitudinal gradient in Veracruz, Mexico. *Biol. Control* 18:258–269.
- Sivinski, J., K. Vulinec, and M. Aluja. 2001. Ovipositor length in a guild of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) attacking *Anastrepha* spp. fruit flies (Diptera: Tephritidae) in southern Mexico. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 94:886–895.



ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN MASIVA DEL PARASITOIDE *Tamarixia radiata* (WATERSTON) CON RELACIÓN A SEIS PARÁMETROS BIOLÓGICOS

González-Cabrera, Jaime, Nora I. Vizcarra-Valdez, Jorge A. Sánchez-González, Yadira Contreras Bermúdez y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, CNRF-DGSV, SENASICA. Km 1.5 Carr. Tecomán-Estación FFCC, Tecomán, Colima, México, 28110. jgonz017@ucr.edu

Resumen. Desde la tecnología de reproducción hasta la implementación del programa de control biológico con liberaciones de *T. radiata*, México ha sido una referencia nacional e internacional por su volumen de producción e infraestructura, sin embargo en el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB es una constante la variación en los niveles de producción a lo largo del año. En este trabajo se analizaron estadísticamente seis parámetros biológicos registrados durante cuatro años (2011 a 2014) para comprobar estadísticamente la correlación y el efecto de los factores ambientales sobre la producción del parasitoide y la evolución del nivel de producción.

Palabras clave: Cría masiva, Huanglongbing, psílido asiático de los cítricos.

Introducción

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorinacitri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) es considerado una amenaza importante para la citricultura Mexicana porque tiene la capacidad de transmitir la bacteria del floema *Candidatus Liberibacter* spp., causante de la enfermedad conocida como Huanglongbing o HLB de los cítricos. Ante esta problemática el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), ha venido implementando una estrategia integral en contra de dicho vector que incluye la producción y liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Himenóptera: Eulophidae) como herramienta de manejo en áreas sin aplicaciones de insecticidas. Esta actividad tiene antecedentes exitosos como agente de control biológico de *D. citri* (Etienne and Aubert, 1980; Hall *et al.*, 2012; Mead and Fasulo, 1998; Shivankar *et al.*, 2000).

Desde su implementación hasta la fecha, esta tecnología de reproducción y liberación de *T. radiata* ha sido una referencia nacional e internacional por su volumen de producción e infraestructura, dado que se han capacitado en este Laboratorio más de 500 personas provenientes de México y de otros países interesados en instalar sus propias colonias de cría masiva (Sánchez-González *et al.*, 2011). En el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB constantemente se evalúan e integran al proceso prácticas y actividades que ayudan en la optimización del proceso de reproducción del parasitoide, sin embargo es una constante la variación de los niveles de producción a lo largo del año (Arredondo-Bernal *et al.*, 2010), ocasionada principalmente por las condiciones climáticas que se registran en el área de producción en Tecomán, Colima, México donde la temperatura mínima mensual que se registra de diciembre a abril fluctúa entre 12 hasta 14.4 °C (SMN, 2013), dicha temperatura alcanza valores cercanos al límite mínimo para la cría del psílido asiático (15 °C) (Liu and Tsai, 2000) y del



parasitoide (11 °C) (Chien and Chu, 1996; Ching-Chin *et al.*, 1993); y la temperatura máxima mensual se registra de mayo a noviembre y fluctúa entre 36.2 a 37.1 °C, temperatura que sobrepasa el límite máximo para la cría de ambos organismos, que es de 30°C (Liu and Tsai, 2000; Nakata, 2006; Yubing, 1989) y 35 °C respectivamente (Ching-Chin *et al.*, 1993; Gomez-Torres *et al.*, 2012; Quilici and Fauvergue, 1990). Asimismo, la temporada de lluvias se presenta de junio a octubre con una precipitación pluvial de 810.6 mm anuales (SMN, 2013). Lluvias abundantes disminuyen las poblaciones naturales de *D. citri* (Graca, 1991; Moreno-Pérez *et al.*, 2008; Sánchez-Borja, 2010) y probablemente también disminuyen el parasitismo de *T. radiata* (Vizcarra-Valdez *et al.*, 2012).

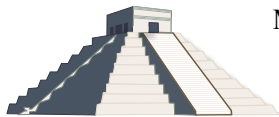
Este trabajo tiene como objetivo analizar estadísticamente los datos de la producción masiva de *T. radiata* del CNRCB con base en seis parámetros biológicos registrados durante cuatro años (2011 a 2014) para comprobar estadísticamente la correlación y el efecto de los factores ambientales sobre la producción del parasitoide y la evolución del nivel de producción. Se espera que el análisis y los resultados aquí presentados den la pauta para métodos, infraestructura y proyecciones de volumen de producción de las nuevas y establecidas crías de *T. radiata*.

Metodología

Los datos analizados fueron registrados en el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB en Tecoman, Colima, México. Se analizaron seis parámetros biológicos monitoreados diariamente: plantas destinadas a infestación, plantas infestadas, brotes infestados por planta, ninfas por brote, porcentaje de parasitismo y días de desarrollo de *T. radiata* (huevo a pupa); asimismo se estudió la influencia de los factores ambientales (temperatura y humedad relativa) sobre estos seis parámetros biológicos desde enero 2011 a agosto 2014. Las medias, así como sus errores estándares de la producción diaria de parasitoides y de los seis parámetros biológicos fueron calculadas a través de un diseño factorial 2K (mes y año de la toma de datos), y las diferencias estadísticas entre grupos (años) se analizaron a través de pruebas de ANDEVA, con ajuste Tukey. Adicionalmente, las plantas destinadas a infestación, plantas infestadas, brotes infestados por planta y ninfas por brote fueron correlacionados con los datos de temperatura en °C (mínima, promedio y máxima) y humedad relativa (mínima, promedio y máxima) (medidor ambiental HOBOPRO v2.6 Ext.T/RH[®]. Onset Computer Corporation, Massachusetts, USA) registrados directamente en el área de producción. De igual manera, el porcentaje de parasitismo y el tiempo de desarrollo del parasitoide fueron correlacionados con las condiciones ambientales que se presentaron durante los días transcurridos entre la entrada y salida de parasitación. Todos los datos de este trabajo se analizaron con el paquete estadístico SAS V.9.2 (SAS, 2011) y se usó una significancia ≤ 0.05 .

Resultados y discusión

Las modificaciones en el proceso de producción de *T. radiata* han dado resultados positivos, ya que las plantas han registrado más brotes infestados con ninfas del tercer al quinto instar de *D. citri* y mayor cantidad de ninfas de este tipo por brote durante los meses evaluados del 2014



(5.42 ± 0.28 brotes y 30.67 ± 2.18 ninfas) que durante los meses del 2012 (4.3 ± 0.2 brotes y 24.5 ± 1.54 ninfas) y 2013 (3.052 ± 0.31 brotes y 17.57 ± 2.39 ninfas) (figura 1, incisos C y D respectivamente). También, en el 2014 se registró mayor número de plantas destinadas a infestación (202.46 ± 7.37) en comparación con el 2013 (153.99 ± 6.29) (figura 1, inciso A). Estos tres parámetros biológicos de la cría de *T. radiata* se correlacionaron 64.74, 70 y 58.21% con la temperatura y humedad relativa registradas respectivamente (regresión lineal múltiple, $gl = 5$, $r^2 \geq 0.5821$, $f \leq 7$, $p \leq 0.0059$) (tabla 1), es decir, por lo menos el 58% de la fluctuación de estos tres parámetros biológicos están condicionados directamente con la fluctuación anual de estos dos factores ambientales. La producción de *T. radiata* es un proceso complejo, existen otros factores involucrados en la fluctuación restante, entre ellos la capacitación del personal, fenómenos meteorológicos de consideración, calidad de los insumos, el grado de reuso de las plantas de producción, entre otros.

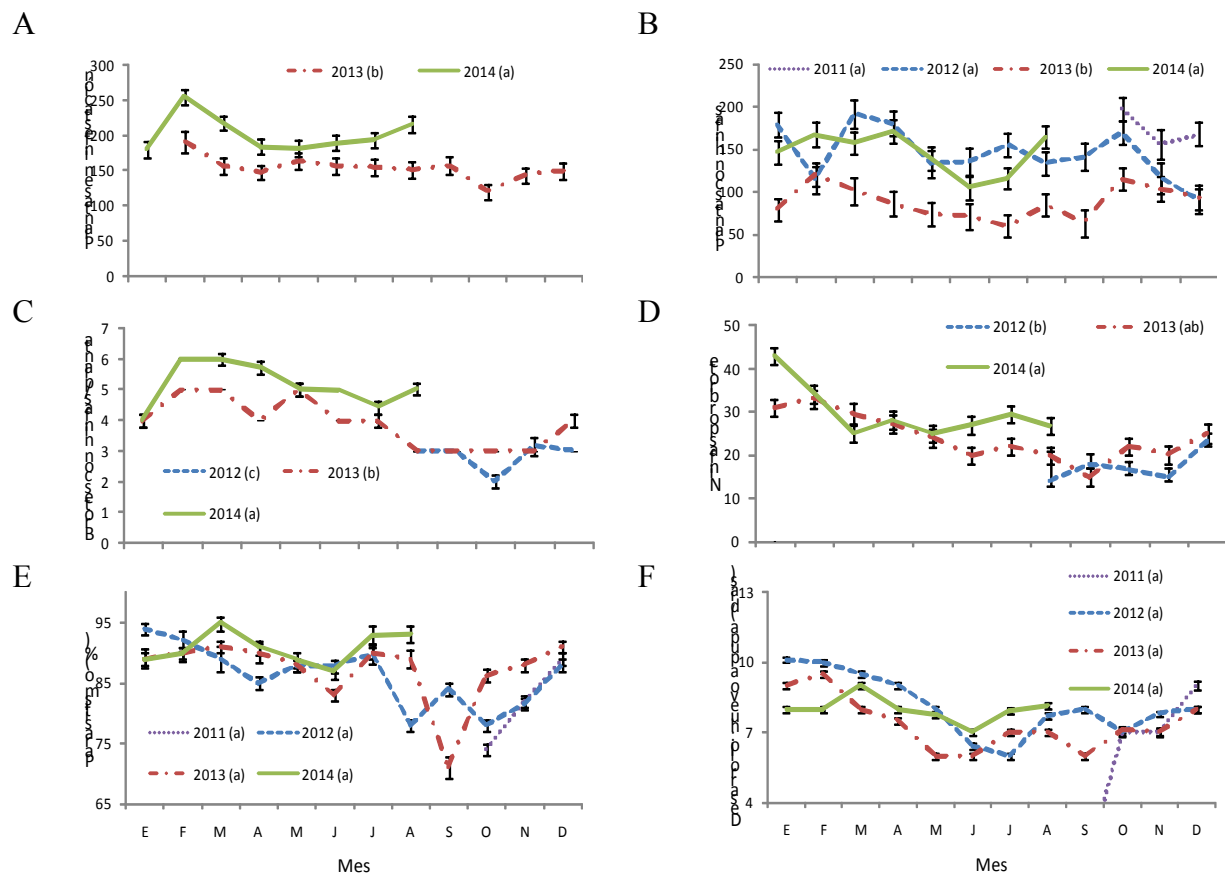


Figura 1. Promedio diario por mes de parámetros biológicos en la cría de *T. radiata*: (A) plantas a infestar por *D. citri*, (B) plantas infestadas con ninfas del tercer al quinto ínstar de *D. citri*, (C) brotes infestados con ninfas del tercer al quinto ínstar de *D. citri* por planta, (D) ninfas del tercer al quinto ínstar de *D. citri* por brote, (E) porcentaje de parasitismo y (F) tiempo de desarrollo del parasitoide *T. radiata* desde huevo hasta pupa en días. Mediciones seguidas por la misma letra son iguales. Diseño factorial 2K/ANDEVA, ajustado con Tukey y $P \leq 0.05$.



El porcentaje de parasitismo estadísticamente fue el mismo durante los meses evaluados de los casi cuatro años (figura 1, inciso E), este fue 82.08 ± 2.95 , 86.58 ± 1.47 , 87.47 ± 1.47 y $90.51 \pm 2.08\%$ para 2011, 2012, 2013 y 2014, respectivamente. Este parámetro se correlaciono 67.55% con la temperatura y humedad relativa (regresión lineal múltiple, $gl = 5$, $r^2 = 0.6755$, $f = 4.29$, $p < 0.0067$) (tabla 1), es decir la fluctuación de estos factores ambientales determina en gran manera el parasitismo anual de *T. radiata*; quizá el otro 32.45% de fluctuación en este parámetro depende de la biología y comportamiento del parasitoide. En lo que respecta al parámetro de plantas infestadas con ninfas de *D. citri* del tercer al quinto instar estadísticamente se produjo una cantidad similar durante los cuatro años evaluados a excepción del 2013 donde se produjo una menor cantidad de plantas infestadas. El promedio diario por año de plantas infestadas fue de 88.44 ± 14.42 , 173.94 ± 13.81 , 148.21 ± 14.76 y 145.13 ± 15.94 , respectivamente (figura 1, inciso B). La cantidad de plantas infestadas se correlaciono 56.65% con los factores ambientales (regresión lineal múltiple, $gl = 6$, $r^2 = 0.5665$, $f = 2.61$, $p = 0.0739$) (tabla 1).

En otros reportes de crías de *T. radiata* se ha reconocido que los factores ambientales, por ejemplo la temperatura (mínima y máxima), influyen en la producción de ninfas que se producen como sustrato para la producción de *T. radiata* (López-Arroyo *et al.*, 2009). Con respecto al tiempo de desarrollo del parasitoide de huevo a pupa, a lo largo de los años de producción no ha habido diferencias estadísticas, la duración promedio fue 7.72 ± 0.6 , 8.32 ± 0.3 , 7.65 ± 0.3 y 8.46 ± 0.42 días, para los meses evaluados del 2011, 2012, 2013 y 2014, respectivamente (figura 1, inciso F). El tiempo de desarrollo del parasitoide se relacionó 54.48% con los factores ambientales (regresión lineal, $gl = 6$, $r^2 = 0.5485$, $f = 3.85$, $p = 0.0111$) (tabla 1).

A lo largo de los años, exceptuando el 2013 (5821.89 ± 277 promedio de parasitoides producidos/día), se registró un aumento en la producción de parasitoides: 4958.55 ± 275.66 , 7134.58 ± 274.77 y 8990.65 ± 338.43 para el 2011, 2012 y 2014, respectivamente (figura 2) (diseño factorial 2K/Andeva, $gl = 3$, $f = 23.91$, $p < 0.0001$). Esta producción de parasitoides se correlacionó principalmente con el número de plantas infestadas con ninfas de *D. citri* que entraron al área de parasitación y con la cantidad de brotes infestados con ninfas que tuvieron esas plantas (regresión lineal múltiple, $gl = 6$, $r^2 = 0.8664$, $f = 10.81$, $p = < 0.0007$) (tabla 2). El poder predictivo de estas dos últimas variables fue de 76.66% y su ecuación lineal que mejor describió la producción de parasitoides fue $Y = -10040 + 47.56$ (plantas con ninfas) $+ 2617.96$ (brotes por planta) (regresión lineal múltiple, $gl = 2$, $r^2 = 0.7666$, $f = 32.85$, $p = < 0.0001$), es decir la cantidad de parasitoides aumenta cuando se tiene mayor número de plantas y brotes infestados con ninfas. En otros reportes de crías de *T. radiata* se ha reconocido que la disponibilidad oportuna de plantas de calidad, y por consecuencia su número de brotes con ninfas, es una limitante en la producción de *T. radiata* (Arredondo-Bernal *et al.*, 2010; López-Arroyo *et al.*, 2009; Sánchez-González y Arredondo-Bernal, 2011).

La producción de *T. radiata* vario mensualmente, i.e., durante ciertos meses la producción fue hasta tres veces más grande que los meses de baja producción (figura 2). Dicha variabilidad fue ocasionada por la fluctuación mensual de sus seis parámetros biológicos, i.e., es decir se registraron meses con altos y bajos valores numéricos, por ejemplo en algunos meses se registró



un parasitismo de 95% y en algunos otros un parasitismo del 70% (figura 1). Estos seis parámetros biológicos de la cría de *T. radiata* fluctuaron mensualmente (en promedio aproximadamente 62%) con relación a la variabilidad anual de la temperatura y la humedad relativa; por lo que para mantener más estable la producción mensual de parasitoides se recomienda regular en mayor grado la temperatura y la humedad relativa en las instalaciones de producción.

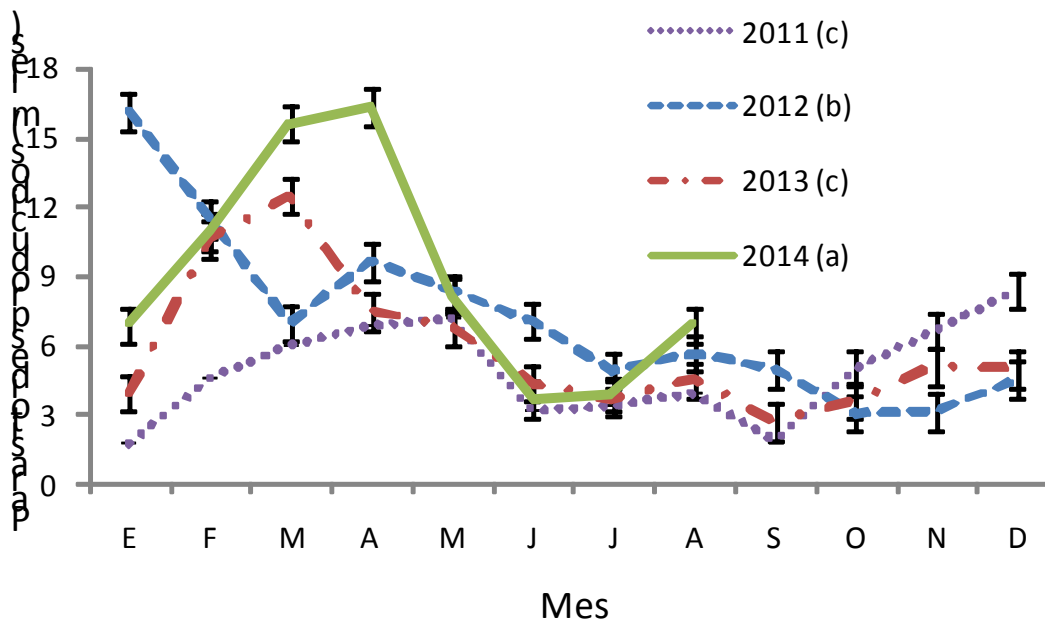


Figura 2. Promedio diario por mes de parasitoides producidos desde enero del 2011 a agosto del 2014. Mediciones seguidas por la misma letra no son estadísticamente diferentes. Diseño factorial 2K/Andeva, ajustado con Tukey y $P \leq 0.05$.

Conclusión

Durante los años analizados, el proceso de producción de *T. radiata* en el Laboratorio del CNRCB ha mejorado en tres (cantidad de plantas destinadas a infestación, cantidad de brotes infestados por planta y cantidad de ninfas por brote) de sus seis parámetros biológicos evaluados; lo que se ha reflejado en un aumento en la producción de parasitoides; 6692.03 ± 2114.15 , 7147.43 ± 1057.07 , 5851.78 ± 1057.07 y 10270.5 ± 1494.93 parasitoides/día para el 2010, 2011, 2012, 2013 y 2014, respectivamente. Este aumento en la producción ha ayudado a reforzar el combate en contra del vector del HLB porque ha permitido hacer liberaciones del parasitoide en un área geográfica más grande; en el 2010 se liberaba solo en Colima, pero a partir del 2011 se incluyó Jalisco y Nayarit; en el 2013, se incluyó Michoacán, y recientemente en el 2014 se ha liberado parasitoides también en Baja California Sur y San Luis Potosí.

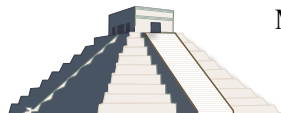


Tabla 1. Regresión lineal múltiple entre seis parámetros biológicos de la cría de *T. radiata* con la temperatura y la humedad relativa.

1. Plantas a infestar	Temperatura					Humedad relativa							
Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P	Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P		
R² = 0.5821 F= 4.41 P= 0.0059	Intercepto	1	-1446.44	374.557	-3.86	0.0011	R² = 0.5665 F= 2.61 P= 0.0739	Intercepto	1	-1321.11	708.719	-1.86	0.09
	Temperatura							Temperatura					
	Promedio	1	138.481	31.1192	4.45	<.0003		Promedio	1	127.0012	47.4545	2.68	<.0202
	Máxima	1	-47.7975	14.6398	-3.26	<.0041		Máxima	1	-44.9471	45.4835	-0.99	0.34
	Mínima	1	-69.3694	16.5574	-4.19	<.0005		Mínima	1	-65.0735	22.5411	-2.89	<.0137
	Humedad relativa							Humedad relativa					
	Promedio	1	18.49894	10.2274	1.81	0.09		Promedio	1	15.71623	12.0522	1.3	0.22
Máxima	1	0.5372	9.65973	0.06	0.96	Máxima	1	2.07905	13.3789	0.16	0.88		
Mínima	1	-10.5009	5.22451	-2.01	0.06	Mínima	1	-9.08417	9.64467	-0.94	0.36		
3. Brotes c ninfas, por planta	Temperatura					Humedad relativa							
Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P	Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P		
R² = 0.6474 F= 5.51 P= 0.0022	Intercepto	1	10.92746	11.527	0.95	0.36	R² = 0.7001 F= 7 P <.0006	Intercepto	1	103.3994	66.0061	1.57	0.13
	Temperatura							Temperatura					
	Promedio	1	2.10273	0.93444	2.25	<.0372		Promedio	1	12.00225	5.35081	2.24	<.0377
	Máxima	1	-1.17433	0.42576	-2.76	<.0129		Máxima	1	-7.94079	2.43798	-3.26	<.0044
	Mínima	1	-1.03126	0.50184	-2.05	0.05		Mínima	1	-4.42406	2.87367	-1.54	0.14
	Humedad relativa							Humedad relativa					
	Promedio	1	0.0107	0.294	0.04	0.97		Promedio	1	3.67329	1.68353	2.18	<.0426
Máxima	1	0.05232	0.2792	0.19	0.85	Máxima	1	-1.82272	1.59877	-1.14	0.27		
Mínima	1	-0.09708	0.15043	-0.65	0.53	Mínima	1	-2.74213	0.8614	-3.18	<.0051		
5. Parasitismo (%)	Temperatura					Humedad relativa							
Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P	Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P		
R² = 0.6755 F= 4.29 P= 0.0067	Intercepto	1	91.40042	57.4283	1.59	0.13	R² = 0.5484 F= 3.85 P= 0.0111	Intercepto	1	-2.45548	10.2282	-0.24	0.81
	Temperatura							Temperatura					
	Promedio	1	13.1813	4.7713	2.76	<.0124		Promedio	1	1.93315	0.84978	2.27	<.0347
	Máxima	1	-6.91017	2.24463	-3.08	<.0062		Máxima	1	-0.71175	0.39978	-1.78	0.09
	Mínima	1	-5.55493	2.53864	-2.19	<.0414		Mínima	1	-1.10893	0.45214	-2.45	<.024
	Humedad relativa							Humedad relativa					
	Promedio	1	1.87397	1.56809	1.2	0.25		Promedio	1	0.50508	0.27928	1.81	0.09
Máxima	1	-0.54702	1.48106	-0.37	0.72	Máxima	1	-0.20674	0.26378	-0.78	0.44		
Mínima	1	-1.7923	0.80104	-2.24	<.0374	Mínima	1	-0.26592	0.14267	-1.86	0.08		
6. Desarrollo huevo a pupa (días)	Temperatura					Humedad relativa							
Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P	Factores	GI	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P		
R² = 0.5484 F= 3.85 P= 0.0111	Intercepto	1	91.40042	57.4283	1.59	0.13	R² = 0.5484 F= 3.85 P= 0.0111	Intercepto	1	-2.45548	10.2282	-0.24	0.81
	Temperatura							Temperatura					
	Promedio	1	13.1813	4.7713	2.76	<.0124		Promedio	1	1.93315	0.84978	2.27	<.0347
	Máxima	1	-6.91017	2.24463	-3.08	<.0062		Máxima	1	-0.71175	0.39978	-1.78	0.09
	Mínima	1	-5.55493	2.53864	-2.19	<.0414		Mínima	1	-1.10893	0.45214	-2.45	<.024
	Humedad relativa							Humedad relativa					
	Promedio	1	1.87397	1.56809	1.2	0.25		Promedio	1	0.50508	0.27928	1.81	0.09
Máxima	1	-0.54702	1.48106	-0.37	0.72	Máxima	1	-0.20674	0.26378	-0.78	0.44		
Mínima	1	-1.7923	0.80104	-2.24	<.0374	Mínima	1	-0.26592	0.14267	-1.86	0.08		

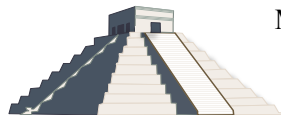


Tabla 2. Regresión lineal múltiple entre seis parámetros biológicos de la cría de *T. radiata* y su producción diaria de parasitoides.

$R^2 = 0.8664$					
Factores	Gl	Valor estimado	Error estandar	Valor de t	P
Intercepto	1	-456.581	12724.00	-0.04	0.9721
Plantas para infestar	1	-89.62445	35.87276	-2.5	0.0515
Plantas con ninfas	1	55.73605	22.65	2.46	0.0336
Brotos con ninfas por planta	1	4683.11475	1287.07	3.64	0.0045
Ninfas por brote	1	-152.45884	115.30	-1.32	0.2155
Parasitismo (%)	1	-227.71076	22.64755	-1.32	0.2157
Desarrollo (días): huevo a pupa	1	2453.45375	1101.86	2.23	0.0501

Literatura citada

- Arredondo-Bernal, H. C., J. A. Sánchez-González, y M. A. Mellín-Rosas. 2010. Avances en el control biológico del psílido asiático de los cítricos en México. VI Simposio Internacional Citrícola. 1er Simposio Internacional Sobre Mejoramiento Genético de Cítricos. Tecomán Colima.p:121-132.
- Chien, C. C., and Y. I. Chu. 1996. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in Taiwan. In: Biological Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taipei, Republic of China on Taiwan. pp. 93-105.
- Ching-Chin, C., C. Shui-Chen, and K. Shiu-Chih. 2001. Mass rearing and field release of aneulophid wasp, *Tamarixia radiata* (waters.). FFTC Technical notes. Plant Protection No. 2001-5. Taiwan Agricultural Research Institute. Republic of China on Taiwan.
- Ching-Chin, C., C. Yau-I, and K. Shiu-Chih. 1993. Influence of temperature on the population increase, host-killing capability and storage of *Tamarixia radiata*. Chinese J. Entomology. 13: 111-123.
- Etienne, J., and B. Aubert. 1980. Biological control of psyllid vectors of greening disease on Reunion Island. In: Cavalan, E.C., Garnsey, S.M., y Timmer, L.W (eds.). Proceedings of the 8th International Organization of Citrus Virologists. International Organization of Citrus Virologists, Riverside, California, USA. pp. 118-121.
- Gómez-Torres, M. L., D. E. Nava, and J. R. P. Parra. 2012. Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures. Journal of Economic Entomology. 105: 338-343.
- Graca, J. V. 1991. Citrus greening disease. Annual Review of Phytopathology. 29 (1): 109-136.
- Halbert, S. E., and C. A. Nuñez. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. Florida Entomologist. 87(3):401-402.
- Hall, D. G., M. L. Richardson, E. D. Ammar, and S. E. Halbert. 2012. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. Entomologia Experimentalis et Applicata. 146(2): 207-223.
- Hoy, M. A., and R. Nguye. 2001. Classical biological control of Asian citrus psylla. Citrus Ind. 81(12): 48-50.
- Liu, Y. H., and J. H. Tsai. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, (Homoptera: Psyllidae). Annals of Applied Biology. 137 (3): 201-206.
- López-Arroyo, J. I., M. A. Reyes-Rosas, J. Loera-Gallardo, y A. González-Hernández. 2009. Producción de *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático de los cítricos. Zapata-Mata, R., W. M. Contreras-Sánchez, A. A. Granados-Berber, y S. L. Arriaga-Weiss (eds). En: XXXII Congreso Nacional de Control Biológico, SMCB. Villahermosa, Tabasco, México. pp. 137-141.
- Mead, F. W., and T. R. Fasulo. 1998. Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.



- Moreno-Pérez, M., E. Pozo-Velásquez, R. Valdés-Herrera, and M. Cárdenas-Morales, M., 2008. Distribución espacial de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) sobre lima persa (*Citrus latifolia* Tanaka). *Fitosanidad*. 12 (1): 33-37.
- Nakata, T. 2006. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. *Applied Entomology and Zoology*. 41 (3): 383-387.
- Quilici, S., and X. Fauvergue. 1990. Studies on the biology of *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae). *In*: Aubert B., Tontyapron S., and D. Buangsuwon (eds.). Proceedings of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. ChlahgMai. Thailand. pp, 251-256.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2009. Norma oficial Mexicana de emergencia NOM-EM-047-FITO-2009, por la que se establecen las acciones fitosanitarias para mitigar el riesgo de introducción y dispersión del Huanglongbing (HLB) de los cítricos (*Candidatus liberibacter* spp.) en el territorio nacional. Diario oficial Mexicano, Primera sección. Miércoles 8 de Julio de 2009. México, D.F.
- Sánchez-Borja, M. 2010. Biología, ecología y control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados, posgrado en Fitosanidad, Montecillo, Estado de México.
- Sánchez-González, J. A., y H. C. Arredondo-Bernal. 2011. Programa de control biológico del psílido asiático de los cítricos: avances en el proceso de cría masiva de *Tamarixia radiata*. Elias-Santos, M., K. Arévalo-Nino, I. Quintero-Zapata, C. Solís-Rojas, C. F. Sandoval-Coronado, H. A. Luna-Olvera, B. Pereyra-Alfárez, L.H. Morales-Ramos, y M. G. Maldonado-Blanco (eds). *En*: XXXIV Congreso Nacional de Control Biológico, SMCB. Monterrey, Nuevo León, México. pp. 213-216.
- Sánchez-González, J. A., M. Sánchez-Borja, y H. C. Arredondo-Bernal. 2011. Cría masiva, liberación y evaluación en campo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *En*: López Arroyo, J. I., y V. W. González-Lauck (eds). II Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. CIRNE. Montecillo, Edo. de México, México. pp. 424.
- SAS, I. I., 2011. SAS/STAT[®] 9.2. User's guide. Cary, NC.
- Shivankar, V. J., C. N. Rao, and S. Shyam. 2000. Studies on citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama: a review. *Agricultural Reviews*. 21(3): 199-204.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2013. Normales climatológicas 1971-2000. Estación: 6023. Tecomán, Colima. Accesado en línea Mayo 21 del 2013, <http://smn.cna.gob.mx/climatologia/normales/estacion/col/NORMAL06023.TXT>.
- Vizcarra-Valdez, N. I., J. A. Sánchez-González, A. González-Hernández, y H. C. Arredondo-Bernal. 2012. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Vedalia* 14(1): 31-34.
- Yubing, Y. 1989. Effects of light, temperature and humidity on the development, reproduction and survival of citrus psylla. *Acta Ecologica Sinica*. 9(4): 348-354.



COMPORTAMIENTO Y BIOLOGÍA DE *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Maricarmen Sánchez-Borja¹; **Eduardo Joel Alvarado-Ek**² y Esaú Ruíz- Sánchez.²

¹Laboratorio Regional de Producción Masiva de *Tamarixia radiata* del Sureste. SENASICA-DGSV-CNRCB; ² Instituto Tecnológico de Conkal. Km.16.3 Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkál, Yucatán. C.P 97345.

sanborjam@gmail.com

Resumen. *Tamarixia radiata* es el parasitoide primario de *Diaphorina citri* Kuwayama vector del HLB o Huanglongbing, el cual ha causado grandes pérdidas económicas afectando la producción citrícola del país. En la actualidad *T. radiata* ha sido reportado por varios autores como un parasitoide efectivo demostrando resultados favorables. Por ello, en el presente trabajo se investigó el comportamiento y la biología del parasitoide en condiciones de invernadero, donde se evaluó el porcentaje de parasitismo y de emergencia en la temporada de verano, otoño e invierno; así también la supervivencia de los parasitoides en condiciones de almacenamiento a dos diferentes temperaturas $22^{\circ}\text{C} \pm 1$, $26^{\circ}\text{C} \pm 1$. Los resultados muestran que el porcentaje de parasitismo varía de acuerdo a las condiciones del medio ambiente mostrando los siguientes resultados 65% en verano, 50 % en otoño y 49% en invierno En cuanto a la emergencia del parasitoide de igual manera presentó diferencias en la temporada de verano 84.02%, en otoño 77.74% y en invierno fue de 28%. En cuanto a la proporción sexual la emergencia de las hembras es mayor que la de machos en la temporada de verano y ocurre lo contrario en otoño e invierno. La supervivencia del parasitoide en condiciones controladas demostró que a $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ los machos tuvieron una longevidad de 14 días y las hembras de 20 días, mientras que a una temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 1$ la hembra alcanzó una longevidad de 8 días y el macho 24 días. Los parasitoides que se establecieron en colonia a $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ y $26^{\circ}\text{C} \pm 1$, tanto las hembras como los machos alcanzaron una supervivencia de 16 días.

Agradecimientos.

Al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria que a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal y del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, permitieron mi estancia en el Laboratorio Regional de Producción Masiva de *Tamarixia radiata* del Sureste, para realizar este trabajo de investigación y a todo el personal que aquí labora.



CRECIMIENTO AL POSTRASPLANTE DE *Murraya paniculata* (SAPINDALES: RUTÁCEAS) EN DISTINTOS SUSTRATOS BAJO INVERNADERO

Sergio Jesús Aké-Córdova¹, Carlos Francisco de Jesús Fuentes-Cerda¹, Maricarmen Sánchez-Borja². ¹Instituto Tecnológico de Conkal, Avenida Tecnológico s/n, Conkal, Yuc. CP 97345. ²Laboratorio Regional de Producción Masiva de *Tamarixia radiata* del Sureste. SENASICA-DGSV-CNRCB; Calle 19 No. 443 por 26 y 28. Col. Ciudad Industrial, Mérida, Yuc. C.P. 97288 sanborjam@gmail.com

Resumen. El presente trabajo se realizó para optimizar la producción de plantas de limonaria, específicamente durante la etapa de crecimiento al postrasplante, se utilizaron dos sustratos orgánicos comerciales (Cosmopeat[®] y Hortipert[®]), así material vegetal de plantas de la región [hojarasca de dzidzilché (*Gymnopodium floribundun*) y bagazo de henequén (*Agave fourcroydes*)], al igual que de tierra roja (kancab). La investigación constó de cinco tratamientos y un testigo con siete repeticiones; las variables evaluadas fueron: altura, diámetro del tallo a 1 cm sobre el sustrato, número de hojas, número de brotes y el peso seco total de la planta, en un lapso de 48 días. Las variables fueron muestreadas cada ocho días. De las cinco variables aportadas, se determinó la diferencia estadística significativa en el diámetro y la altura de las plantas entre los tratamientos comparados. En la quinta semana, la combinación de Cosmopeat[®] (50%)-bagazo de henequén (50%) mostró mayor altura; con respecto al diámetro, se mantuvo en segundo lugar mostrando efecto del sustrato en la tercera semana, aunque un amarillamiento leve en las hojas. La combinación de dzidzilché (50%)- tierra roja (10%)-Cosmopeat[®] (30%)-Hortipert[®] (20%), presentó mayor altura de las plantas en la sexta semana, además, para la variable diámetro resultó mejor que el testigo en la tercera semana.

Palabras clave: *Murraya*, sustratos, trasplante.

Agradecimientos:

Al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria que a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal y del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, permitieron mi estancia en el Laboratorio Regional de Producción Masiva de *Tamarixia radiata* del Sureste, para realizar este trabajo de investigación y a todo el personal que aquí labora.



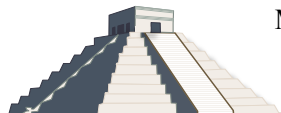
PROTOCOLO PARA LA EVALUACIÓN Y EL REFORZAMIENTO DEL PIE DE CRÍA DE *Tamarixia radiata* (WATERSTON): COMPARACIÓN DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS ENTRE POBLACIONES SILVESTRES DEL ESTADO DE JALISCO Y LA COLONIA BAJO CRÍA MASIVA DEL CNRCB

Nora I. Vizcarra-Valdez, Jorge A. Sánchez-González, Jaime González-Cabrera, Gabriel Moreno-Carrillo, Hugo C. Arredondo Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV-CNRF. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28110, Tecomán, Colima, México. j_asg2@hotmail.com

Resumen. El pie de cría del parasitoide *Tamarixia radiata* del CNRCB utilizado para reproducir masivamente y liberar en áreas específicas para el control de *Diaphorina citri* se ha mantenido como una población genéticamente cerrada, es decir no se han realizado cruza con individuos silvestres. Se sabe que colonias de insectos que son mantenidas como poblaciones cerradas pueden sufrir endogamia y por consecuencia se pueden perder variantes de genes que impactan en sus aptitudes biológicas, ante esto, se ha considerado evaluar los principales parámetros biológicos de la colonia en reproducción masiva para determinar si es necesario renovarla o reforzarla con genes de colonias silvestres. Este estudio evalúa los parámetros de fecundidad, longevidad del adulto, proporción sexual y tamaño del adulto entre poblaciones silvestres del estado de Jalisco y la colonia de Reproducción Masiva de *T. radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, como primera etapa en el desarrollo del protocolo para la evaluación y reforzamiento del pie de cría.

Introducción

Desde finales de 2009 a la fecha, el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico ubicado en Tecomán, Colima ha venido reproduciendo masivamente al insecto *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), principal parasitoide de *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae), vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., causante del Huanglongbing (HLB). La colonia de este parasitoide en el CNRCB se ha mantenido como una población genéticamente cerrada, es decir no se han realizado cruza con individuos silvestres. Colonias de insectos que son mantenidas como poblaciones cerradas pueden sufrir endogamia (i.e., pérdida de vigor en el organismo) (Van Lenteren 1991; Cohen 2004, Schneider 2009). La endogamia es ocasionada por la acumulación de alelos recesivos o por el constante apareamiento entre individuos de la misma colonia, esto último reduce la diversidad genética del organismo (Mitton 1993, Halliburton 2004, Charlesworth and Willis 2009) y por consecuencia se pueden perder variantes de genes que impactan en sus aptitudes biológicas (Oldroyd y Fewell 2007, Kellermann *et al.* 2009). En insectarios las colonias se mantienen en óptimas condiciones por lo que individuos endogámicos pueden pasar desapercibidos; sin embargo si estos insectos se liberan en campo no son eficaces para combatir la plaga agrícola para la cual fueron liberados (King *et al.* 1985, Suh *et al.* 2000, Lundgren and Heimpel 2002, Ulrichs and Mewis 2004, Vejar-Cota *et al.* 2005). Dentro de las etapas del proceso de producción



de *T. radiata* se miden parámetros de calidad para de esta manera garantizar la eficiencia de los parasitoides producidos (Vizcarra-Valdez *et al.*, 2012). Aun cuando dentro de la colonia producida en el CNRCB no se ha detectado reducción en sus aptitudes biológicas, se ha considerado evaluar sus principales parámetros biológicos para determinar si es necesario renovar o reforzar la colonia producida en el CNRCB aumentando su vigor genético a través de colonias silvestres, por lo cual el presente estudio tiene el objetivo de evaluar parámetros biológicos entre poblaciones silvestres del estado de Jalisco y la colonia de Reproducción Masiva de *T. radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, así como también de la cruce resultante de ambas poblaciones como primera etapa en el desarrollo del protocolo para la evaluación y en su caso reforzamiento de la colonia en producción y con esto mejorar sus parámetros biológicos.

Materiales y métodos

Colecta de material de campo.

Para la obtención del material biológico silvestre se recolectaron muestras de ninfas parasitadas (con meconio, coloración oscura y sin movimiento) de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en seis sitios sin registro de liberaciones previas del parasitoide *T. radiata* en cinco localidades del estado de Jalisco, México. Los brotes colectados en zonas con condiciones climáticas similares se juntaron y se consideraron como una sola muestra, de tal forma que para esta evaluación se conformaron tres muestras, como se indica en el cuadro 1. De cada muestra se registro el cultivo, coordenadas geográficas, municipio y nombre del sitio de colecta, así como la fecha de colecta; las muestras fueron transportadas en una hielera con geles refrigerantes al Laboratorio del Departamento de Insectos Entomófagos del CNRCB en Tecomán, Colima para esperar la emergencia de parasitoides.

Cuadro 1. Datos geográficos de sitios de colecta para la obtención de colonias silvestres en el estado de Jalisco.

Municipio	Localidad	Coordenadas		Muestra
Atotonilco el Alto	El Charcón	20.53697 N	102.56638 O	JAL 1
Atotonilco el Alto	El Charcón	20.53372 N	102.56694 O	
Ameca	San Antonio	20.56994 N	103.96186 O	JAL 2
San Martin Hidalgo	El Tepehuaje	20.20028 N	103.53387 O	
Autlán	Zacalapa	19.78490 N	104.24275 O	JAL 3
El Limón	El Limon	19.82177 N	104.81686 O	

Reproducción y mantenimiento de colonias de silvestres.

Los primeros adultos de cada colonia de *T. radiata* colectados de campo se colocaron en una planta de *Murraya paniculata* L. infestada exclusivamente con ninfas de tercer, cuarto y quinto ínstar de *D. citri* cubierta con tela de organza. Las ninfas se dejaron expuestas al parasitoide durante 8-10 días hasta que se observo la presencia de meconio, posteriormente los brotes con ninfas parasitadas fueron cortados y trasferidos a recipientes de plástico adaptados para la emergencia de parasitoides. Al obtener la primera generación criada en laboratorio con adultos de cada colonia, una planta de *M. paniculata* infestada con ninfas de *D. citri* fue sometida a



parasitación; todas las plantas se cubrieron con tela de organza para evitar fugas de los parasitoides, siguiendo este proceso se mantuvo la cría de cada colonia colectada en campo. Se trabajó en un área de segura y aislada a $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ y 70% HR, equipada con trampas amarillas para captura de insectos y trampas de luz para la captura de cualquier parasitoide que pudiera escapar durante el manejo, los recipientes con las muestras así como las plantas de *M. paniculata* se mantuvieron en anaqueles seccionados cubiertos con tela de organza y trampas amarillas como segunda barrera de seguridad al escape de parasitoides. Para asegurar la sanidad y evitar contaminación, todas las plantas infestadas con ninfas de *D. citri* utilizadas en este trabajo previo a las evaluaciones, se mantuvieron en una cámara de desarrollo de plantas marca BINDER® modelo KBWF 720 (E5.2) de condiciones controladas a una temperatura de 28°C con 65% de humedad relativa y una intensidad luminosa de 5000 lux en promedio.

Evaluación de colonias silvestres contra colonia en reproducción masiva del CNRCB.

Los parasitoides de las diferentes colonias silvestres fueron comparados con la colonia reproducida en el CNRCB, se midieron los parámetros fecundidad, longevidad del adulto, proporción sexual y tamaño del adulto. La evaluación de la fecundidad se llevó a cabo de la siguiente manera: de la segunda generación de la colonia silvestre criada en laboratorio y de la colonia del CNRCB se colectó una hembra y un macho vírgenes para asegurar parasitoides con la característica de virginidad se colocó una ninfa parasitada dentro de un tubo vial hasta la emergencia del parasitoide adulto colectados los parasitoides se formaron parejas de cada colonia y se dejaron copular dentro de un tubo vial durante una hora, posteriormente la pareja de parasitoides fue colocada en una planta de *M. paniculata* cubierta con tela de organza e infestada con ninfas de *D. citri* del tercer al quinto ínstar, las plantas se colocaron dentro de cubos de cría empleados para la reproducción masiva del parasitoide en el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB a una temperatura promedio de $32^{\circ}\text{C} \pm 2$ y $70\% \pm 10$ de humedad relativa. Las ninfas se dejaron expuestas a la pareja de parasitoides por 10 días, transcurrido este tiempo las plantas se transportaron al laboratorio, se cortaron los brotes con ninfas y se contabilizó el número de huevos depositados o larvas en desarrollo de *T. radiata*, posteriormente estos brotes se colocaron dentro de recipientes de plástico para dejar emerger a los parasitoides.

Para medir la longevidad de los parasitoides se utilizaron los adultos emergidos de la prueba de capacidad de parasitación, de cada colonia silvestre y de la colonia de CNRCB se colectó una muestra de 10 individuos al azar en tubos viales de 25 mL con pequeñas gotas de miel pura como alimento, las muestras se mantuvieron en un cuarto frío a $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ y $60\% \pm 10$ de humedad relativa, diariamente se registró el número y sexo de los parasitoides muertos. La evaluación de la proporción sexual y tamaño del adulto se determinaron con los parasitoides muertos de la prueba anterior. Para determinar la proporción sexual de los parasitoides se observaron bajo microscopio estereoscópico las características de las antenas, tamaño y pigmentación del abdomen, así como presencia del ovipositor en el caso de las hembras. Para la medición del tamaño del adulto se tomaron diez hembras y se les midió la longitud de la tibia del tercer par de patas posterior utilizando una regla graduada, montada en el ocular 10X de un microscopio compuesto Leica



DM300[®]. Para cada uno de los parámetros evaluados se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento, el testigo consistió en los parasitoides de la colonia producida en el CNRCB. Cada prueba se repitió dos veces.

Cruza de colonias silvestres con colonia en reproducción masiva del CNRCB.

Para producir una crua entre los parasitoides producidos en el CNRCB y los parasitoides de cada colonia silvestre se aparearon hembras silvestres con machos de la colonia del CNRCB y machos silvestres con hembras de la colonia del CNRCB, se hicieron dos repeticiones por crua. Para garantizar el apareamiento entre los parasitoides se utilizaron hembras vírgenes y cada pareja se colocó dentro de un tubo vial de 25 mL durante una hora, posteriormente cada pareja se colocó dentro de una planta de *M. paniculata* infestada con ninfas de *D. citri* de tercer al quinto instar cubierta con tela de organza; las plantas se colocaron dentro de cubos de cría del Laboratorio de Reproducción del CNRCB durante el tiempo y bajo las condiciones antes descritas.

Los parasitoides obtenidos de las cruas de las colonias silvestres y la colonia del CNRCB se compararon con la colonia bajo cría masiva. Los parasitoides fueron sometidos a las mismas pruebas y repeticiones realizadas a las colonias silvestres antes descritas (fecundidad, longevidad, proporción sexual y tamaño de los adultos).

Análisis estadísticos

La fecundidad, longevidad, proporción sexual y tamaño del adulto de las colonias silvestres y la crua de estas con la colonia del CNRCB se estimó a través de un análisis de varianza (Andeva) y prueba de comparaciones múltiple de Tukey. La duración de la longevidad (días) de las hembras se determinó a través de un análisis de vida, configuración lineal y con ajuste a través de Bonferroni. Todos los datos de este estudio se analizaron con el paquete estadístico SAS V.9.2 (2011) y $p \leq 0.05$.

Resultados y discusión

El análisis de los datos obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados en las colonias silvestres y la colonia del CNRCB nos muestra que en los parámetros de longevidad (pruebas de sobrevivencia, $gl=4$, $p= 56.69$, $x^2= 0.9085$) y proporción sexual (Andeva, $gl= 4$, $f= 0.72$, $p= 0.5511$) no se muestran diferencias significativas entre las colonias silvestres y la colonia del CNRCB, es decir los parasitoides de la colonia del CNRCB viven en promedio la misma cantidad de días y su relación hembra macho es similar a la de las tres colonias silvestres evaluadas. El parámetro de tamaño del adulto si presentó diferencias significativas (Andeva, $gl= 4$, $f= 8.72$ y $p= <.0001$), las hembras adultas de la colonia Jal 3 son más pequeñas en comparación con los otros tratamientos. En el parámetro de fecundidad se registró que la colonia del CNRCB presenta mayor fecundidad comparada con las tres colonias silvestres evaluadas (Andeva, $gl= 4$, $f= 6.72$, $p= 0.0015$) (figura 1), posiblemente a causa de la domesticación, sin embargo también en campo la colonia del CNRCB es eficiente ya que producen un buen nivel de control (de 59.67% hasta



79.61% de parasitismo en áreas urbanas) (Moreno-Carrillo *et al.* 2013), lo que hace pensar que también el desempeño del parasitoide en campo es aceptable. En otros parasitoides que al igual que a *T. radiata* practican reproducción sexual entre la misma progenie se ha observado que disminuyen su longevidad y fecundidad, por ejemplo los parasitoides *Trichogramma* spp. colectados en campo tienen mayor longevidad (Mansfield y Mills, 2002) y fecundidad (Ashley *et al.*, 1973; Lundgren y Heimpel, 2002; Vejar-Cota *et al.*, 2005) que los parasitoides producidos masivamente.

Los resultados para las cruzas realizadas entre las colonias silvestres y la colonia del CNRCB nos indican que no se registran diferencias significativas en los parámetros de fecundidad (Andeva, $gl=4$, $f=0.70$, $p=0.5615$) y longevidad (pruebas de sobrevivencia, $gl=4$, $p=5.50$, $x^2=0.1382$); mientras que en el tamaño de las hembras si se registran diferencias significativas ($gl=4$, $f=4.42$, $p=0.0064$). Las hembras de la colonia del CNRCB son mayores en tamaño que las hembras de las colonias silvestres. Con respecto a la proporción sexual también se presentaron diferencias significativas en la relación hembra-macho (Andeva, $gl=4$, $f=3.67$, $p=0.0239$), los individuos resultantes de la cruce entre parasitoides JAL2 y parasitoides del CNRCB (JAL2/CNRCB) presentaron una proporción sexual mayor de hembras en comparación con los otros tratamientos (Figura 1); aun cuando esta cruce presentó mayor relación hembra macho y pudiera ser candidata para aumentar la proporción sexual de la colonia del CNRCB no se recomienda introducir sus genes dentro de la colonia del CNRCB puesto que los otros parámetros evaluados son menores a los registrados para la colonia del CNRCB. Las hembras de *T. radiata* dependiendo de la abundancia y tamaño del huésped deciden por si mismas producir un macho (huevo sin fertilizar) o una hembra (huevo fertilizado) (Chu y Chien, 1991), es decir la proporción sexual no es un rasgo fisiológico que este determinado por el vigor físico del individuo; sin embargo la preferencia para producir mayor cantidad de hembras si es un rasgo genético y por lo tanto es heredable. La endogamia (William y Pollak 1985, Stalder y Saxton 2004, Charlesworth y Willis 2009) o una baja diversidad genética (Oldroyd and Fewell 2007, Kellermann *et al.* 2009) se hubieran detectado si las líneas resultantes de las cruces realizadas hubieran resultado con mayor vigor que los individuos de la colonia del CNRCB.

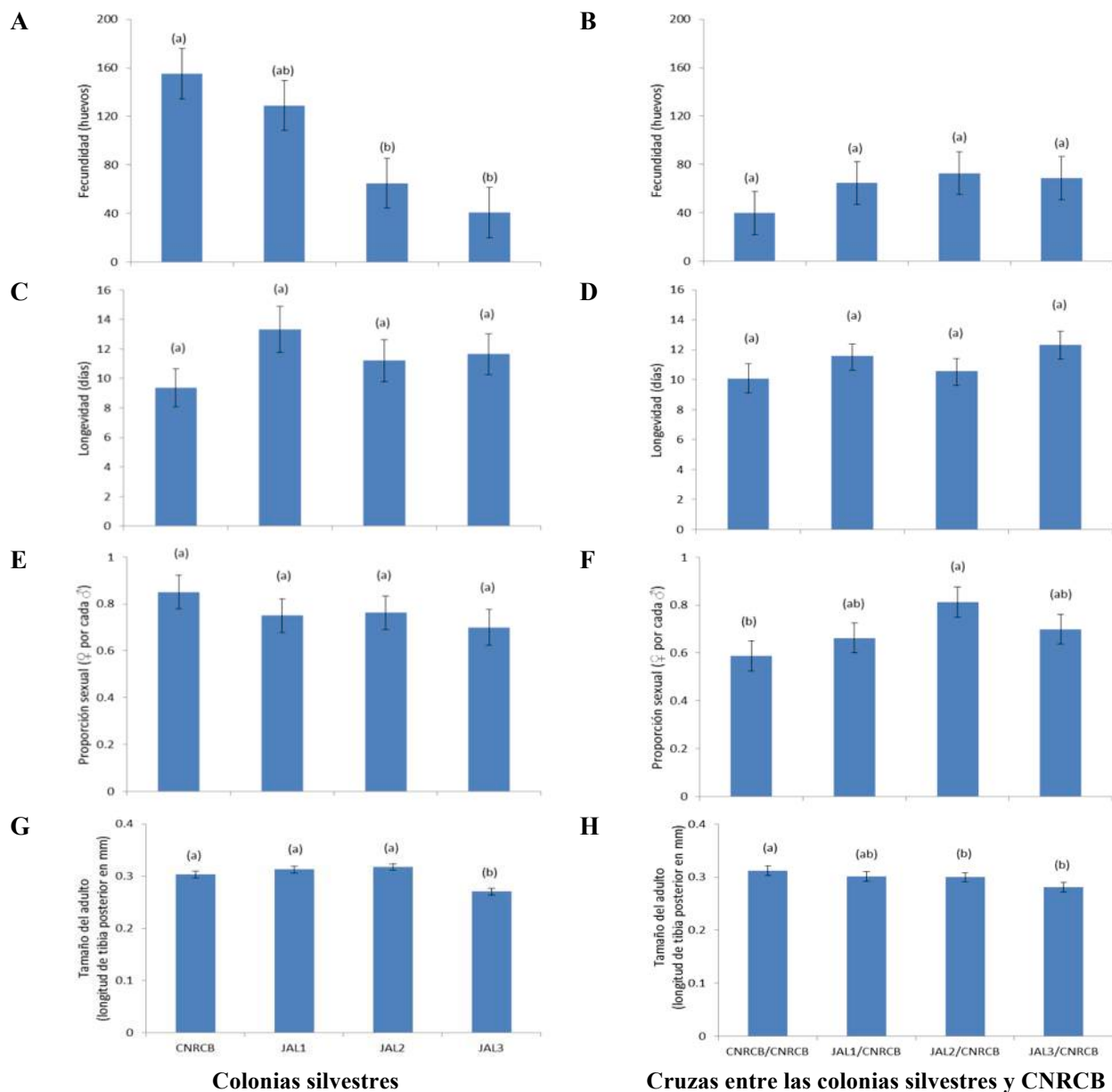


Figura 1. Fecundidad (A-B), longevidad (C-D), proporción sexual (E-F) y tamaño del adulto (G-H) de las colonias silvestres y cruza de colonias silvestres con CNRCB. Medias y errores estándares seguidas por la misma letra no son estadísticamente diferentes. Pruebas de ANDEVA y análisis de vida, ajustadas con Tukey y Bonferroni, respectivamente, y $p \leq 0.05$.



Dentro de las perspectivas que se tienen en el desarrollo de este protocolo para la evaluación y el reforzamiento de pie de cría de *T. radiata* del CNRCB se tiene contemplado evaluar y comparar esta colonia con poblaciones silvestres de otros estados del país y a su vez iniciar la selección de individuos con características sobresalientes para introducir genes a la colonia en reproducción masiva que mejoren el desempeño en parámetros de interés para el programa de control biológico del psílido asiático en México, como longevidad y fecundidad.

Conclusiones

Con los datos obtenidos se concluye que la colonia en reproducción masiva del CNRCB y originaria a partir de un solo pie de cría después de cuatro años en los parámetros fecundidad, longevidad del adulto, proporción sexual y tamaño del adulto comparada con colonias silvestres del estado de Jalisco no se ha degradado y continua teniendo el mismo vigor, incluso su fecundidad es estadísticamente mayor que las colonias silvestres evaluadas.

Literatura citada

- Ashley, T. R., Gonzalez, D., Leigh, T. F., 1973. Reduction in effectiveness of laboratory-reared *Trichogramma*. *Environmental Entomology*. 2(6): 1069-1073.
- Charlesworth, D., Willis, J. H., 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics*. 10, 783-796.
- Chu, Y. I., Chien, C. C., 1991. Utilization of natural enemies to control psyllid vectors transmitting citrus greening. Integrated control of plant virus diseases. Food and fertilizer technology center for the Asian and Pacific region, Taipei, Taiwan, pp. 135-145.
- Cohen, A. C., 2004. Insect diets: science and technology. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Halliburton, R., 2004. Introduction to population genetics. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ. USA
- Kellermann, V., Heerwaarden, B. V., Sgro, C. M., Hoffmann, A. A., 2009. Fundamental evolutionary limits in ecological traits drive *Drosophila* species distributions. *Science*. 325, 1244-1246.
- King, E. G., Coleman, R. J., Phillips, J. R., Dickerson, W. A., 1985. *Heliothis* spp. and selected natural enemy populations in cotton: a comparison of three insect control programs in Arkansas (1981-82) and North Carolina (1983). *Southwestern Entomologist*. 8: 71-98.
- Lundgren, J. G., Heimpel, G. E., 2002. Augmentation of *Trichogramma brassicae* for control of cruciferous lepidoptera. Proceedings of the 1st international symposium on biological control of arthropods. Honolulu, Hawaii, USA.
- Mansfield, S., Mills, N. J., 2002. Direct estimation of the survival time of commercially produced adult *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under field conditions. *Biological Control*. 25(1): 41-48.
- Mitton, J. B., 1993. Theory and data pertinent to the relationship between heterozygosity and fitness. In: Thornhill, N.W. (ed). The natural history of inbreeding and outbreeding. University of Chicago Press, Chicago, pp 17-41.
- Moreno-Carillo, G., Sánchez G. J. A. y Arredondo B. H. C. 2013, Avances en la Evaluación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en Áreas Urbanas de la Región Pacífico Centro de México, XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México, pp 341-346.
- Oldroyd, B. P., Fewell, J. H., 2007. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Trends in Ecology & Evolution*. 22, 408-413.
- SAS, I. I., 2011. SAS/STAT® 9.2. User's guide. Cary, NC.
- Schneider, J. C., 2009. Principles and procedures for rearing high quality insects. Mississippi State University, MS, USA.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Stalder, K. J., Saxton, A. M., 2004. More estimation of genetic parameters. *In*: Saxton, A. M. (ed.). Genetic analysis of complex traits using SAS[®]. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, pp: 35-54
- Suh, C. P. C., Orr, D. B., Van Duyn, J. W., 2000. Trichogramma releases in North Carolina cotton: Why releases fail to suppress heliothine pests. *Journal of Economic Entomology*. 93, 1137-1145.
- Ulrichs, C., Mewis, I., 2004. Evaluation of the efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) inundative releases for the control of *Maruca vitrata* F. (Lep., Pyralidae). *Journal of Applied Entomology*. 128(6): 426-431.
- Van Lenteren, J. C. V., 1991. Quality control of natural enemies: hope or illusion. *In*: Bigler F. (ed.), Proceedings of the fifth workshop of the IOBC global working group 'quality control of mass reared arthropods'. Wageningen, Netherland, pp. 1-14.
- Vejar-Cota, G., Caro, A., Rodriguez-del-Bosque, L. A., Sahagun, D., 2005. Inundative releases of hymenopterous parasitoids against *Diatraea considerata* (Lepidoptera: Crambidae) on sugarcane in Northwestern Mexico. *Journal of Entomological Science*. 40(2): 231-233.
- Vizcarra-Valdez, N. I., Sánchez-González, J. A., González-Hernández, A., Arredondo-Bernal, H. C., 2013. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Vedalia* 14 (1): 31-34.
- William, R. L., Pollak, E., 1985. Theory of heterosis. *J. Dairy Sci.* 68, 2411-2417.



EVALUACIÓN DE TRES PRACTICAS CULTURALES PARA AUMENTAR LA PRODUCCIÓN DE NINFAS DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA EN EL PROCESO DE REPRODUCCIÓN MASIVA DEL SU PARASITOIDE

Yadira Contreras-Bermúdez, Jaime González-Cabrera, Jorge A. Sánchez-González, y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, CNRF-DGSV, SENASICA. Km 1.5 Carr. Tecomán-Estación FFCC, Tecomán, Colima, México, 28110. yady_23@hotmail.com

Resumen. Con la intención de optimizar el proceso de producción de ninfas de *Diaphorina citri* y por ende la producción del parasitoide *Tamarixia radiata*, se pretende evaluar tres prácticas culturales o adaptaciones al área de infestación en el proceso de producción de *D. citri*: la utilización de aspersores de agua para aumentar la humedad relativa, la implementación de cubierta opaca impermeable durante las horas más calurosas del día y la instalación de malla reflejante con la intención de reducir la temperatura al interior del área de producción.

Palabras clave: Cría masiva, psílido asiático de los cítricos, *Tamarixia radiata*.

Introducción

El Psílido Asiático de los Cítricos (PAC), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), es una amenaza importante para la citricultura mexicana, ya que transmite la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.*, causante de la enfermedad Huanglongbing o HLB. Para combatir al psílido y disminuir la transmisión de la bacteria, el gobierno de México implementa una estrategia integral que incluye la reproducción masiva de su principal parasitoide, *Tamarixia radiata* (Waterston) (Himenóptera: Eulophidae), el cual se libera en zonas agrícolas y urbanas sin la aplicación de insecticidas (Sánchez-González *et al.*, 2011). La cría del parasitoide se hace sobre las ninfas de su hospedero, y a su vez el insecto fitófago se produce sobre plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rutacea). Mensualmente se producen en promedio 160,800 parasitoides (Sánchez-González *et al.*, 2011), existen manuales de producción y se realizan pruebas internas de calidad (DGSV/CNRCB, 2010); sin embargo mes a mes la producción de ninfas y del parasitoide es variable; por ejemplo, desde mayo hasta septiembre existe un decline en la producción de ninfas. Durante estos meses se producen 107.82 ± 2.3 plantas infestadas con ninfas en comparación con las 139.91 ± 6.81 plantas que se producen durante noviembre a abril (publicación en progreso). Dicho decline en la producción de ninfas se atribuye a la alta temperatura que se registra en la zona de Tecomán, Colima, lugar donde está ubicado el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), ya que durante los meses más calurosos (mayo a noviembre) la temperatura máxima mensual sobrepasa el límite superior ($34\text{ }^{\circ}\text{C}$) de oviposición de *D. citri* reportado por Hall *et al.* (2011) y Liu y Tsai, (2000) por lo que probablemente hay un efecto negativo de la temperatura sobre la oviposición de *D. citri*.

En este trabajo se pretende evaluar tres prácticas culturales o adaptaciones al área de infestación en el proceso de producción de *D. citri* con la intención de reducir la temperatura y mejorar el proceso de producción de ninfas de *D. citri* y por ende la producción del parasitoide.



Materiales y métodos

La evaluación se llevó a cabo desde junio hasta septiembre del 2014 en el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB, el cual está ubicado en Tecomán, Colima. Las plantas de *M. paniculata* y psílicos de *D. citri* utilizados en estos experimentos fueron obtenidos del sistema de producción de *T. radiata*. Se evaluaron tres tratamientos o prácticas culturales para reducir temperatura en el área de infestación de plantas por *D. citri*: aspersores de agua, cubierta opaca impermeable y malla reflejante. Se registró la fluctuación diaria de temperatura que ocurría como consecuencia de dichas prácticas. Para cuantificar los cambios biológicos que ocurrían sobre la colonia de *D. citri* como consecuencia de la implementación de dichas prácticas, de manera simultánea se midió la oviposición de los psílicos adultos y la sobrevivencia de huevo hasta ninfa.

Práctica cultural uno: empleo de aspersores de agua en la parte baja de los cubos de cría de D. citri para incrementar humedad relativa y reducir temperatura.

En el interior del área de infestación de plantas de *M. paniculata* se instaló provisionalmente de un sistema de aspersores de agua para humedecer la parte baja de los cubos de cría de *D. citri*. Dichos cubos de cría se encuentran a 40 cm de altura a partir del suelo, el área humedecida está provista de grava suelta de 0.5 a 1 pulgada de diámetro para evitar la salida de maleza en el área de producción. La bomba de riego se activó diariamente durante 40 minutos a las 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 horas con la intención de incrementar la humedad relativa y evaluar si la temperatura reduce y por consecuencia incrementar la oviposición de *D. citri* sobre plantas de *M. paniculata*.

Práctica cultural dos: cierre de cubierta opaca impermeable durante las horas más calurosas del día para reducir temperatura mediante el.

En el Laboratorio de Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB, el área de producción de *D. citri* está provista de una cubierta retráctil impermeable al agua (93% poliolefina y 7% poliéster) de que brinda protección contra la precipitación pluvial y que a su vez proporciona un poco de sombra al interior (21%), aprovechando este ligero sombreado, se evaluó el grado de oviposición de *D. citri* implementando el cierre de la cubierta opaca impermeable durante las horas más calurosas del día (12:00 a 17:00 horas).

Práctica cultural tres: uso de malla reflejante de luz solar sobre área de producción para reducir temperatura al interior.

Se instaló una malla reflejante de luz solar tipo aluminet al 50%, utilizada comercialmente para reducir la temperatura dentro de estructuras para protección de cultivos, este material permite la entrada de determinado porcentaje de luz solar, en este caso 50% y el resto es reflejado al exterior. Se evaluó la malla reflejante las 24 horas del día.



Por cada tratamiento se infestaron 36 plantas de *M. paniculata* en las cuales tenían ocho meses de edad, 50 cm de altura y nunca habían sido usadas como sustrato en la producción de ninfas, adicionalmente tuvieron el mismo manejo durante su desarrollo (fertilización, riego). Para la infestación de las plantas se liberaron 200 psílicos adultos de la misma edad por cubo de cría de 70 cm por lado con paredes de malla antiáfidos. Después de seis días de oviposición, los psílicos adultos se retiraron de las plantas. La oviposición de *D. citri* con relación a los tres tratamientos o prácticas culturales antes descritas se midió en 27 plantas infestadas; por cada planta se contaron los huevos ovipositados en su brote apical. La sobrevivencia de los huevos depositados con relación a las tres prácticas culturales se midió en siete de las plantas infestadas inicialmente; a estas se les contabilizó los huevos que contenían en el brote apical y posteriormente fueron cubiertos con una bolsa de tela de organza; cinco días después se contabilizaron las ninfas del tercer al quinto ínstar en cada brote. Solo se contabilizó a estos tres estados ninfales porque son los estados de desarrollo que las hembras de *T. radiata* utilizan como huésped (Chu y Chien, 1991; Gonzalez *et al.*, 2002). Para cada tratamiento descrito se instaló la misma cantidad de plantas infestadas (36) como testigo para comparar el efecto de cada una de estas prácticas culturales sobre los psílicos sin las prácticas culturales mencionadas.

Para determinar los cambios ambientales ocasionados por la implementación de las prácticas culturales y en los testigos, se midió diariamente durante todo el periodo experimental la temperatura (mínima, media y máxima, °C) así como la humedad relativa (mínima, media y máxima, %) (medidor ambiental HOBO Pro v2.6 Ext.T/RH[®]. Onset Computer Corporation, Massachusetts, USA). La oviposición (huevos depositados) fue calculada a través de un diseño factorial 2K (cubo y planta), y la sobrevivencia de los huevos depositados se estimó a través de análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de comparaciones múltiple de Tukey. Todos los datos de este estudio se analizaron con el paquete estadístico SAS V.9.2 (2011) y $p \leq 0.05$.

Resultados y discusión

Durante las horas del día en que se implementaron las prácticas culturales dos y tres (cubierta opaca impermeable y la malla reflejante de luz solar), la temperatura disminuyó un promedio de 0.58 ± 0.47 °C para la práctica cultural dos y 0.49 ± 0.63 °C para la práctica cultural tres °C con respecto al testigo; concomitante a la disminución de la temperatura, se registró un aumento de la humedad relativa, 1.24 ± 1.61 y 1.23 ± 1.75 %, respectivamente (figura 1A-1B y 1E-1F). Ambos materiales empleados están diseñados para bloquear parcialmente la entrada de los rayos solares, 21 y 50% para cubierta y malla respectivamente; por consiguiente a una menor radiación (Watts/m^2) hay una menor temperatura. Con relación a la práctica cultural uno, la utilización de aspersores de agua, la temperatura aumento un promedio de 0.46 ± 0.3 °C y la humedad relativa disminuyó 1.626 ± 1.48 % con respecto al testigo (figura 1C-1D). Es decir el riego que se aplico fue insuficiente, ya que no se elevó la humedad relativa y por consiguiente tampoco se disminuyó la temperatura. En los invernaderos de producción del CNRCB durante la época de lluvias se presentan problemas de fumagina (*Capnodium* spp.) (Vizcarra-Valdez *et al.*, 2013); por lo que al implementar ésta práctica cultural se cuidó de no favorecer la presencia del hongo. En próximas



pruebas se aumentara la frecuencia, duración (> 40 minutos) o volumen de agua aplicada (> 3 L/h).

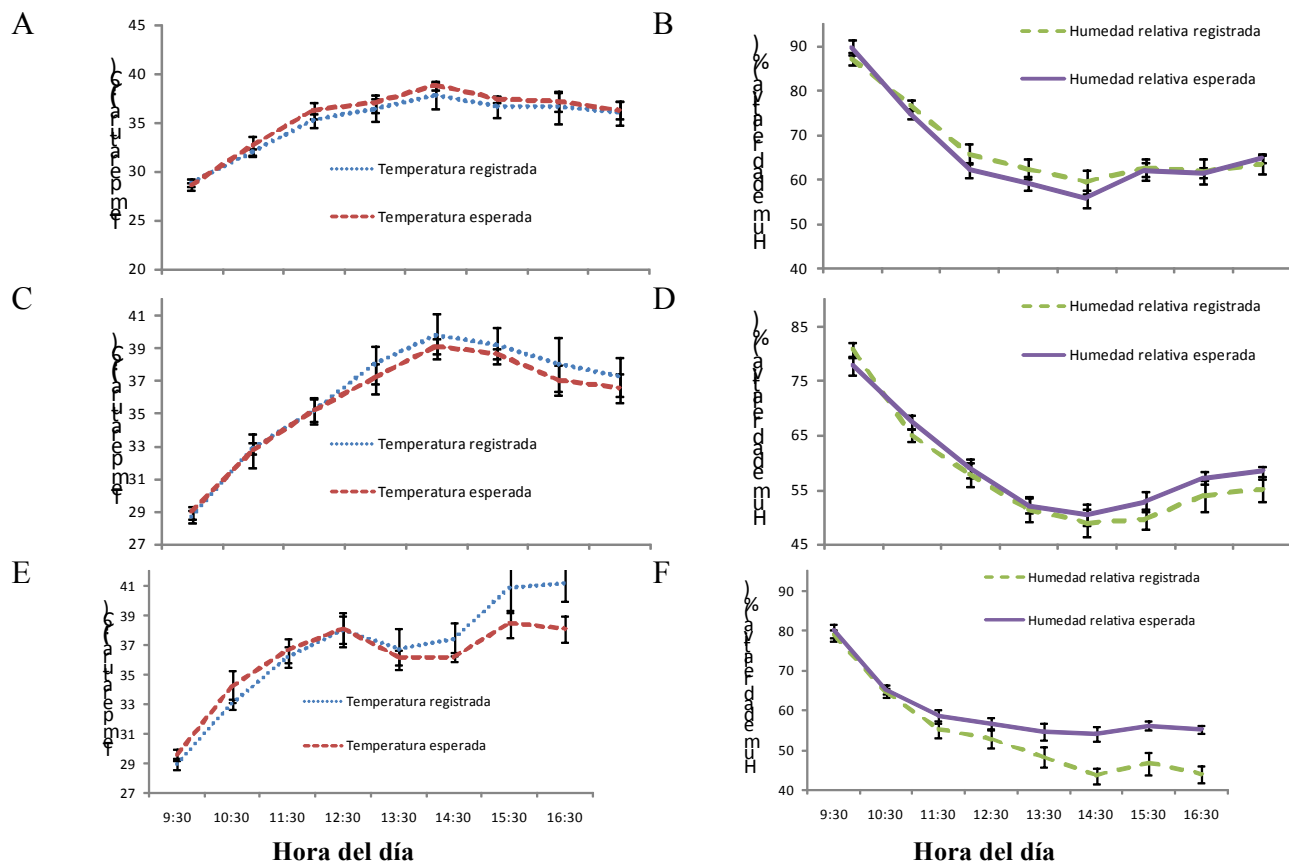


Figura 1. Cambios diurnos en la temperatura y la humedad relativa ocasionados por la implementación de las prácticas culturales en el invernadero de producción de ninfas de *Diaphorina citri*: (A-B) cubierta opaca impermeable, (C-D) aspersores de agua y (E-F) malla reflejante de la luz solar.

Estadísticamente, la oviposición de los psíidos no se incrementó cuando se implementó la práctica dos (cubierta opaca impermeable) (diseño factorial 2K, $f=2.08$, $p=0.0842$) y la práctica uno (aspersores de agua) (diseño factorial 2K, $f=2.17$, $p=0.073$), pero cuando se instaló la práctica tres (malla reflejante) se registró un aumento en la oviposición (diseño factorial 2K, $f=2.74$, $p=0.0293$): en las plantas bajo malla reflejante se registraron 154.03 ± 16.26 huevos, en comparación con los 86.25 ± 16.26 que se registraron en las plantas testigo (figura 2A, 2C y 2D). Con este tratamiento también se registró disminución de la temperatura (0.49 ± 0.63 °C) e incremento de la humedad relativa (1.23 ± 1.75 %). La temperatura óptima para la oviposición de *D. citri* es 28-29.6 °C, pero a temperaturas mayores a dicho óptimo hay una relación inversa entre temperatura y oviposición (Hall *et al.*, 2011; Liu y Tsai, 2000; Skelley y Hoy, 2004). Los adultos de *D. citri* tienen una gran adaptabilidad a diferentes gradientes de humedad, McFarland y Hoy (2001) reportaron un mismo porcentaje de sobrevivencia de los adultos entre 33 a 97% de



humedad relativa); por lo que el aumento de 1.23 % de humedad que se registró cuando se instaló la malla reflejante probablemente no afectó o favoreció la oviposición de los psílicos.

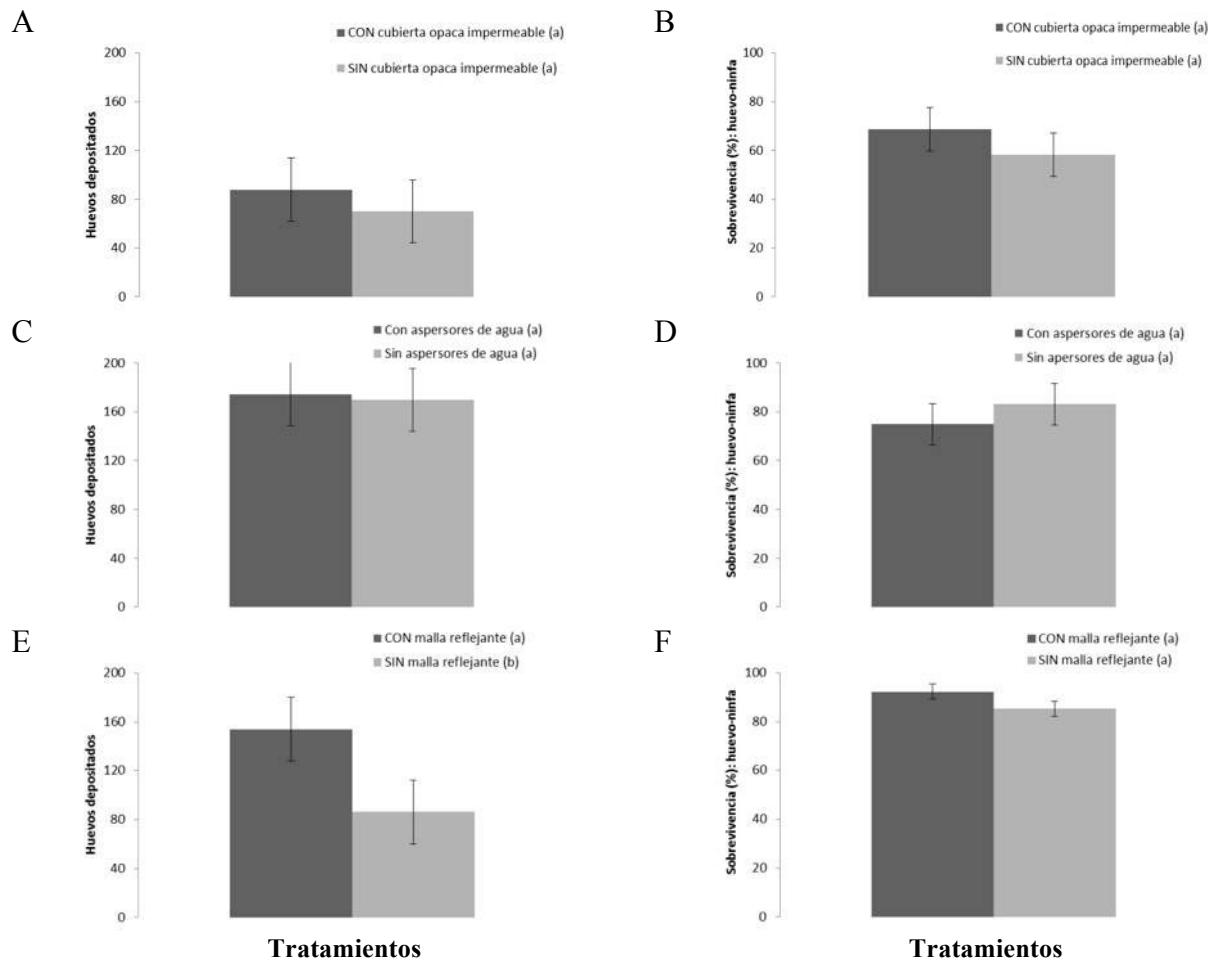


Figura 2. Huevos depositados sobre plantas de *Murraya paniculata* y sobrevivencia de huevo a ninfa de *Diaphorina citri* en relación a la implementación de tres prácticas culturales: (A-B) cubierta opaca impermeable, (C-D) aspersores de agua y (E-F) malla reflejante de la luz solar. Prácticas culturales (indicada en la parte superior de la grafica) seguidas por la misma letra estadísticamente son iguales. Diseño factorial 2K y ANDEVA, ajustados con Tukey y $p \leq 0.05$.

La implementación de las tres prácticas culturales no aumento la sobrevivencia de ninfas (ANDEVA, $f \leq 2.48$, $p \geq 0.1415$) (figura 2B, 2D y 2F), i.e., el desarrollo de los huevos depositados hasta ninfas del tercer al quinto ínstar no fue afectada por el aumento o disminución de la temperatura ($0.49-0.58 \uparrow$ y $0.48 \downarrow$ °C) y humedad relativa ($1.23-1.24 \uparrow$ y $1.62 \downarrow$ %) (previamente mencionados). Los estados inmaduros de *D. citri* sobreviven entre los 15 a 33 °C (Liu y Tsai, 2000; Nakata, 2006; Yubing, 1989), con un óptimo de 28 °C (Liu y Tsai, 2000); por lo que la disminución de la temperatura también debió haber aumentado la sobrevivencia de las ninfas.



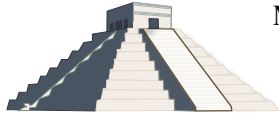
En los siguientes meses se continuaran evaluando prácticas culturales que incidan en la producción de ninfas de *D. citri*, por ejemplo, malla sombra o nuevos materiales en los cubos de producción.

Conclusiones

La instalación de la cubierta reflejante (práctica cultural tres) redujo la temperatura y aumento su humedad relativa al interior del área de producción, 0.49 ± 0.63 °C y 1.23 ± 1.75 %, respectivamente, lo que se reflejó en un aumento de la oviposición (78.58 %) de los psílicos. Se cree que con este tipo de mejoras en cualquiera de los componentes de producción de *T. radiata* se reflejará en una mayor producción de parasitoides.

Literatura citada

- Azrom, 2014. Agricultural innovations. Ein Tzurim, Israel. Consultado en internet, septiembre 10 del 2014. www.azrom.com.
- Bonan, G. P. 2002. Ecological climatology: concepts and applications. Cambridge, University Press. Cambridge, Reino Unido. pp. 242.
- Chu, Y. I., y C. C. Chien. 1991. Utilization of natural enemies to control psyllid vectors transmitting citrus greening. Integrated control of plant virus diseases. Food and fertilizer technology center for the Asian and Pacific region, Taipei, Taiwan. pp. 135-145.
- DGSV/CNRCB (Dirección General de Sanidad Vegetal/ Centro Nacional de Referencia de Control Biológico). 2010. Manual técnico para la reproducción masiva de *Tamarixia radiata*. Convenio SENASICA - CESAVECOL y SENASICA - CESVY para el desarrollo de tecnología y producción masiva de *Tamarixia radiata*, parasitoide del psílido asiático de los cítricos, vector del Huanglongbing. Dep. de Entomófagos del CNRCB. Tecmán, Colima.
- González, C., Hernández, D., y J. L. Rodríguez. 2002. Control de *Diaphorina citri* Kuw. (Homóptera, Psyllidae) por el parasitoide *Tamarixia radiata* Waterstons (Himenóptera, Eulophidae) en cítricos de cuba. Revista de Protección Vegetal. 17(3): 202-206.
- Hall, D. G., Wenninger, W. J., y M. G. Hentz. 2011. Temperature studies with the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. Journal of Insect Science. 83 (2): 1-15.
- Lambers, H., Chapin, F. S., y T. L. Pons. 2008. Plant physiological ecology. Springer. New York, USA.
- Liu, Y. H., y J. H. Tsai. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, (Homoptera: Psyllidae). Annals of Applied Biology. 137 (3): 201-206.
- McFarland, C. D., y M. A. Hoy. 2001. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. The Florida Entomologist. 84 (2): 227-233.
- Nakata, T. 2006. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. Applied Entomology and Zoology. 41 (3): 383-387.
- Sánchez-González, J. A., Sánchez-Borja, y H. C. Arredondo-Bernal. 2011. Cría masiva, liberación y evaluación en campo de *Tamarixia radiata* (Himenóptera: Eulophidae). En: López Arroyo, J. I., y V. W. González-Lauch (eds). II Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. CIRNE. Montecillo, Edo. de México, México. pp. 424.
- SAS, I. I. 2011. SAS/STAT® 9.2. User's guide. Cary, NC.
- Skelley, L. H., y M. A. Hoy. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. Biological Control. 29 (1): 14-23.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2013. Normales climatológicas 1971-2000. Estación: 6023. Tecomán, Colima. Consultado en internet, Mayo 21 del 2013: <http://smn.cna.gob.mx/climatologia/normales/estacion/col/NORMAL06023.TXT>.
- Vizcarra-Valdez, N. I., Sánchez-González, J. A., González-Hernández, A., y H. C. Arredondo-Bernal. 2013. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Himenóptera: Eulophidae. *Vedalia* 14 (1): 31-34.
- Yubing, Y. 1989. Effects of light, temperature and humidity on the development, reproduction and survival of citrus psylla. *Acta Ecological Sinica*. 9(4): 348-354. Consultado en internet, agosto 01 del 2012: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-STXB198904011.htm.



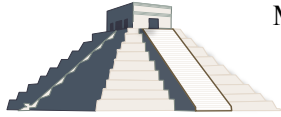
SUSTRATOS PARA ENVÍO Y TRANSPORTE DE HUEVOS DE *Chrysoperla externa* (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)

Bruno Barbosa-Amaral, **Brígida Souza**, Carlos Eduardo Sousa-Bezerra. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Entomologia, Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. brgouza@den.ufla.br

Resumen. Las crisopas pueden actuar en el control de diversas plagas agrícolas, ya que se alimentan de un amplio rango de presas que suministran sus necesidades biológicas. Se puede encontrarlas de forma natural en muchos cultivos, pero a menudo ocurren en densidades insuficientes para el control de la plaga. En esos casos, liberaciones de depredadores son una estrategia para controlar las poblaciones de plagas. Este estudio objetivó evaluar materiales para adicionarse a los recipientes de envío de huevos de *Chrysoperla externa* por ocasión del transporte para su comercialización. Los huevos fueron puestos en frascos de plástico (50mL) conteniendo vermiculita, cáscara de arroz, aserrín, cáscara de café o mazorcas de maíz picado, y enviados por correo a una dirección en la misma municipalidad. Después del recibimiento, los paquetes fueron llevados de vuelta al laboratorio para las evaluaciones. Las repeticiones fueron compostas por diez envíos que contenían, cada uno, todos los tratamientos. Se utilizaron 60 huevos con dos días de edad por recipiente. Se mantuvieron tratamientos testigos (25 ± 2 °C, 70% HR, escotofase total) tomados de los mismos materiales enviados por correo. Se evaluaron: número de huevos recuperados, duración del período de incubación y viabilidad de los huevos. Fueron utilizados Modelos Lineales Generalizados para análisis de los datos del número de huevos y viabilidad, y Two-way ANOVA para la duración del período de incubación. No hubo diferencia significativa en el número de huevos recuperados en función del material, con casi 100% de recuperación. La duración del período de incubación fue mayor para huevos enviados por correo, con promedio de 6,9 días, mientras que para aquellos mantenidos en laboratorio el promedio fue 4,9 días. La viabilidad no varió en relación a los testigos, sin embargo, huevos enviados juntamente con mazorcas de maíz picado, aserrín y vermiculita tuvieron viabilidades más altas en relación con los demás.

Palabras clave: Crisopa, Insectario, Cría en masa, Agente entomófago, Comercialización.

Agradecimientos: Los autores agradecen a FAPEMIG, CAPES e CNPq por el apoyo financiero para el desarrollo de esta parte del proyecto de investigación.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ECOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO



DISTRIBUCION DE LA ESCAMA BLANCA *Aulacaspis tubercularis* NEWSTEAD (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) Y ENEMIGOS EN MICHOACAN Y JALISCO

Mario A. Miranda-Salcedo¹, Marcelino Álvarez-Cilva² y Mario A. Urias-López³. ¹Campo Experimental Valle de Apatzingán, Km 17.5 Carretera Apatzingán-Cuatro Caminos, Antúnez, Mich. C.P. 60781. ²C.E. Tecomán. ³C.E. Santiago Ixcuintla. mail miranda.marioalberto@inifap.gob.mx

Resumen. Los estudios se desarrollaron de 2012 a 2014 en Michoacán y Jalisco. La escama blanca *Aulacaspis tubercularis* es una especie tropical originaria de Asia y que se ha distribuido a otros países productores de mango. En México se introdujo en Nayarit en 2002 y en Michoacán se registró su presencia en 2007 en Lázaro Cárdenas. La escama blanca no está presente en el Valle de Apatzingán, Michoacán, pero se encuentra en baja densidad poblacional en Lázaro Cárdenas. En contraste, en la Costa de Jalisco se presenta a altas densidades (Puerto Vallarta, Tomatlán y Cihuatlán). Los principales enemigos naturales son: *Chrysoperla rufilabris*, *Chilocorus cacti* y *Zelus renardi*.

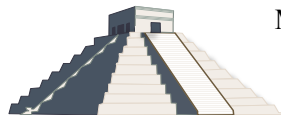
Palabras claves: Distribución, *Aulacaspis tubercularis*, mango, enemigos.

Introducción

El cultivo del mango en México es una fuente importante de divisas al ser el primer exportador y aportar el 30 % de la fruta (SIAP 2012). Sin embargo, en las zonas productoras existen diversos problemas relacionados con plagas, que reducen el rendimiento y limitan la comercialización por medidas cuarentenarias. Las escamas del mango son una de las plagas de reciente introducción en el cultivo, que rápidamente se ha extendido a varias regiones productoras del país. En 1999 se detectaron problemas ocasionados por la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) atacando los árboles de este cultivo en la costa del municipio de Compostela, Nayarit. Actualmente, se localiza en la mayoría de las zonas productoras de mango del país (Urias y Flores-Canales 2005; Urias 2006a, 2006b). En Michoacán, se detectó su presencia por primera vez en 2007, en el Municipio de Lázaro Cárdenas, mientras que en Jalisco fue en 2002. Para determinar su estatus como plaga en Michoacán y Jalisco, en 2012 iniciaron estudios sobre su distribución e identificación de enemigos naturales.

Materiales y Métodos

Para determinar la distribución de la escama blanca del mango en Michoacán, se revisaron 198 huertas de mango de diferentes cultivares en el Valle de Apatzingán y Costa Michoacana. Los monitoreos comprendieron (mayo de 2012 a junio 2014). Se utilizó la metodología sugerida por Urias-López *et al.* (2010), que consiste en seleccionar al azar cinco árboles por huerto. En cada árbol, se revisaron cuatro ramas para muestrear el penúltimo flujo (brote) vegetativo de cada rama (Norte, Sur, Este y Oeste). En cada brote se seleccionaron dos hojas (8 hojas por árbol) y se contabilizó por hoja el número de colonias, colonias de caminantes y hembras de escama. En Jalisco se revisaron 49 huertas de los siguientes cultivares: Manila verde, Manila rosa, Ataulfo, Tommy Atkins, Haden, Kent y Keitt. En los municipios de Puerto Vallarta, Tomatlán, La Huerta, Cihuatlán, Casimiro Castillo y Villa de Purificación. Finalmente, para identificar y cuantificar los



enemigos naturales de las mismas ramas muestreadas para escama blanca se cuantificaba previamente la presencia y número de enemigos naturales.

Resultados y Discusión

En Michoacán, la escama blanca está restringida al municipio de Lázaro Cárdenas, en la Costa Michoacana. En contraste, en el Valle de Apatzingán (Parácuaro, Gabriel Zamora, Buenavista, Apatzingán y Fco. J. Múgica) no se ha detectado su presencia. La presencia de escama blanca en Lázaro Cárdenas es menor a la registrada en Nayarit, ya que el promedio de hembras/hoja es de 0.007 y el de colonias/hoja de 0.05. Esta densidad es inferior a la reportada en Compostela, Nayarit, con promedios de 3.23 hembras/hoja y de 1.15 colonias/hoja (Urias y Flores-Canales 2005). En el caso de Nayarit, es probable que se registren altas poblaciones de la escama blanca por el manejo deficiente en los huertos y porque la introducción de la plaga fue a principios del 2000 (SENASICA 2007; Urias 2006 a, 2006 b; Urias *et al.* 2007). Es importante recalcar que en dos años de muestreo, no se ha detectado presencia de escama blanca en el Valle de Apatzingán la zona más importante de mango del estado y que comprenden 18,000 ha (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de escama blanca del mango en diferentes cultivares del Valle de Apatzingán y Lázaro Cárdenas, Michoacán (mayo 2012 a junio de 2014).

Municipio	No Huertas	Hembras/Hoja	Colonias/Hoja
Parácuaro	125	0	0
Fco. J. Múgica	44	0	0
Gabriel Zamora	10	0	0
Apatzingán	4	0	0
Buenavista	5	0	0
Lázaro Cárdenas	10	0.007	0.05

En Jalisco a diferencia de Michoacán, su zona productora de mango se presenta en los municipios de la Costa. La escama blanca está presente en los municipios de Puerto Vallarta, Tomatlán y Cihuatlán con rangos de 0.5 a 7.2 colonias/hoja (Cuadro 2). Pero no se presenta en La Huerta y Casimiro Castillo. La mayor densidad se observó en Puerto Vallarta (7.2 colonias/hoja), posiblemente por su cercanía con Nayarit y en donde por primera vez se detectó la plaga (Urias y Flores-Canales 2005).

Cuadro 2. Distribución de escama blanca del mango en diferentes cultivares de Jalisco (2012).

Cultivar	P.Vallarta	Tomatlán	La Huerta	Cihuatlán	C. Castillo
Manila verde	-	0.5	-	0.6	-
Manila rosa	-	-	0.0	3.0	-
Ataulfo	-	1.6	0.0	1.4	-
Haden	-	-	-	1.3	-
Kent	-	2.1	0.0	1.0	0.0
Tommy Atkins	7.2	1.1	-	-	-
Keitt	-	-	-	0.0	-

Tanto en Nayarit, Costa de Jalisco y Lázaro Cárdenas, Michoacán; la escama blanca ataca indistintamente todos los cultivares de mango. Sin embargo, el cultivar Ataulfo presenta una



mayor población de escamas que el Tommy Atkins (Urias y Flores-Canales 2005). Es importante, mencionar que el Valle de Apatzingan, presenta altitudes que fluctúan de los 250 a 950 msnm, y los climas que predominan son el BS₀ (h) (W)(w) y el Aw₀. Las condiciones agroclimáticas presentes (30° de temperatura promedio y humedad relativa de noviembre a junio menor al 30%) quizás puedan ser un factor adverso para el establecimiento de la escama blanca en el Valle de Apatzingán. Por el contrario, Lázaro Cárdenas (Costa Michoacana) presenta condiciones agroecológicas similares a la Costa Nayarit y Jalisco, lo que infiere que la escama blanca se presenta en lugares de mayor humedad ambiental, en huertas con manejo deficiente y lugares con alta incidencia de moscas de la fruta que generalizan las aplicaciones de malatión. En contraste, los municipios de Michoacán donde no se detectó escama blanca son zonas de baja incidencia de moscas de la fruta y las aplicaciones de malatión son mínimas o nulas. Posiblemente, la escama blanca sea una plaga secundaria que presenta resurgencia como consecuencia del control a las moscas de la fruta y la eliminación de sus enemigos naturales (principalmente catarinitas y chrysópidos).

En relación al estudio de abundancia de enemigos naturales, en Michoacán se detecto la presencia *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae), *Chilocorus cacti* (Coleoptera: Coccinellidae) y *Zelus renardi* (Hemiptera: Reduviidae). Estas especies están ampliamente distribuidas en los diferentes municipios productores de mango y cítricos del estado. Aún cuando no hay presencia de escama blanca, atacan a otros fitófagos (por ejemplo, trips, piojos harinosos). Es importante mencionar que los productores de Lázaro Cárdenas recibieron material de *Chrysoperla rufilabris* de parte del Comité Estatal de Sanidad Vegetal. Además estudios realizado por Miranda (2009) han constatado la presencia de este enemigo natural en huertas de cítricos de Michoacán. Su presencia es mayor en huertas con malezas (Price, 1981; Ables y Ridgeway 1981; Altieri, 1994). De momento solo constatamos las especies presentes y posteriormente se incluirán las densidades por rama. Otra especie detectada en el muestreo de abril del 2013 fue el redúvido *Zelus renardii*, sin embargo, no está reportado depredando a la escama blanca del mango. La presencia de enemigos naturales es una opción biorracional para el manejo de esta plaga en Michoacán. De trabajos realizados sobre control biológico, se ha podido observar que la escama blanca del mango tiene pocos insectos parasitoides, solo se ha registrado la avispa *Encarcia citrina* (Urias, 2006b). Además, existe un grupo variado de especies depredadoras de la escama en poblaciones naturales principalmente chrysópidos (*Ceraeochrysa* spp., *Leucochrysa* spp. y *Chrysoperla externa*) y sus poblaciones son más altas de diciembre a abril. También, existen otros depredadores de la familia coccinellidae *Chilocorus cacti* y *Pentilia* sp (González-Carrillo *et al.*, 2008). Finalmente, el uso de atrayentes y alimentos suplementarios son una herramienta que pueden incrementar la efectividad del control biológico por conservación de enemigos naturales.

Conclusiones

En Michoacán, la escama blanca no está presente en el Valle de Apatzingán. En contraste, se presenta a baja densidad en Lázaro Cárdenas en comparación a Nayarit y Jalisco. En Jalisco está presente en Puerto Vallarta, Tomatlán y Cihuatlan. No se detectó en la Huerta y Casimiro Castillo.



La escama blanca ataca indistintamente los diferentes cultivares de mango.

Se encontró a *Chrysoperla rufilabris*, *Zelus renardi* y *Chilocorus cacti* depredando a la escama blanca.

Agradecimientos. Esta investigación fue financiada por los fondos de la convocatoria SAGARPA-CONACYT, Proyecto “Generación y Validación de Tecnología de Manejo Integrado de Escama Blanca (Hemíptera: Diaspididae) para incrementar rentabilidad del mango en México”, proyecto (017179).

Literatura Citada

- Ables, J. R., and R. L. Ridgeway. 1981. Augmentation of entomophagous arthropods to control insect pests and mites. In: Biological control in crop production. pp: 273-305. G. Papavizas (ed.) Allandheld, Osmun Pub. London.
- Altieri, M. A. 1994. Biodiversity and pest management in agroecosystems. Haworth Press, N.Y. 185 p.
- González-Carrillo J. A., M. A. Urías-López M. A. y N. C. García-Álvarez. 2008. Fluctuación poblacional de la escama blanca, *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae) del mango en Nayarit, México. Entomología Mexicana. 7: 646-651.
- Price, P. W. 1981. Semiochemicals in evolutionary time. In: Semiochemicals: Their role in pest control. pp: 251-279. D. A. Nordlund, R. L. Jones and W. J. Lewis. eds. J. Wiley & Sons, NY.
- SENASICA. 2007. Internet Website (web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/sen/qesen /Doc1819/). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.senasica.gob.mx/default.asp. Noviembre 2007.
- SIAP, 2012. Servicios de información Agroalimentaria y Pesquera. Información de cultivos. 1980-2010. <http://www.siap.gob.mx>. Julio 2014.
- Urías-López, M. A. y Flores-Canales, R. 2005. La “escama blanca”, *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Homóptera: Diaspididae) una nueva plaga del mango: Fluctuación poblacional y anotaciones biológicas. Entomología Mexicana Tomo 4:579-584.
- Urías, L., M. A. 2006 a. Principales plagas del mango en Nayarit. En: El cultivo del mango: Principios y tecnología de producción (V. Vázquez V. e H. Pérez B. Eds). Libro Técnico No. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Santiago Ixcuintla Nay. 321 pp.
- Urías, L., M. A. 2006 b. Estudios biológicos y control de la escama blanca (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en la costa de Chila en Nayarit. Instituto Nacional Forestales Agrícolas y Pecuarias. Informe técnico de Investigación. Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Santiago Ixcuintla, Nayarit. 46 pp
- Urías-López M. A., M. H. Pérez-Barraza y V. Vázquez-Valdivia. 2007. Distribución de la escama blanca *Aulacaspis tubercularis* Newstead dentro de los árboles de mango. Memoria del II Congreso Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical. La Habana, Cuba, 6 pag.
- Urías-López, M. A., J. A. Osuna-García, V. Vázquez-Valdivia y M. H. Pérez Barraza. 2010. Fluctuación poblacional y distribución de la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en Nayarit, México. Rev. Chapingo Serie Hort. 16: 77-82.



EL CERATRAP[®], UNA ESTRATEGIA COMPATIBLE CON EL CONTROL BIOLÓGICO DE MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

Mario A. Miranda-Salcedo¹ y Pablo Montoya-Gerardo². ¹Campo Experimental Valle de Apatzingán, Km 17.5 Carretera Apatzingán-Cuatro Caminos, Antúnez, Mich. C.P. 60781. ²Programa Moscafrut, acuerdo SAGARPA-IICA-, Tapachula Chis. miranda.marionalberto@inifap.gob.mx.

Resumen. Las moscas de la fruta son una limitante para la exportación de frutas en fresco, por las limitantes cuarentenarias. Se evaluó la Estación Cebo (EC) Vitrolero tipo Montemorelos a la densidad de una por árbol (100 por hectárea) y un testigo sin EC. Estas fueron recebadas con CeraTrap[®] a una proporción de 1 litro del producto por 2 litros de agua. Las EC capturaron adultos de *Anastrepha ludens*, *A. obliqua*, *A. striata* y otros insectos no blanco. El CeraTrap[®] redujo el Mosca-Trampa-Día en las trampas Multilure, el daño de frutos (1%), en comparación al 2% del Control y del 8% del área marginal. En las tres especies de moscas de la fruta se capturó una mayor proporción de hembras que machos. No se encontró parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* en el sitio experimental.

Palabras claves: *Anastrepha*, mango, CeraTrap[®], parasitismo.

Introducción

Entre los factores que limitan o afectan la cadena productiva del mango están las plagas y destacan las moscas de la fruta. Estas son consideradas como de interés público por los daños directos e indirectos que causan en diferentes hospederos comerciales (Aluja 1994). Una de las primeras acciones para control de las moscas de la fruta es el uso de un sistema de monitoreo por medio de trampas recebadas con proteína hidrolizada (Gutiérrez *et al.*, 1992). Sin embargo, una desventaja de estas proteínas es el bajo rango de capturas de adultos y la captura de insectos no blancos. En el manejo integrado de moscas de la fruta se incluye la Técnica del Insecto Estéril y la aplicación de insecticidas cebo (Mangan y Moreno, 2007), ambas son indispensables en los planes de erradicación o supresión de la plaga, pero actualmente el uso de insecticidas como el malatión ha sido ampliamente cuestionado. Por esta razón se han desarrollado productos alternativos como el Phloxine B (Moreno *et al.*, 2001) y el Spinosad (Mac Quate *et al.*, 2005). Estas alternativas combinadas con el uso de “Estaciones Cebo” representan una opción donde no es posible aplicar algún cebo tóxico y ser compatible con otras estrategias de control más amigables (bioinsecticidas o liberaciones de parasitoides). El objetivo fue determinar el efecto de la Estaciones Cebo en reducir la densidad poblacional de la plaga y el nivel de daño (porcentaje de frutos dañados) en comparación con un testigo sin Estaciones Cebo y el área marginal.

Materiales y Métodos

El experimento se realizó en dos huertas de mango Haden, ubicadas en La Gallina, municipio de Gabriel Zamora, Michoacán de febrero a agosto del 2014; ambas huertas son colindantes entre sí. La huerta donde se colocaron las EC tiene un manejo orgánico, en cambio el Control tiene un



manejo convencional. Los tratamientos evaluados fueron: 1) Una Estación Cebo Vitrolero tipo Montemorelos en cada árbol (100 por hectárea) y 2) Control sin EC. Las EC fueron recibadas con 500 cc de Ceratrap® en la proporción de un litro del producto por dos litros de agua. Las EC se colocaron a partir del desarrollo del fruto y hasta el término de la cosecha, estas se revisaban cada quince días y se agregaba más producto debido a la evaporación. En cada tratamiento se colocaron dos trampas Multilure base amarilla y cada trampa fue recibada con 250 ml. de propilen-glycol al 20% más un parche de Biolure (acetato de amino + putrecina). Las trampas se revisaron cada semana y los especímenes capturados se recuperaron con la ayuda de un cedazo. Posteriormente se guardaron en frascos con alcohol al 70%, para su identificación en laboratorio. Semanalmente se muestrearon frutos maduros tomados al azar. Cada muestra se pesaba y los frutos se medían estos se colocaban en jaulas de madera de 80x80x80 cm. por siete días. Posteriormente se revisaron para cuantificar el número de larvas por fruto. Como índice de infestación se considerará el número de larvas por fruto, por kg y porcentaje de frutos infestados. Las larvas obtenidas se cuantificaron y colocaron en medios de pupación (vasos de plástico de 10 x 5 cm con tierra húmeda), hasta la emergencia de adultos. En caso de emerger parasitoides se cuantificaba el parasitismo natural (número de parasitoides obtenidos entre el número de moscas y parasitoides por cien).

Resultados y Discusión

Los resultados del estudio muestran que en el tratamiento con Estaciones Cebo, las capturas de moscas de la fruta fueron nulas durante todo el desarrollo de fructificación y cosecha. En contraste, en el Control en febrero y marzo se presentó un rango de 0.03 a 0.05 de Mosca-Trampa-Día (MTD). Sin embargo, al final de la cosecha en ambos tratamientos se presentaron los máximos picos poblacionales, 0.14 de MTD en las Estaciones Cebo y de 0.10 MTD en el Control (Figura 1). Los resultados coinciden con estudios previos que señalan que en el Valle de Apatzingán, las máximas poblaciones de moscas de la fruta se presentan de junio a julio (Miranda y Leyva 1996; Miranda 2012). Estos índices implican acciones de control para reducir el riesgo de daño por la plaga. En ambos tratamiento se presentaron frutos con daño en febrero (Control) y marzo (EC); lo cual posiblemente se debió a la emigración de moscas de la fruta de las áreas marginales próximas al sitio de estudio y a la falta de acciones de control de la plaga. Por lo tanto son relevantes los resultados del estudio, en donde se aprecia el efecto de las EC en la disminución del MTD en ambos tratamientos. El pico observado en junio y julio, se deben posiblemente a migraciones de moscas de la fruta del Control y los reservorios de moscas de la fruta próximos al sitio experimental. Es importante señalar que estas poblaciones no incidieron en el incremento del número de frutos dañados en ambos tratamientos, ya que en ambas huertas la fruta fue cosechada a finales de mayo.

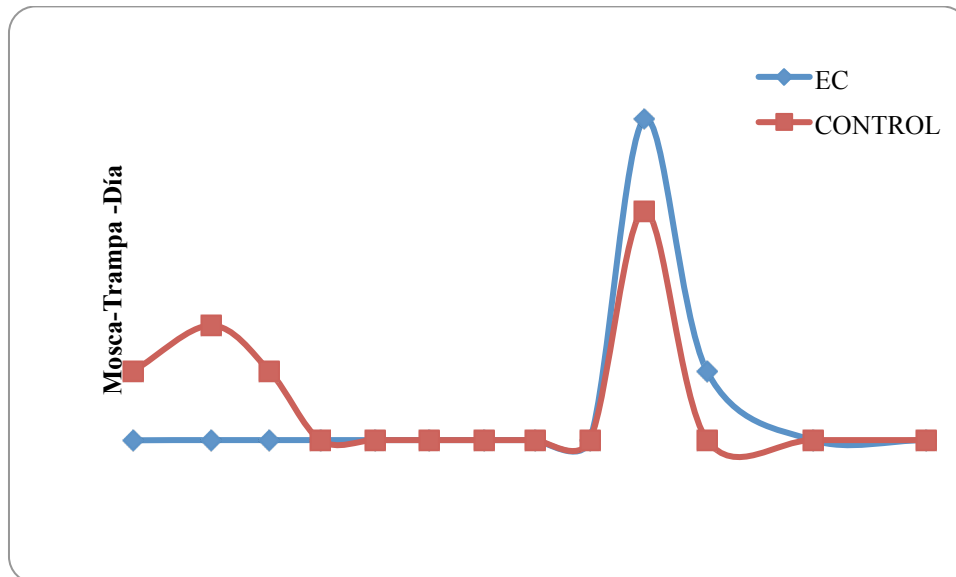
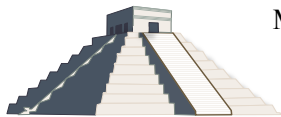


Figura 1. Efecto del uso de Estaciones Cebo recebadas con CeraTrap[®], en el índice de capturas de moscas de la fruta en dos huertas de mango Haden en la Gallina, Municipio de Gabriel Zamora, Michoacán.

Durante el estudio se capturaron en las trampas Multilure doce especímenes: *A. ludens* 75%, *A. obliqua* 17% y *A. striata* 8% (Figura 2). Estos resultados coinciden con estudios previos de Miranda y Leyva (1996), Miranda (2012) y Bustos *et al.*, (2013). En la parte transicional *A. ludens* es la especie más importante, sin embargo, *A. obliqua* incrementa sus poblaciones de mayo a agosto. Ambas especies atacan al mango y sus poblaciones se traslapan al final de la cosecha del mango (Figura 2). De los especímenes capturados el 66.7% fueron hembras y el 33.3% machos.

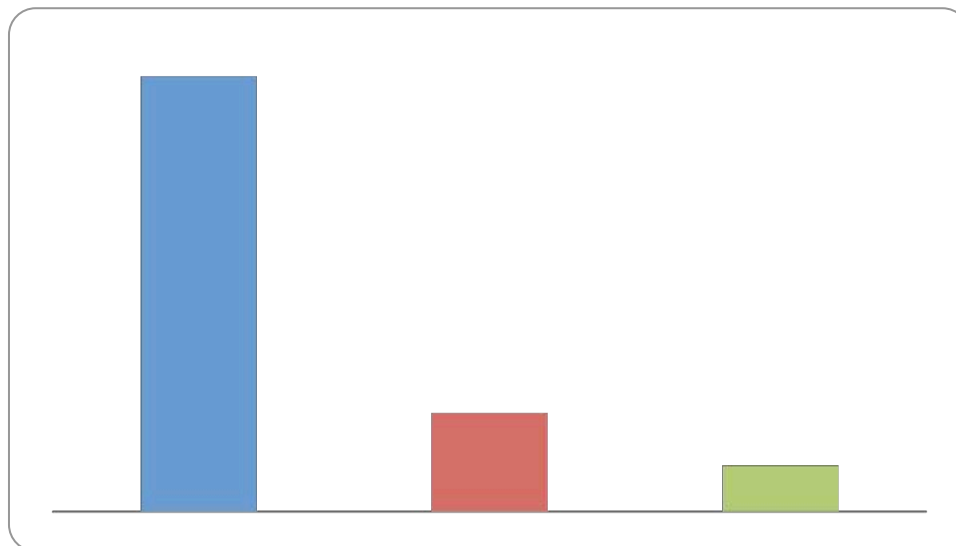
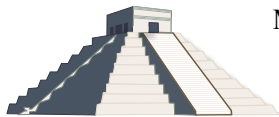


Figura 2. Porcentaje de captura de moscas de la fruta en trampas Multilure en La Gallina, municipio de Gabriel Zamora.



En la Figura 3 se presentan las moscas capturadas en las Estaciones Cebo durante el periodo de fructificación y cosecha, es importante mencionar que no se realizaron otras acciones de control al ser una huerta orgánica. En ambos años se aprecia la efectividad de las capturas de especímenes de las tres principales especies de moscas de la fruta. Es importante mencionar que en 2013 se colocaron 40 EC por hectárea, mientras que en el 2014 fueron 100 EC por hectárea. Los resultados constatan en ambos años la efectividad de las Estaciones Cebo recebadas con Ceratrap[®], en capturar moscas de la fruta y reducir el MTD y porcentaje de mangos dañados. Por ejemplo, en 2013 se contabilizaron 1564 moscas y en 2014 fueron 1662 moscas. El efecto en la reducción poblacional también se reflejó en el Control, lo que demuestra el gran poder de atracción que tiene el producto aún cuando se diluyó al 33%.

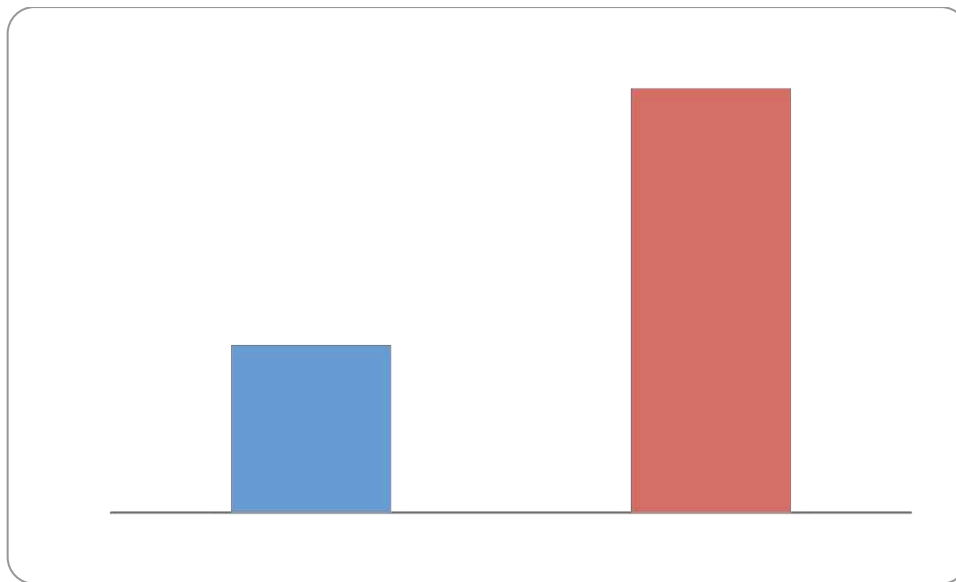


Figura 3. Número de moscas de la fruta, capturadas en Estaciones Cebo recebadas con CeraTrap[®] en una huerta orgánica de mango Haden, en la Gallina, municipio de Gabriel Zamora, Mich.

En ambos ciclos se observó que las EC recebadas con Ceratrap[®], capturaron una mayor proporción de hembras que machos. Esto es relevante, ya que las hembras son las que ovipositan sus huevecillos en los frutos. En 2014 la proporción sexual fue: *A. ludens* 2.2 hembras: 1 macho; *A. obliqua* 2.1 hembras: 1 macho y *A. striata* 4.5 hembras: 1 macho. En el 2013 en ambas huertas de mango (orgánica y convencional) se colocaron 40 EC por hectárea, los resultados mostraron un 12% de frutos dañados la huerta orgánica y del 13% en la huerta convencional (Figura 4). En 2014, los resultados fueron más promisorio y decreció el porcentaje de frutos dañados: 1% en la huerta orgánica, 2% en el Control y 8% en el área marginal (mangos criollos próximos a los sitios experimentales) (ver Figura 5).

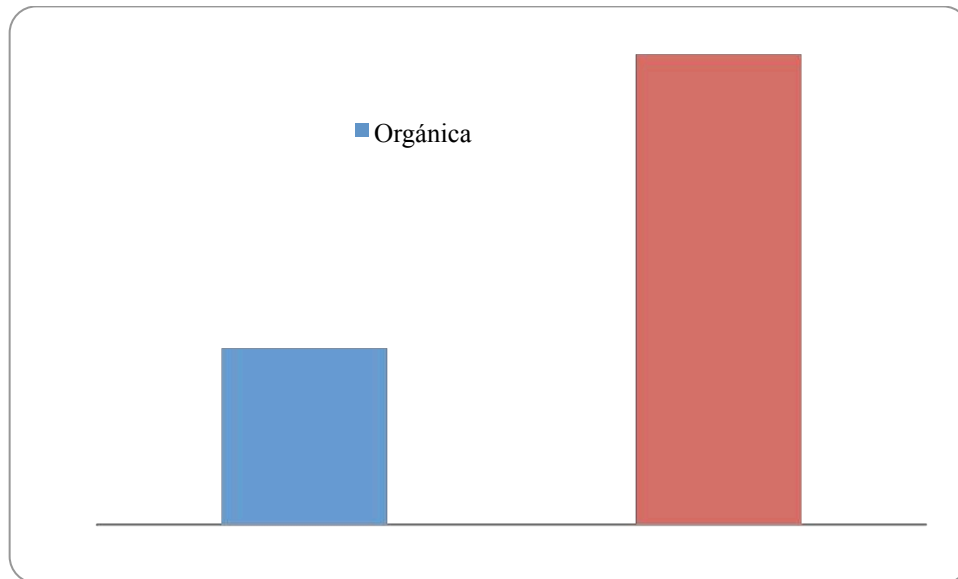
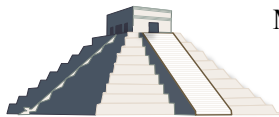


Figura 4. Porcentaje de frutos dañados en dos huertas de mango Haden, con Estaciones Cebo, en La Gallina municipio de Gabriel Zamora, Mich. (2013).

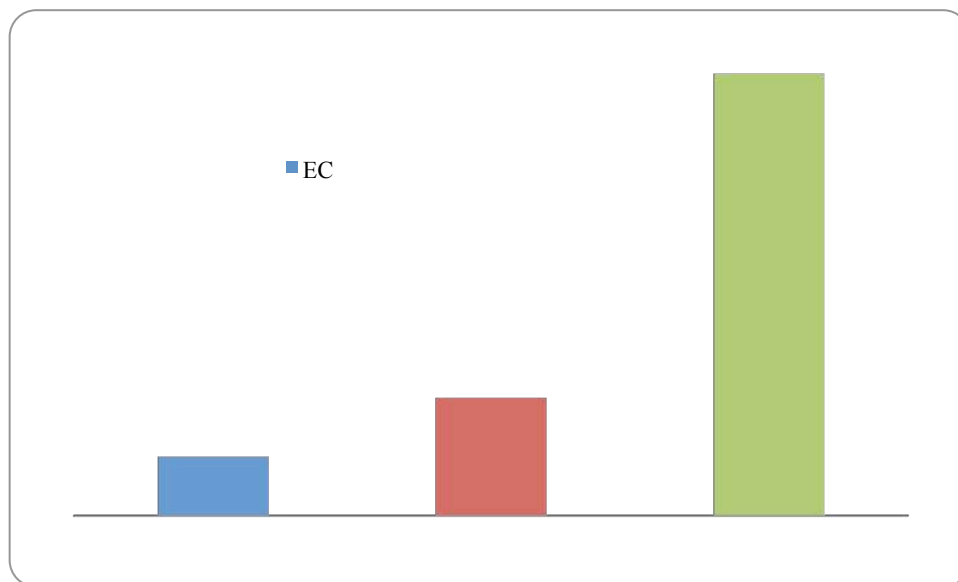


Figura 5. Porcentaje de frutos dañados de mango en la huerta con Estaciones Cebo, en el Control y área marginal de La Gallina municipio de Gabriel Zamora, Mich. (2014).

Estos resultados son relevantes si tomamos en consideración que con este método biorracional, se logró reducir las poblaciones de moscas, el índice Mosca-Trampa-Día y el porcentaje de frutos dañados en el área de mayor infestación de esta plaga en el Estado de Michoacán. Los datos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal (2014), reportan que durante el presente año se detectaron 70 lotes con larvas, de las cuales el 69% correspondió a los municipios de Gabriel Zamora y Nuevo



Urecho sitios de condiciones ambientales similares en donde se realizó el presente estudio. Es también importante señalar que el CeraTrap[®] conserva su gran poder de captura en la proporción de una parte de CeraTrap[®] por tres partes de agua. Sin embargo, nunca se debe de mezclar con agua del canal por que se presentan hongos en las EC. Finalmente, en el 2014 no se liberaron parasitoides de *Diachasmimorpha longicaudata* en Tequecarán, municipio de Gabriel Zamorano. Este sitio está cercano a La Gallina, es un reservorio de moscas de la fruta y Martínez y colaboradores reportan un parasitismo del 20% por *D. longicaudata*. Sin embargo, el parasitismo es nulo en los sitios experimentales e inferior al 5% en mangos criollos anexos a ambas huertas experimentales. Durante la revisión las EC no se encontró a *D. longicauda*, pero si a otros organismos no blanco. Se sugiere no colocar la EC durante la floración del mango debido a que atraparían diferentes polinizadores.

Conclusiones

Las Estaciones Cebo recebadas con CeraTrap[®] son una estrategia biorracional de control de moscas de la fruta, al reducir poblaciones de moscas de la fruta, el índice Mosca-Trampa-Día y el porcentaje de frutos con larvas y ser compatible con liberaciones de parasitoides.

A la densidad de 100 Estaciones Cebo por hectárea, el porcentaje de frutos infestados fue del 1%. En contraste, el Control presentó el 2% y en el área marginal fue del 8%.

Las Estaciones Cebo con proteína CeraTrap[®] capturan una mayor proporción de hembras que machos de *A. ludens*, *A. obliqua* y *A. striata*.

No se encontró parasitismo en el sitio de estudio (huerta orgánica, convencional y área marginal).

Agradecimientos. Las investigaciones aquí reportadas fueron financiadas por las siguientes instituciones: Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT (S0007) Convocatoria 2011-04, solicitud 163431.

Literatura Citada

- Aluja, M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 155-73.
- Bustos, J. C. A., P. Montoya, L. A. Hernández, S. Pineda, J. A. Figueroa & A. M. Martínez. 2013. Especies de moscas de la fruta del género *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) presentes en una zona marginal del estado de Michoacán. *Entomología Mexicana* 12(2): 1093-1098.
- Gutiérrez, J., J. Reyes, A. Villaseñor, W. Enkerlin, y A. Pérez. 1992. Manual para el control integrado de moscas de la fruta. Dirección General de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México D.F.
- MacQuate, G. T, C. D. Sylva, and E. B. Jang. 2005. Efficacy of suppression of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in a persimmon orchard through bait sprays in adjacent coffee plantings. *Journal of Applied Entomology* 129: 110-117.
- Miranda, S. M. A. 2012. Avances de investigación de moscas de la fruta *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) en Michoacán, México. Memorias 3º Congreso Nacional de Mitigación de Daño Ambiental en el Sector Agropecuario de México, Guadalajara Jal 29-30 noviembre pp 86-100.
- Miranda, S. M. A and J. L. Leyva. 1996. New records of *Anastrepha sagittata* and *A. montei* (Diptera: Tephritidae) from western México. *Fla. Entomol.* 79: 264-265.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Moreno, D.S., H. Celedonio, R. L. Mangan, J. Zavala, and P. Montoya. 2001. Field evaluation of a phototoxic dye, Phloxine B, against three species of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 94: 1419-1427.



EFFECTIVIDAD DEL ISOCLAST EN EL MANEJO INTEGRADO DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) EN MICHOACAN

Mario A. Miranda-Salcedo. Campo Experimental Valle de Apatzingán, Km 17.5 Carretera Apatzingán-Cuatro Caminos, Antúnez, Mich. C.P. 60781. miranda.marioalberto@inifap.gob.mx.

Resumen. La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero y campo de mayo a agosto del 2014. Se evaluaron tres dosis del Isoclast (0.5, 0.75 y 1.0 ml/5 l de agua), Exalt (0.5 ml/ 5 l de agua), Bifentrina (2.5 ml/5 l de agua) y un testigo. Los bioensayos se realizaron en el Campo Experimental Valle de Apatzingán. En invernadero el Isoclast y el Exalt controlaron *Diaphorina citri* por siete días en adulto y 14 días en ninfa; la Bifentrina fue el mejor tratamiento. En campo el Isoclast y la Bifentrina mantuvieron la densidad de la plaga por debajo de una adulto y/o ninfa por brote durante cuarenta días. Se observó presencia de *Tamarixia radiata*, *Chrysoperla rufilabris*, *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens*, *Zelus renardii* y diferentes arañas que ejercen un control de la plaga.

Palabras claves: *Diaphorina citri*, Isoclast, cítricos, enemigos naturales.

Introducción

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) está distribuido en todo México (López-Arroyo *et al.*, 2008). Es el vector del Huanglongbing (HLB) la enfermedad más importante de los cítricos en el mundo (Aubert, 1987; Da Graca, 1991). La enfermedad está presente en 15 estados de la república mexicana y en otros siete se han detectado psílicos infectivos. En Michoacán, se detectó en diciembre de 2010 (SENASICA, 2014). El control químico, es el método más empleado para reducir las poblaciones de *D. citri* en México. Sin embargo, el uso extensivo de insecticidas sintéticos genera problemas de resistencia y daños al medio ambiente, por lo que existe un rechazo a su uso (Cortés *et al.* 2010). Tradicionalmente, para el manejo del psílido, los agricultores realizan una aplicación mensual de insecticidas de amplio espectro, tales como imidacloprid, tiametoxam, bifentrina, dimetoato, clorpirifos y malatión, pero el control no es efectivo debido a la alta capacidad del insecto para desarrollar resistencia hacia algunos de estos compuestos (Cortés y López-Arroyo, 2012). El objetivo de este estudio fue evaluar el Isoclast (Sulfoximinas) a tres dosis y un testigo regional Bifentrina bajo condiciones de invernadero y campo, determinar su periodo residual y efectos en los enemigos naturales. La hipótesis que se sustenta es que este producto controla al psílido asiático de los cítricos y puede ser compatible con la presencia de enemigos naturales.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó durante los meses de mayo a agosto del 2014, bajo condiciones de invernadero y campo. El estudio de invernadero se efectuó en un Lote Donador de Yemas no certificado, el cual tiene una superficie de 20 x 20 m y 700 plantas donadoras de Limón Mexicano. El bioensayo en campo se realizó en una huerta de Limón Mexicano de dos años de



edad, establecida a una distancia entre plantas de 6 x 4 m en el Campo Experimental Valle de Apatzingán. Las coordenadas son: 19° 00' 50'' latitud norte y 102° 14' 15.3'' longitud oeste y 320 msnm. Cada tratamiento, estuvo representado por una hilera de árboles, cada árbol representó una repetición (20 repeticiones). Se revisó un brote de cada árbol, los brotes muestreados correspondían a la parte externa de la copa del árbol y a una altura de 1.5 m sobre el nivel del suelo. El muestreo se realizó *in situ* con el apoyo de una lupa de mano, los muestreos se efectuaron previo a la aplicación, a las 24, 48 y 72 horas y posteriormente cada tercer día. Los productos y dosis evaluados fueron: 1) Isoclast 0.5 ml/5 l de agua, 2) Isoclast 0.75 ml/5 l de agua, 3) Isoclast 1 ml/5 l de agua, 4) Exalt 0.5 ml/ 5 l de agua, 5) Bifentrina 2.5 ml/5 l de agua, 6) Control. Las variables fueron: número de ninfas, adultos/brote y número de enemigos naturales.

Resultados y Discusión

Bajo condiciones de invernadero previo a la aplicación se observaron rangos de 8.2 a 19.8 adultos/brote. A las 24 horas de la aplicación, el Isoclast presentó de 1 a 1.7 adultos/brote, el Exalt 0.5 adultos, la Bifentrina 0.2 adultos y el Control 7.2 adultos. Sin embargo, a los siete días de aplicado el producto se observó una resurgencia de la plaga: Isoclast (4.9 a 10.7 adultos/brote), Exalt 4.8 adultos, Bifentrina 1.7 adultos y Control 4.5 adultos. Es posible que la plaga se desplace del Control a los (4.5 adultos/brote) a los otros tratamientos. Posteriormente, se aprecia un incremento de la población en el Isoclast, Exalt y en el Control. En contraste, la Bifentrina mantuvo la densidad abajo de 4 adultos hasta los 21 días (Figura 1).

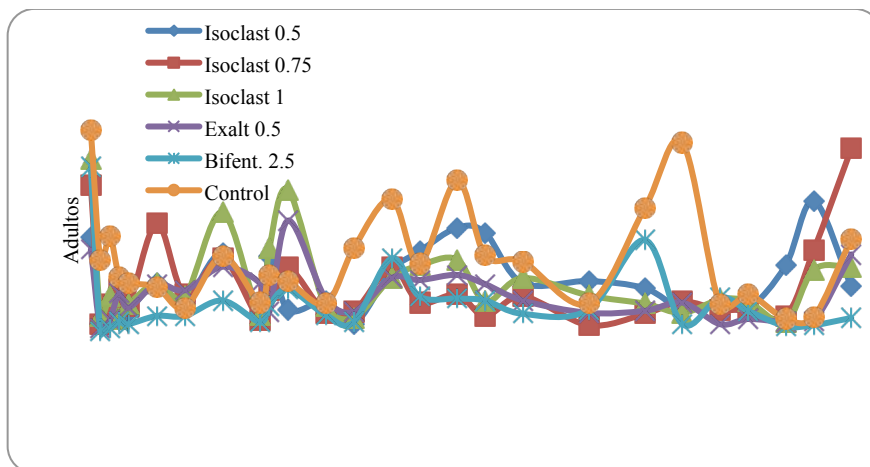


Figura 1. Efecto del Isoclast, Exalt y Bifentrina en el control de adultos de *D. citri* en invernadero.

En ninfas previo a la aplicación hay rangos de 12.6 a 23 ninfas/brote. A las 24 horas de la aplicación, el Isoclast presentó de 0.4 a 3.3 ninfas, el Exalt 7.2 ninfas, la Bifentrina 0 ninfas y el Control 1.3 ninfas. A los siete días de aplicado el Isoclast presentó rangos de 0 a 4.6, Exalt 1.4, Bifentrina 0.4 y el Control 10.7. Sin embargo, a los catorce días después de la aplicación, hay un incremento significativo en el número de ninfas, con excepción del Isoclast a la dosis de 0.75 ml de agua 1.5 ninfas. En contraste, con Isoclast 0.5 ml 18.2 ninfas, Isoclast 1 ml 3.9 ninfas, Exalt



15.8, Bifentrina 18.6 y el Control 12.9. Si comparamos el promedio general de ninfas de todos los muestreos, la dosis del Isoclast tiene efecto en el control de la plaga: Isoclast 0.5 ml (6.5 ninfas), Isoclast 0.75 ml (4.1 ninfas), Isoclast 1 ml (3.5 ninfas), Exalt (3.6 ninfas), Bifentrina (2.7 ninfas) y el Control (8.1ninfas). En contraste, el Isoclast a las diferentes dosis no presenta diferencia en el control de adultos (Figuras 2 y 3).

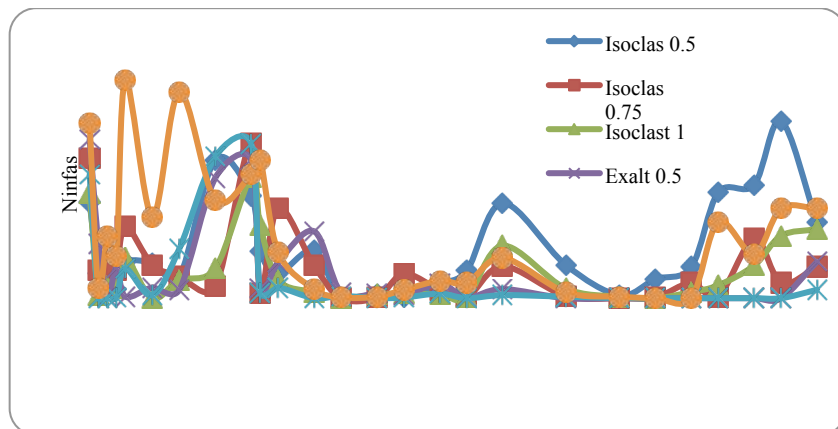


Figura 2. Efecto del Isoclast, Exalt y Bifentrina en el control de ninfas de *D. citri* en invernadero.

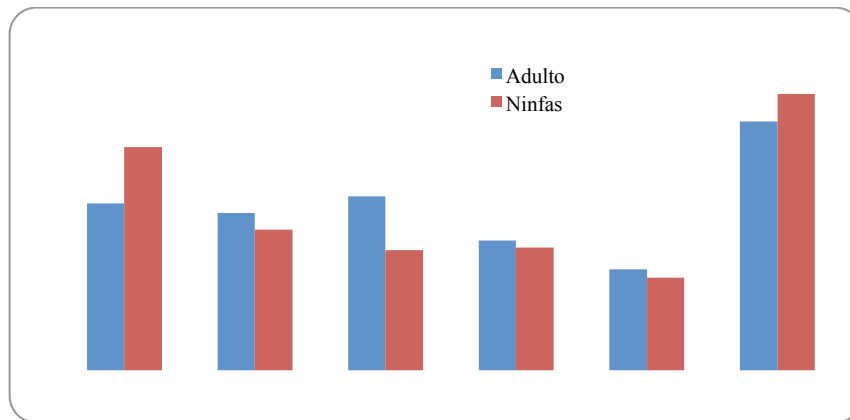


Figura 3. Promedio general de adultos y ninfas de *Diaphorina citri*, en invernadero.

Bajo condiciones de campo previo a la aplicación el rango fue de 0.2 a 1.95 adultos/brote. A las 24 horas Isoclast presentó de 0.15 a 0.36 adultos, Bifentrina 0 y el Control 0.8. En campo las poblaciones fueron menores a 1 adulto/brote y el promedio general fue: Isoclast 0.5 ml 0.16, Isoclast 0.75 ml 0.23, Isoclast 1 ml 0.29, Bifentrina 0.23 y el Control 0.46 (Figuras 4 y 6).

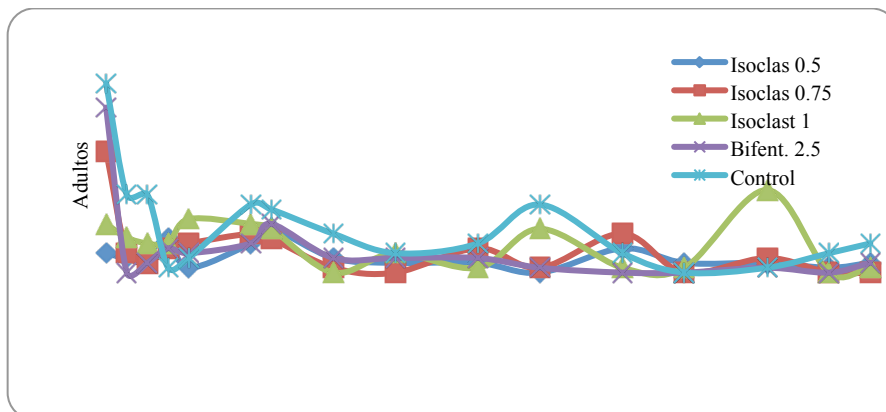


Figura 4. Efecto del Isoclast y Bifentrina en el control de adultos de *D. citri* en campo.

Las ninfas previa aplicación presentaron de 2.1 a 6.75 ninfas/brote. A las 24 horas de la aplicación, Isoclast presentó de 0.26 a 0.9 ninfas, Bifentrina 1.9 y el Control 4.1. A los siete días el Isoclast presentó de 0.05 a 0.65, la Bifentrina 0.5 y el Control 1. Los valores fueron bajos hasta los cuarenta días posteriores a la aplicación y los promedios finales fueron: Isoclast 0.5 ml (0.6), Isoclast 0.75 ml (0.8), Isoclast 1 ml (0.52), Bifentrina (0.84) y el Control (1.32) (Figuras 5 y 6).

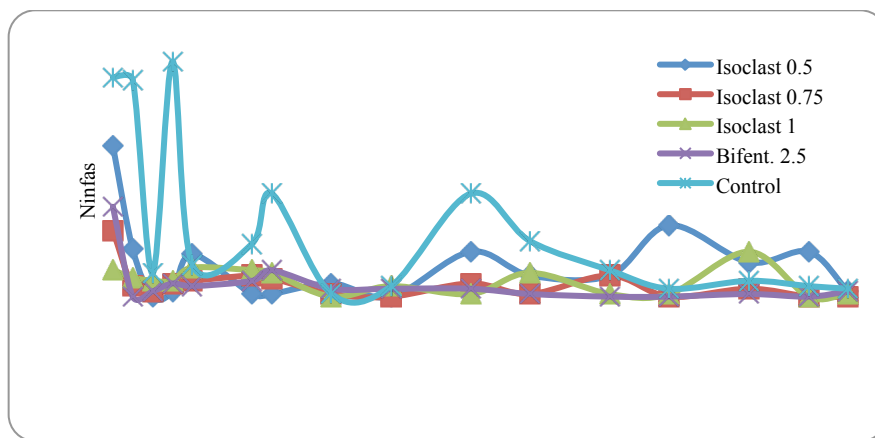


Figura 5. Efecto del Isoclast y Bifentrina en el control de ninfas de *D. citri* en campo.

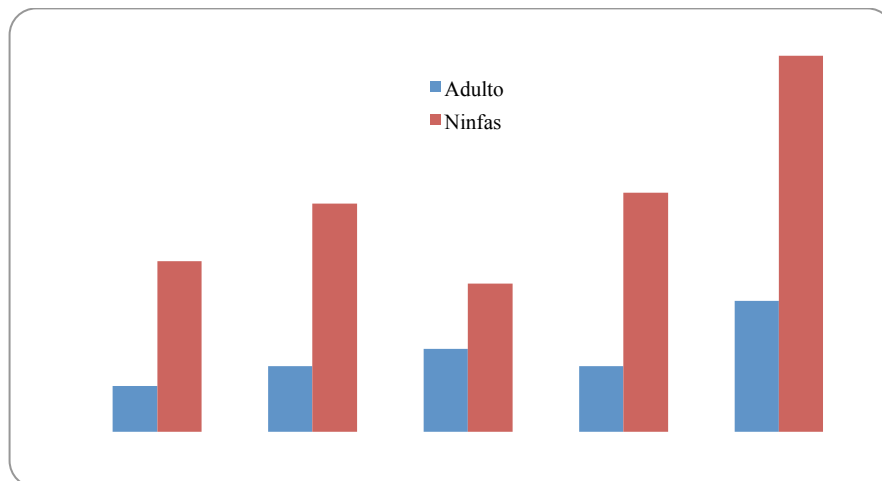
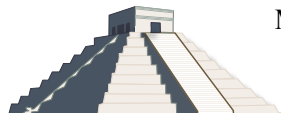


Figura 6. Promedio general de adultos y ninfas de *Diaphorina citri*, en campo.

Las bajas poblaciones de *D. citri* en campo, se debe a que en la huerta existen entre las hileras de Limón malezas que sirven de refugio a enemigos naturales: los depredadores *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae), *Cycloneda sanguinea* (L.), *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Coccinellidae), *Zelus renardii* (Hemiptera: Reduviidae) y diferentes arañas que regulan la plaga (Miranda *et al.*, 2012). Se encontró en campo un parasitismo del 25% de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). En estudios previos, Miranda y López-Arroyo (2010, 2011) reportaron para el Valle de Apatzingán estos enemigos naturales y su abundancia en huertos de cítricos diversificados. En ambientes diversificados aumenta la presencia de enemigos naturales (Altieri, 1994; De Freitas y Penny 2001; Cáceres *et al.* 2009).

Finalmente, se presenta la evaluación en campo del Isoclast (0.5, 0.75 y 1 ml), la Bifentrina (2.5 ml) y el Control, a los 3, 7, 14 y 21 días de la aplicación. En ninfas existen diferencias entre tratamientos después de 3 días de la aplicación. La baja densidad de la plaga se infiere que se debe al efecto que ejercen los diferentes enemigos naturales que se citan en el párrafo anterior los cuales coadyuvan al control del psílido (Cuadro 1).

Cuadro 1. Control de *D. citri* con Isoclast y Bifentrina en Limón Mexicano bajo condiciones de campo.

Tratamiento	3 días		7 días		14 días		21 días	
	Adulto	Ninfa	Adulto	Ninfa	Adulto	Ninfa	Adulto	Ninfa
Isoclast 0.5 ¹	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	0.0	0.4
Isoclast 0.75 ²	0.3	0.3	0.4	0.7	0.0	0.3	0.1	2.0
Isoclast 1 ³	0.3	0.5	0.5	0.2	0.2	0.2	0.5	0.7
Bifentrina 2.5 ⁴	0.3	0.8	0.3	0.5	0.2	0.0	0.1	0.0
Testigo ⁵	0.1	4.5*	0.7	1.0	0.2	0.2	0.7	1.1



Conclusiones

En invernadero el Isoclast y el Exalt controlaron a *D. citri* por 14 días, sin embargo, la Bifentrina fue significativamente el mejor tratamiento.

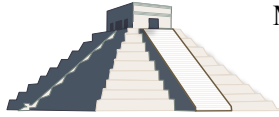
En campo la densidad de la plaga fue baja. El Isoclast en las tres dosis y la Bifentrina mantuvieron el control de la plaga debajo de una ninfa y un adulto por brote durante 40 días.

Estas presentes *Tamarixia radiata*, *Chrysoperla rufilabris*, *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens* y *Zelus renardi* y su efecto regulatorio disminuye el uso de aplicaciones químicas.

La aplicación de Isoclast en las dosis evaluadas no afectó el forrajeo y depredación de los enemigos naturales de *D. citri*.

Literatura Citada

- Altieri, M. A. 1994. Biodiversity and pest management in agroecosystems. Haworth Press, N.Y. 185 p.
- Aubert, B. 1987. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42:149-162.
- Cortés, M. E. y J. I. López, 2012. Rotación de insecticidas para el manejo del psílido asiático de los cítricos mediante áreas regionales de control (ARCO's). Puerto Vallarta, Jalisco, México. Congreso (En línea). www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp. Consultado el 20 de Noviembre de 2013.
- Cortés, M.E., J.I. López-Arroyo, L.M. Hernández, A.F. Castillo y J.G. Loera. 2010. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces en México: Selección de Insecticidas y épocas de aplicación. Folleto Técnico No 35. INIFAP-México 22 p.
- Da Graca, J. V. 1991. Citrus greening disease. *Annual Review of Phytopathology* 29:109-136.
- De Freitas S. and N. Penny. 2001. The green lacewings (Neuroptera Chrysopidae) Brazilian Agroecosystem. *Proc. Calif. Acad. Scienc.* 52 (19): 245-395.
- López-Arroyo, J.I., J. Jasso, M.A. Reyes, J. Loera-Gallardo, E. Cortez-Mondaca, M. Miranda. 2008. Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Mexico. International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, Florida, December. 289 p.
- Miranda-Salcedo, M. A. y J. I. López-Arroyo. 2010. Fluctuación poblacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) y efectividad de insecticidas para su control en Michoacán. *Entomología Mexicana*. 9:577-582.
- Miranda S. M.A. y J.I. López-Arroyo. 2011. Avances de investigación para el manejo del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Michoacán. En 2° Simposio Nacional sobre Investigación para el manejo del psílido asiático de los cítricos y el Huanglongbing J.I. López-Arroyo & V. González-Lauck (eds). Texcoco Edo México 5 y 6 de diciembre del 2011. 149-155 p.
- Miranda, S. M. A. J.I. López-Arroyo y J. Velázquez-Monreal. 2012. Manejo regional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Michoacán. *Entomología Mexicana* Vol. 11(2): 777-782.
- SENASICA, 2012. Estrategia 2011, para la detección y control del HLB y el psílido asiático de los cítricos en México. www.senasica.gob.mx/default.asp. Julio 2014.
- SIAP, 2012. Servicios de información Agroalimentaria y Pesquera. Información de cultivos. 1980-2010. <http://www.siap.gob.mx>. Julio 2014.



ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) EN LIMÓN PERSA Y LIMONARIA EN QUINTANA ROO, MÉXICO.

Vannesa Virginia Catzim¹, Jaime Gómez-Ruiz², Juan F. Barrera², Gabriela Perez-Lachaud¹. ¹El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, Av. Centenario km 5.5, CP 77014 Chetumal, Quintana Roo; ²El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Tapachula, Carretera Antigua Aeropuerto km 2.5, CP 30700 Tapachula, Chiapas.
vcatzim@ecosur.edu.mx

Resumen: Se identificaron enemigos naturales asociados a *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en parcelas de limón persa, *Citrus latifolia* Tanaka (Sapindales: Rutaceae), y en limonaria, *Murraya paniculata* (L.) Jack (Sapindales: Rutaceae), en zonas rurales y urbanas, respectivamente, de Quintana Roo. En las zonas rurales se muestrearon tres parcelas de limón persa que fueron visitadas cada dos semanas, de enero a agosto de 2014. Se revisaron 10 árboles por parcela, y se colectaron los enemigos naturales que se encontraban forrajeando, infectando o alimentándose de *D. citri*. En cada árbol se colocó, además, una trampa amarilla pegajosa para detectar la presencia de enemigos naturales de *D. citri* reportados en la literatura y se remplazaron cada 14 días. En las zonas urbanas se revisaron en el mes de mayo plantas de limonaria en dos sitios en la ciudad de Chetumal, y se colectaron los enemigos naturales observados. En todos los casos, a los depredadores potenciales que no se observaron alimentándose se les suministraron ninfas y adultos de *D. citri* en el laboratorio para observar la acción de depredación. Asimismo, a los individuos inmaduros colectados se les proporcionaron presas hasta desarrollarse en adultos para su posterior identificación. En todos los sitios se colectaron, además, brotes tiernos infestados con huevos y ninfas de *D. citri* y se colocaron en frascos de plástico cubiertos con organza para detectar la emergencia de posibles parasitoides. Los depredadores identificados incluyen *Ceraeochrysa sp.* (Neuroptera), *Chilocorus sp.*, *Cycloneda sanguinea*, *Olla v-nigrum* (Coleoptera), *Congomantis sp.* (Mantodea) y *Lyssomanes sp.* (Araneae). Se encontró además el parasitoide *Tamarixia radiata* y el hongo entomopatógeno *Isaria sp.* En general, se encontraron más especies de coccinélidos depredadores en limonarias de la ciudad que en las parcelas de limón persa, pero éstas fueron los únicos sitios en donde se registraron neurópteros depredadores.

Palabras clave: Parasitoides, Depredadores, Entomopatógenos, Huanglongbing, Especie invasora



CONSERVANDO INSECTOS FITOFAGOS PARA EL MANEJO DE PLAGAS AGRICOLAS

Hipolito Cortez-Madriral¹, Carlos Alberto Godoy-Ceja¹, Fabián García-González², Adriana Guzmán-Larralde³, Jesús Alberto Acuña-Soto⁴ y Gabriel Otero-Colina⁴. ¹Instituto Politécnico Nacional-CIIDIR-Mich. Justo Sierra # 28, Col. Centro, Jiquilpan, Mich., México. C.P. 59510; ²Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional de Zonas Áridas, domicilio conocido Bermejillo, Dgo. CP. 35230; ³Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada A. Narro, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; ⁴Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, estado de Mexico. CP 56230. hcortezm@ipn.mx

Resumen. Para conocer el potencial de la planta *Asclepias curassavica* en el manejo de plagas, se implementaron muestreos entomológicos semanales durante 2012 en una plantación de limón con (Tratamiento) y sin la inclusión de *A. curassavica* (Testigo) en la región Ciénega de Chapala, Michoacán. Las variables fueron: especies y número de depredadores, fitófagos y parasitoides. En *Asclepias* se identificó el minador *Liriomyza asclepiadis*, los parasitoides *Lysiphlebus testaceipes* y *Trichogramma pretiosum*, los depredadores *Pseudodorus clavatus* y *Oligota* sp. como depredador de *Eotetranychus typhae*. De acuerdo con los resultados, *A. curassavica* favoreció el incremento de enemigos naturales en cítricos; los coccinelidos en el primer semestre y las crisopas y el parasitoide de áfidos *Lysiphlebus testaceipes* durante todo el año. Lo anterior favoreció la reducción de áfidos en cítricos (1.83 Vs 3.42 insectos/3 brotes) durante el segundo semestre, más no las de *D. citri* (2.09 Vs 0.47 insectos/3 brotes). Lo anterior sugiere que la planta *A. curassavica* puede ser un importante componente de los agroecosistemas para la conservación e incremento de enemigos naturales y eventualmente la regulación de importantes plagas agrícolas; sin embargo, el efecto benéfico de la planta dependerá de la especie plaga, el enemigo natural y la época del año.

Palabras clave. *Asclepias*, hospederos alternos, enemigos naturales.

Introducción

El control efectivo de insectos es el que aplica la naturaleza, de modo que el factor más importante para impedir que los insectos inunden el planeta es la guerra destructiva que sostienen entre ellos mismos (Carlson, 1960); esto es, el control biológico, del que tres tipos han sido desarrollados: clásico, por incremento y por conservación. Existe consenso de que el control biológico por conservación es el más importante de los tres tipos de control biológico; sin embargo, también ha sido el menos atendido (Ehler, 1998; Ferro y McNeil, 1998). Dentro de esa estrategia de manejo de plagas, la manipulación de hospederos alternos de enemigos naturales ha sido ampliamente recomendada (Landis *et al.*, 2000).

Si consideramos que del total de especies de insectos alrededor de 5 a 6000 son plagas agrícolas, mientras que cientos de miles son fitófagos no plaga (Van Lenteren, 2007), el potencial del empleo de hospederos alternos en el manejo de plagas es enorme. No obstante, son pocos los estudios desarrollados al respecto (Doutt y Nakata, 1973; Jacas y Urbaneja, 2010). En México la



planta *Asclepias curassavica* L., 1753, es mejor conocida por hospedar a la mariposa monarca *Danaus plexippus* L., 1758 (Lep: Nymphalidae), pero también hospeda otros fitófagos importantes, entre ellos *Aphis nerii* B. de F., 1841 (Hem: Aphididae) (Peña-Martínez *et al.*, 2001; Cervantes-Peredo y Elizalde-Amelco, 2007). También, diversos enemigos naturales han sido identificados para *A. nerii* en *A. curassavica*, por lo que ésta planta ha sido sugerida como importante reservorio de enemigos naturales (Peña-Martínez *et al.*, 2001). Estudios previos documentaron nueve registros de fitófagos y 21 de enemigos naturales asociados a la planta (Cortez-Madrigal y Ceja-Godoy, 2012). En el presente estudio se adiciona información sobre algunas especies y se añaden nuevos registros. Finalmente se analiza el impacto de la planta *A. curassavica* en el manejo de plagas de los cítricos.

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló durante el año 2012 en una plantación (1 ha) de limón persa de tres años de edad, en Emiliano Zapata, Villamar, Mich. Plantas de *A. curassavica* se obtuvieron de la región de estudio y se trasplantaron individualmente a macetas de plástico (17x21 cm) con una mezcla de suelo + Peat most[®]. Un total de 50 plantas fueron distribuidas entre 20 árboles (3 macetas por árbol). Se aplicaron riegos manuales y su frecuencia dependió de la época, de manera que durante lluvias los riegos fueron más esporádicos. Otra sección de la huerta (20 árboles) sin *A. curassavica* se utilizó como testigo. Semanalmente se implementaron muestreos de insectos y ácaros. Para asclepias se revisó visualmente el follaje de 20 plantas al azar; las variables fueron: especies de insectos y ácaros fitófagos, especies de depredadores, parasitoides y porcentaje de áfidos parasitados. Paralelamente, muestreos en árboles de cítricos con (Tratamiento) y sin asclepias (Testigo) fueron también desarrollados. Se revisaron tres brotes/cada uno de los cuatro cardinales del árbol. Las variables consideradas fueron: número y especies de insectos plaga, depredadores (en sus diferentes estados) y parasitoides en 20 árboles para cada sección. En ocasiones se requirió del apoyo de una lupa (5-20X) y un contador manual.

Muestras de especímenes fueron colectados en alcohol al 75% para su posterior identificación. Algunos insectos se mantuvieron en laboratorio hasta la emergencia de adultos o parasitoides. Las especies se identificaron mediante claves dicotómicas y literatura especializada; en algunos casos los especímenes fueron enviados con especialistas para su identificación. El análisis de la información fue mediante estadísticas descriptivas y análisis de varianza.

Resultados y Discusión

Entomofauna en *A. curassavica*. De nueve registros de fitófagos y 21 de enemigos naturales previamente registrados (Cortez-Madrigal y Godoy-Ceja, 2012), se corroboró la identidad del minador *Liriomyza asclepiadis* Spencer (Dip: Agromyzidae), los parasitoides *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hym: Aphidiidae) en áfidos y *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym: Trichogrammatidae) en huevos de *D. plexippus*, los depredadores *Collops nigriceps* Say (Col: Melyridae), *Pseudodorus clavatus* F., 1794 (Dip: Syrphidae) y la especie *Oligota* sp. (Col: Staphylinidae) como nuevo registro; éste último, depredando sobre *Eotetranychus typhae* Tuttle



(Tetranychidae), especie de ácaro endémica de México que solo ha sido colectada en plantas de tule *Typha* sp. (Tuttle *et al.*, 1976). La distribución temporal de los enemigos naturales varío con la época del año y la disponibilidad de presas o huéspedes.

Influencia de *A. curassavica* en la entomofauna de los cítricos. Las principales plagas en limón persa fueron: *Toxoptera aurantii*, *Aphis spiraecola*, *Diapohorina citri* y *Phyllocnistis citrella*, con poblaciones relativamente bajas. Los enemigos naturales predominantes fueron miembros de las familias Chrysopidae y Coccinellidae, donde las primeras fueron más abundantes y frecuentes durante el año. Las especies de coccinelidos fueron: *Cicloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens*, *Scymnus* sp. y *Stethorus* sp.; y en menor número, *Olla v-nigrum*, *Brachiacantha* sp. y larvas de Syrphidae. *Rodolia cardinalis*, depredador de la escama *Icerya purchasi* fue registrada esporádicamente. También se observaron depredadores generalistas de las familias Mantidae y Reduviidae. El parasitoide más abundante fue *Lysiphlebus testaceipes* (Hym: Aphidiidae) en áfidos, *Tamarixia radiata* (Hym: Eulophidae) en *D. citri* y la especie *Ageiniaspis citricola* (Hym: Encyrtidae) en *P. citrella*.

El análisis estadístico de las poblaciones anuales de insectos y por semestre mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Las poblaciones anuales de *D. citri* fueron más abundantes en el tratamiento que en el testigo, mientras que para áfidos y minadores solo se registraron tendencias de menores poblaciones donde se adicionó la planta asclepias. Por su parte, las crisopas fueron más abundantes en cítricos con asclepias, mientras los coccinelidos solo mostraron tendencia de mayor abundancia donde se adicionó la planta (Fig. 1A). Durante el primer semestre (ene-jun) no se registraron diferencias significativas entre tratamientos, quizá debido a la baja incidencia de insectos; sin embargo, la tendencia en minadores y enemigos naturales fue similar a la registrada para el año. La tendencia contraria fue para psilidos y áfidos; es decir, en cítricos con asclepias ocurrió la menor población de psilidos y las más altas de áfidos (Fig. 1B). El segundo semestre (jul-dic) estuvo caracterizado por mayores poblaciones de psilidos y crisopas en cítricos con asclepias y lo contrario ocurrió para áfidos. Los coccinelidos prácticamente no se registraron durante ese periodo (Fig. 1C).

No obstante los bajos niveles poblacionales de plagas, los resultados del estudio muestran evidencias de que la planta *A. curassavica* influyó en la incidencia de las principales especies plaga y sus enemigos naturales en cítricos de la región Ciénega de Chapala, Mich. Al parecer, el impacto de la planta estuvo relacionado con la especie plaga, el enemigo natural y la época del año. Así, el mayor impacto sobre el psilido durante el primer semestre del año coincidió con las mayores poblaciones y diversidad de coccinelidos en asclepias (Cortez-Madrigal y Godoy-Ceja, 2012). El impacto de la presencia de asclepias sobre los áfidos de los cítricos fue más evidente, lo que se atribuye principalmente, a las poblaciones del parasitoide *L. testaceipes* que se mantuvieron e incrementaron durante el año en *A. nerii*, principal fitófago de *A. curassavica*. En España es común establecer la planta *Nerium oleander* en linderos de huertas de naranja. *N. oleander* hospeda al pulgón *A. nerii*, especie inocua a los cítricos, pero importante hospedadora de parasitoides que más tarde impactan en poblaciones de áfidos plaga de los cítricos (Jacas y Urbaneja, 2010).

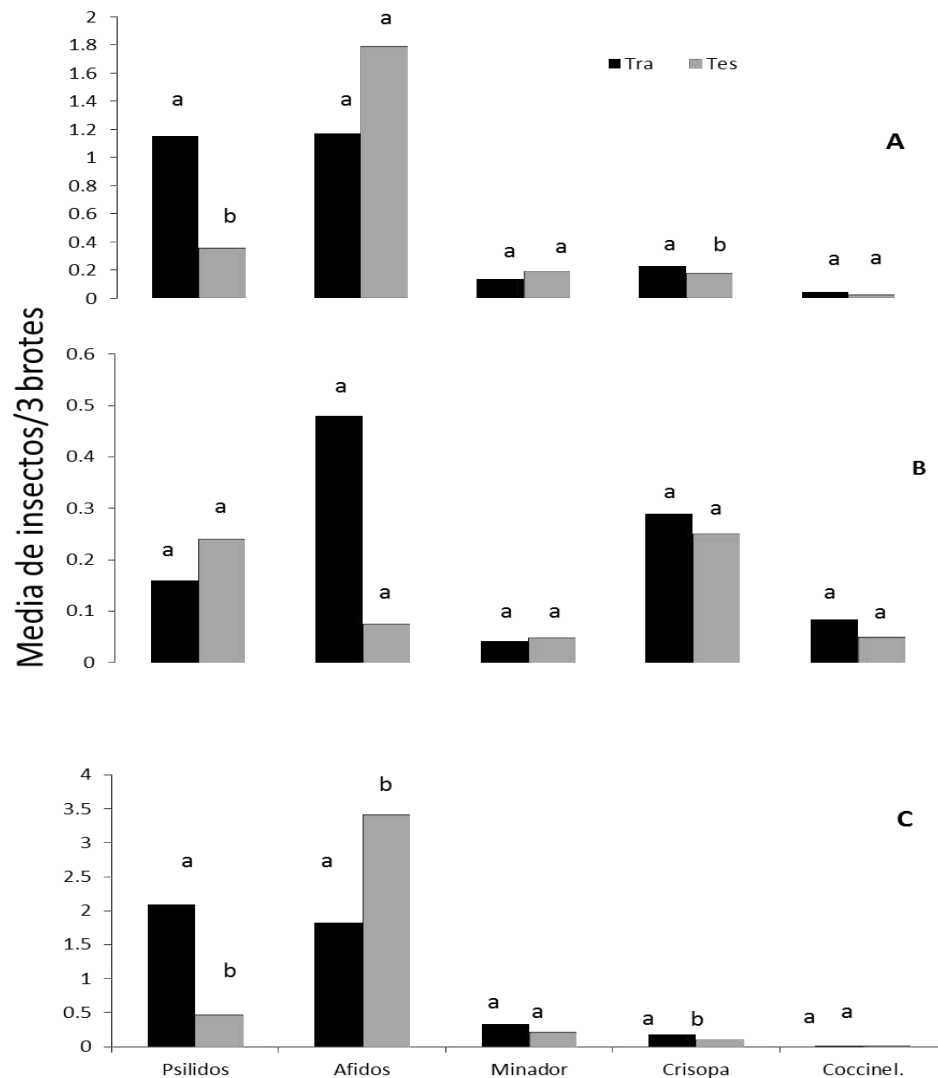


Figura 1. Medias de las principales plagas y sus enemigos naturales en cítricos con (Tra) y sin (Tes) la presencia de la planta *Asclepias curassavica*. A) Año 2012; B) Primer periodo (ene-jun); C) Segundo periodo (jul-dic). Emiliano Zapata, Villamar, Mich. 2012. Pareja de barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

El hecho de que las especies de fitófagos previamente registrados en *A. curassavica* (Cortez-Madrigal y Godoy, 2012) y los aquí descritos, no sean plaga de cultivos (Blackman y Eastop, 1984; Delaney, 2008; Cervantes-Peredo y Elizalde-Amelco, 2007; Tuttle *et al.*, 1976) indica el potencial de la planta para utilizarse como refugio e incremento de enemigos naturales para el manejo de plagas en los agroecosistemas. Además de *A. nerii*, los otros fitófagos registrados como *D. plexippus*, *L. asclepiadis*, *Oncopeltus* sp. y *E. typhae* pueden ser también importantes reservorios de enemigos naturales; *T. pretiosum*, ha sido ampliamente utilizado en producción masiva para el control de lepidópteros plaga (Hoffmann y Frodsham, 1993), mientras que el



ácaro *E. typhae* fue presa de importantes depredadores; entre ellos, el trips de seis puntos *Scolothrips sexmaculatus* (Cortez-Madrigal y Godoy, 2012) y el estafilínido *Oligota* sp. aquí mencionado.

La inclusión de plantas como *A. curassavica* en los cultivos cubriría el importante vacío que existe en cuanto a diversidad biológica de los sistemas agrícolas altamente tecnificados. Otros estudios han documentado la importancia de otras especies de *Asclepias*, pero solo como fuente de néctar para enemigos naturales (Fielder y Landis, 2007). Con el presente estudio se fortalece la idea de que *A. curassavica* puede ser un importante reservorio de enemigos naturales (Peña-Martínez *et al.*, 2001) y se muestran evidencias de su potencial en el manejo de plagas.

A. curassavica es una planta perenne, ampliamente distribuida y fácil de reproducir, lo que facilita su empleo como reservorio de hospederos alternos y fuente de néctar para enemigos naturales. Finalmente, esta estrategia debe ser considerada como parte de un manejo integrado de plagas y no como la panacea del mismo, pues eventualmente se pudiera requerir de otras estrategias de control, tal como lo sugirió la presencia del psilido *D. citri* en limón persa durante el segundo semestre del año.

Agradecimientos. A la Secretaría de Investigación y Postgrado del Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento para la realización del estudio. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca-tesis.

Literatura Citada

- Blackman, R. L. y Eastop V. F. 1984. Aphids on the world's crops. An identification guide. John Wiley & Sons.LTD. London, UK. 466 pp.
- Carson, R. 1960. Primavera silenciosa. Trad. Castellana. Crítica, Barcelona. 370 p.
- Cervantes-Peredo, L. y Elizalde-Amelco, E. 2007. Estados de desarrollo y biología de tres especies de Lygaeinae (Hemiptera-Heteroptera: Lygaeoidea: Lygaeidae). Rev. Mex. Biodiv. 78 (2).
- Cortez-Madrigal, H. y Ceja-Godoy, C. 2012. Conservando hospederos alternos de enemigos naturales: *Asclepias curassavica* como modelo. Pp. 318-321. In: Sansinenea R., E.; Zumaquero R., J.L.; Del Rincón C., M.C. (eds.). In: Memorias del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, Puebla, Méx.
- Delaney, K. J. 2008. Injured and uninjured leaf photosynthetic responses after mechanical injury on *Nerium oleander* leaves, and *Danaus plexippus* herbivory on *Asclepias curassavica* leaves. Plant. Ecol. 199:187-200.
- Doutt, R. L., y J. Nakata. 1973. The Rubus leafhopper and its egg parasitoid: an endemic biotic system useful in grape-pest management. Environmental Entomology 3: 381-386.
- Ehler, L.E. 1998. Conservation biological control. Pp. 1-8. In: Barbosa, P. (Ed.). Conservation biological control. San Diego, CA: Academic Press.
- Ferro, D. N. y McNeil, J. N. 1998. Habitat enhancement and conservation of natural enemies of insects. Pp. 123-132. In: Barbosa, P. (Ed.). Conservation biological control. San Diego, CA: Academic Press.
- Fielder, A.K. y Landis, D.A. 2007. Attractiveness of Michigan native plants to arthropod natural enemies and herbivores. Environ. Entomol. 36(4):751-765.
- Hoffmann, M. P. y Frodsham, A. C. 1993. Natural enemies of vegetable insect pests. Ithaca, NY: Cornell Cooperative Extension. 63 p.
- Jacas, J.A., y A. Urbaneja. 2010. Biological control in citrus in Spain: from classical to conservation biological control. Pp.61-70. In: Ciancio, A. y Mukerji, K.G. (Eds.). Integrated management of arthropod pests and insect borne diseases. Springer, London.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Landis R, D.A. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45, 175–201.
- Peña-Martínez, M. R.; Lomeli, J. R.; Trejo G., L. A.; Villegas J., N. 2001. Monitoreo de áfidos y afidófagos de importancia agrícola. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas- Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 89 p.
- Tuttle, D.M.; Baker, E.W. y Abbatielo, M.J. 1976. Spider mites of Mexico (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology* 2(2):1-102.
- Van Lenteren, J.C. 2007. Internet Book of Biological Control. 4th Edition, www.IOBC-Global.org: Wageningen, The Netherlands.



BIOLOGIA DE *Engytatus modestus* (Distant) (Hemiptera: Miridae) DEPREDADOR GENERALISTA, ¿UNA ALTERNATIVA EN EL CONTROL BIOLÓGICO?

González-Jaime, E.J., Torres-Ruíz, A¹, González-Velazquez, J¹, y Rodríguez-Enríquez, C.L². ¹Laboratorio I+D, Koppert México S.A. DE C.V. Circuito el Marqués Norte No. 82, Parque Industrial El Marqués, El Marqués, Qro. C.P. 76246. egonzalez@koppert.com.mx, atorres@koppert.com.mx, jvelazquez@koppert.com.mx ²Instituto de Ecología A.C. Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores. Carretera antigua a Coatepec 35, Colonia el Haya, Xalapa, Ver. C.P.91070. chrisluoen@gmail.com

Resumen. *Engytatus modestus* (Distant) (Hemiptera: Miridae), conocido también como la chinche del tomate, presenta omnivoría como la mayoría de los míridos de la subfamilia dicyphines. En México está distribuido del centro al norte del país, haciéndolo interesante para su estudio y muy posiblemente para su aplicación. El primer paso para conocer a un posible agente de control es estudiando su biología, por lo tanto nuestro objetivo es conocer sus fases de desarrollo sobre cuatro diferentes dietas que incluyen plagas importantes para el cultivo del tomate. Las dietas estuvieron formadas por: 1) ninfas de psilido del tomate, 2) ninfas de mosquita blanca, 3) dieta comercial (control), 4) sin presa. Se evaluaron los parámetros de: 1) desarrollo ninfal, 2) Longevidad, 3) Fecundidad y 4) fertilidad. En los resultados se encontró que *E. modestus* presenta zoofagia sobre las dos primeras dietas, en las cuales logro completar su ciclo, sin embargo, se observó diferencias significativas en los tiempos de desarrollo y el número de presas consumidas. En el tratamiento 4, sin dieta no lograron desarrollarse, lo cual nos indica que no lograría sobrevivir solamente sobre la planta sin alimento. En conclusión, *Engytatus modestus*, un depredador generalista, tiene dos características básicas importantes, 1) buenos niveles de depredación, y 2) se desarrolla con dietas como la *Ephestia*, lo cual lo hace un buen candidato para una segunda fase de pruebas de semicampo para tener datos más concretos para su aplicación.

Palabras clave: Chinche del tomate, Depredación, Mirido, Mosquita blanca, Psilido.

Introducción

La zoofitofagia es una forma especial de omnivoría en el cual un insecto puede alimentarse al mismo tiempo de plantas e insectos en un mismo estado de desarrollo (Castañe *et al*, 2011). Algunas chinches son ejemplos de estos depredadores son zoofitofagos, o depredadores facultativos los cuales están recibiendo atención en los diferentes programas de control biológico para aprovechar su pontencial como reguladores de plagas potenciales (Coll y Ruberson, 1998). Desde mediados de la década de los 80's en la región mediterránea, se han evaluado los efectos de varias especies de la subfamilia Dicyphine sobre poblaciones de trips, y mosca blanca. En España se han evaluado para el control de *Trialeurodes vaporarorium* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) y debido a su capacidad depredadora de estas plagas, se han incorporado algunas especies de míridos en los programas de Manejo Integrado de Plagas



(MIP) en cultivos protegidos (Arnó *et al*, 2005). En Cánada en el Pacific Agri-Food Research Centre, se ha estudiado la biología de *Dicyphus hesperus* (Knight) con el propósito de desarrollar la información necesaria para su aplicación (Guillespie *et al*, 2001). En Argentina de igual manera se ha estado evaluando la depredación de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) sobre plagas hortícolas (López *et al*, 2012).

En los primeros registros reportados para el género *Engytatus* sp, se enfatiza en la depredación sobre huevos de insectos y específicamente se reportó como depredador de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) (Rosewall y Smith, 1930). Décadas más tardes, uno de los estudios de biología de esta especie, estuvo enfocado en la depredación que potencialmente podía tener sobre *Lyriomiza* spp (Díptera: Agromyzidae) por lo cual se llegó a considerar como un posible depredador benéfico (Parrela y Bethke, 1981).

Las plagas insectiles más importantes en el cultivo de tomate en México están representadas por el complejo de mosca blanca, psilido y trips. Su manejo con insecticidas sintéticos limita su comercialización y aumenta la selección de individuos resistentes (Bautista-Martinez *et al*, 2008), y aunque existe información y programas de control biológico (Stansly *et al*, 2004) con el uso de insectos parasitoides, la información sobre sus depredadores es más limitada. Por lo que se busca conocer y evaluar su capacidad para controlar dos importantes plagas que aquejan y merman de manera importante la producción del tomate en nuestro país, y si es posible considerarlo para que forme parte de un programa de Control Biológico en cultivos protegidos. Por lo tanto en el presente trabajo, evaluamos la biología de *E. modestus* para conocer su capacidad depredadora sobre algunas de estas plagas en condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Para conocer la biología de *E. modestus* nos basamos en las pruebas de desarrollo ninfal, longevidad, fecundidad y fertilidad, evaluando al mismo tiempo dos tipos de presas: ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) y ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae).

Todos los experimentos se llevaron a cabo, en cámara de cría Lumistell ICP-20 en el laboratorio de I+D (Koppert Mexico), en las siguientes condiciones: 25°C, 70% HR, y un fotoperiodo de 16:8 (L:O).

Obtención del Mírido. *Engytatus modestus* utilizado para este proyecto fue facilitado por Koppert México. Los individuos para la cría madre fueron colectados por personal técnico de Koppert, pocos meses antes del experimento sobre plantas de tomate (Datos de colecta: El Kibutz, Apaseo El Grande, Guanajuato, 20°32'39.13"N, 100°34'34.88"W J). Las colonias experimentales se mantuvieron en planta de tomate con huevos de *Ephestia kuehnielli* (como alimento).



Consumo y desarrollo ninfal. El experimento se inició con una cohorte de 200 ninfas recién emergidas. Cada ninfa fue colocada de manera individual en recipientes de 50 ml al cual se le adicionó un disco de hoja de tomate. Se dividieron en cuatro grupos de 50 y a cada grupo se mantuvo en un régimen alimenticio diferente, de la siguiente manera: 1) ninfas de *Bemisia tabaci*. 2) huevecillos de *Ephestia kuehniella* 3) ninfas de *Bactericera cockerelli* 4) no se les ofreció ninguna fuente de alimento (no presa). Se registró el consumo para cada una de las dietas, contando los huevos y ninfas que consumió *E. modestus* en cada prueba. De igual manera se registró el tiempo que tardó el desarrollo en cada una de sus etapas ninfales, hasta llegar a adulto (N1, N2, N3, N4, N5, y ADT). Para identificar el cambio se tomó como referencia la muda que desecha la chinche al cambiar de instar.

Longevidad. Una vez que pasaron a la etapa de adulto (ADT), se seleccionaron 15 hembras y 15 machos (para cada una de las dietas). Se mantuvieron individualmente en un vaso con un disco de hoja de tomate hasta registrar su muerte.

Fecundidad. Se seleccionaron al azar 20 hembras y 20 machos recién emergidos para formar 20 parejas por cada una de las dietas anteriormente mencionadas. Cada una de las parejas se colocan en un foliolo de tomate para que las hembras ovopositaran. Se contabilizaron los huevos que ovoposita la hembra en el foliolo, con apoyo del estereoscopio Leica EZ4. En el momento que murió la hembra terminó el registro para esa pareja, en el caso de que muriera el macho, éste fue sustituido por otro individuo.

Fertilidad y desarrollo de huevo. Del experimento de Fecundidad, se seleccionaron 40 huevos (para cada una de las dietas). Se marcó cada uno de los 40 huevos y se revisaron diariamente hasta que eclosionaron. Se registraron los huevos que eclosionaron. Así como los días que tardaron en eclosionar.

Análisis estadístico

Para el desarrollo ninfal, el análisis de resultados se realizó en el programa estadístico SAS y se utilizó un modelo factorial de dos niveles, donde los niveles son las dietas y los estadios ninfales, y las variables son la depredación y el tiempo de desarrollo. Los análisis para los parámetros de longevidad y fecundidad, se realizaron en el programa estadístico Minitab, con un ANOVA de una vía, con el factor dieta y las variables: consumo promedio de ninfas de la presa y longevidad de los adultos. Cuando se observaron diferencias, se realizó la prueba de comparación múltiple de medias Tukey,

Resultados

Engytatus modestus, su ciclo biológico se compone de huevo, ninfa y adulto. La ninfa tiene 5 instares de desarrollo antes de llegar a ser adulto, el cual es el único que cuenta con alas, las cuales les permiten contar con la capacidad de vuelo. El ciclo completo de huevo a adulto es aprox. de 25 días. (25°C, 70% HR, y un fotoperiodo de 16:8, L:O).



El factor dieta y estado desarrollo presentaron diferencias significativas ($F=131.80$, $P=0.0001$, $gl=3$) ($F= 95.59$, $P=0.000$, $gl= 4$). Con la prueba de comparación múltiple de medias encontramos que para el factor dieta, la número 3 (*B. cockerelli*) fue la mejor (12.92, DMS= 1.75). Para los niveles de estadios de desarrollo encontramos con la prueba de comparación múltiple, que el instar N5 es el que presenta la mayor tasa de depredación en cada una las dietas (15.7, DMS= 2.08).

Longevidad. En este parámetro presenta diferencias significativas tanto para el consumo de presa (machos: $P=0.0001$, $F=37.12$, $gl=3$, hembras: $P=0.0001$, $F=33.82$, $gl=3$) como en el tiempo de sobrevivencia del adulto ($P=0.0001$, $F=9.51$, $gl= 3$, hembras: $P=0.001$, $F=6.97$, $gl=3$). En la prueba de comparación múltiple de medias la dieta 1(*B. tabaci*) fue la más adecuada tanto para el consumo (machos= 192.2, DMS= 18.6, hembras= 236.6, DMS= 23.9) como para el tiempo de sobrevivencia (machos= 57.27, DMS= 8.03, hembras= 58.20, DMS= 8.49), siendo la dieta 4 (no presa) la menos favorable, esta condición tanto para las hembras como para los machos.

Fecundidad. Las dietas presentaron diferencias significativas en el número de huevos ovipositados por cada hembra ($P=0.0001$ $F=9.31$, $gl=3$). En la comparación múltiple de medias la dieta 2= 61.0 (*E. kuehniella*) y 3= 57.1(*B. cockerelli*) (DMS=12.3) fueron con las que se obtuvieron el promedio más alto

Fertilidad. La dieta 1(*B. tabaci*) presenta el mayor porcentaje de eclosión, las dietas 2 y 3 son muy similares en sus porcentajes, y la que menor efectividad tiene es la dieta 4 (ver Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros biológicos, en función de la dieta.

Dietas	Desarrollo ninfal (días)	Desarrollo ninfal (consumo de presa)	Longevidad				Fecundidad	Porcentaje eclosion
			Machos (días)	consumo de presa	Hembras (días)	Consumo de presa		
1) <i>B. tabaci</i>	18,34	42	57,26	192,2	58,2	236,6	32,9	90%
2) <i>E. kuehniella</i>	15,42	49,1	32,26	62,4	32,8	80,6	61,05	75%
3) <i>B. cockerelli</i>	14,86	65	40,33	90,9	42	112,4	57,15	75%
4) No Presa	6,42	0	15,13	0	20,6	0	3,4	62,50%

Discusión.

De acuerdo a los resultados, observamos que *E. modestus*, es un depredador facultativo (Castañe *et al*), y puede completar su ciclo biológico consumiendo solo ninfas de mosquita blanca y psilido, por lo que tiene una fuerte tendencia a complementar su dieta con material animal, y los individuos parecen desarrollarse mas rápido y tienen una mayor supervivencia en presencia de la presa (Frank, W.A. y Slosser J.E., 1996) lo que nos muestra una referencia positiva, como lo demostraron décadas atrás con los huevos y ninfas de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) (Rosewall, y Smith, 1930). De la misma manera nos damos cuenta que su desarrollo



esta determinado por la presa, debido a las diferencias que mostraron entre ellas en el consumo, la longevidad, la fecundidad y el porcentaje de eclosión. En el desarrollo ninfal, nos damos cuenta que el mirido no termina su desarrollo sin alimento, y en las tres dietas disponibles si logra concluirlo, al igual que lo reportado para *Nesidiocoris tenuis* Reuter, (Urbaneja *et al*, 2005) (especie que es considerada en Europa importante para el control de mosquita blanca y tuta absoluta). En contraste *Macrolophus pygmaeus* Rambur, está era capaz de desarrollarse en una variedad de cultivos, sin presa, entre ellos el tomate y con una supervivencia de aproximadamente el 50 % (Perdikis, y Lykouressis, 2002). Al igual que las ninfas de *Dyciphus tamaninii* (Wagner), que sí terminan su desarrollo pero solamente sobre los frutos del tomate (Luca y Alomar, 2002).

La dieta que más consume *E. modestus* en toda esta etapa ninfal, son los huevesillos de *E. kuehniella*, sin embargo en el estadio 5 el análisis nos muestra que hay un mayor consumo del psilido, y hay una mayor capacidad de depredación, lo cual resulta interesante para su manejo, puesto que en esta etapa no muestra un interés específico por el alimento.

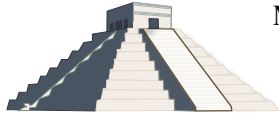
En la parte de longevidad observamos que para esta etapa hay una mayor preferencia por la mosquita blanca, lo cual favorece la depredación y aumenta el promedio de vida del mirido, lo cual coincide con los datos obtenidos para *N. tenuis* (Calvo, J. y Urbaneja, A., 2004). La hembra ejerce una mayor depredación sobre su presa, aumentando el consumo sobre la plaga.

Para la fecundidad dos dietas fueron muy similares (*E. kuehniella* y psilido) en el resultado de la oviposición, aumentando la puesta de huevos sobre el foliolo del tomate, sin embargo es interesante ver que el porcentaje de eclosión aumenta con la dieta de la mosquita blanca.

Con esto podemos decir que el manejo a nivel de laboratorio fue positivo, conocimos una pequeña parte de este grupo de insectos, pero es necesario comentar que solo es el comienzo y sobre todo el primer paso para conocer a un posible agente de control biológico, pero si bien con esto resolvemos las dudas que nos llevaron a nuestros objetivos de conocer a esta especie como un depredador benéfico (Parrela y Bethke, 1981), también nos ha generado otras dudas, que podrán aclararse, pasando al siguiente nivel de pruebas de semicampo y campo en cultivos protegidos.

Literatura citada

- Arnó, J., Gabarra, R. y Albajes, R. 2005. Conservación de miridos depredadores para el control biológico en cultivos de tomate bajo invernadero: historia, éxitos y limitaciones. *Phytoma*, España Núm. 65. Pp. 40-43.
- Bautista, M. N.; Chavarín, C.P. y Valenzuela, E.F. 2008. Jitomate, Tecnología para su producción en invernadero. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Edo. de México.
- Castañe, C., Arnó, J., Gabarra, R., y Alomar, O. 2011. Plant Damage to Vegetable Crops by Zoophytophagus Mirid Predators. *Biological Control* Num. 59. Pp. 22-29
- Frank, W.A. and J.E. Slooser.1996. An illustrate guide to the predaceous insects of the Northern Texas Rolling Plains. The Texas Agricultural Experiment Station pp 10-11



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Gillespie, D., Sánchez, A., McGregor, R., and Quiring, D. 2008. *Dicyphus hesperus* –Life History, Biology and Application in Tomato Greenhouses. Pacific Agri Food Research Centre, Agassiz Agriculture and Agri-Food Canada.
- Lucas, E., Alomar, O. 2002. Impact of *Macrolophus caliginosus* presence on damage production by *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae) on tomato fruits. J Econ Entomol 95:1123-1129
- Parrela, M.P. y Bethke, J. F. 1982. Biological Studies with *Cyrtopeltis modestus* (Hemiptera: Miridae): A facultative predator of *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae). San Diego, CA.
- Perdikis, D., and Lykouressis, P. 2002. Thermal requirement for development of the polyphagous predator *Macrolophus pigmaeus* (Hemiptera: Miridae). Environ Entomol 31:661-667
- Rosewall, O.W., and Smith, C.E. 1930. The predaceous habit of *Cyrtopeltis varians* Dist. J. Econ. Entol. 23:464
- Stansly, P.A., Sánchez, P.A., Rodríguez, J.M., Cañizares, F., Nieto, A., López Leyva, M.J., Fajardo, M., Suarez, V. and Urbaneja, A. 2004. Prospects for Biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) in greenhouse tomatoes of Southern, Spain. Crop Protection Num. 23 pp 701-712.
- Tanada, y and F.G. Holdaway. 1954. Feeding habits of the tomato bug *Cyrtopeltis* (Engytatus) modestus (Distant), with special reference to the feeding lesion on tomato. Haw. Exp. Sta. Tech. Bull. 20-40 pp
- Urbaneja, A., Tapia, G. and Stansly, P. 2005. Influence of host plant and prey availability and developmental time and survivorship of *Nesidiocoris tenuis* (Het: Miridae). Biocontrol Science and Technology, August 2005; 15(5): 513-518



IDENTIFICACIÓN Y DENSIDAD POBLACIONAL DE CRISOPAS EN ALFALFA *Medicago sativa* L. DE LA REGIÓN LAGUNERA DE DURANGO

Manuel Ramírez-Delgado¹ y Fabián García-González². ¹: INIFAP-CELALA, Matamoros, Coahuila; ²: UACH-URUZA, Bermejillo, Durango. E-mail: rdelgado5703@yahoo.com.mx y ramirezd.manuel@inifap.gob.mx; fabiangglez@yahoo.com.

Resumen. La alfalfa, principal especie forrajera a nivel mundial, en México y en la Región Lagunera, es un gran reservorio de una biodiversidad de insectos plaga y benéficos que se deben conocer en cada región productora de este cultivo; un grupo de interés son los depredadores, donde sobresalen las crisopas, que atacan a un buen número de plagas que ocurren en la alfalfa; con el fin de contribuir en este aspecto, los objetivos del presente estudio fueron identificar las especies de crisopas y su densidad poblacional asociadas a alfalfa de la región Lagunera de Durango. Se realizaron muestreos semanales con red entomológica de golpeo, durante el periodo de septiembre de 2011 a marzo de 2012; se efectuaron 100 redadas por fecha de muestreo en un lote de una hectárea de alfalfa, sin aplicaciones de insecticidas. Los resultados muestran que en total, se capturaron 565 crisopas; las especies identificadas fueron *Chrysoperla carnea*, *C. comanche*, *Chrysopa nigricornis*, *Eremochrysa punctinervis* y crisopa café; las mayores densidades de crisopas ocurrieron durante los meses de octubre a diciembre del 2011. *Chrysoperla carnea* fue la especie predominante con el 98.05%, la cual presentó una proporción sexual de hembras y machos de 1:1.

Palabras clave: Chrysopidae, Hemerobiidae, *Chrysoperla carnea*, *C. comanche*, *Chrysopa nigricornis*, *Eremochrysa punctinervis*.

Introducción

La alfalfa es la principal especie forrajera que se cultiva en todo el mundo; en México ocupa una superficie superior a las 250,000 ha; mientras que en la Región Lagunera, que comprende municipios de los estados de Coahuila y Durango, también es el cultivo con mayor superficie con 38,805 ha sembradas para 2013, lo que equivale al 22.5% de la superficie agrícola total en esa región (Anónimo, 2014). Los factores que pueden afectar su calidad y rendimiento, incluyen un inadecuado manejo del agua, fertilización, cosecha y manejo fitosanitario de sus plagas y enfermedades. Dentro de las plagas, se reportan más de 100 especies identificadas en las diferentes regiones forrajeras de Estados Unidos de América, incluyéndose plagas primarias, plagas secundarias o incidentales, e insectos benéficos que actúan como depredadores y parasitoides (Summers, *et al.*, 1985). En los depredadores, sobresalen las crisopas que se alimentan de una gran variedad de artrópodos plaga como: áfidos, cóccidos, mosquitas blancas, trips, ácaros y en general, insectos de cuerpo blando (Canard, 2001); mediante este estudio, se contribuye con información de la densidad poblacional e identificación de las especies de crisopas que ocurren en alfalfa de la región Lagunera del estado de Durango.



Materiales y métodos

Los muestreos se llevaron a cabo en una hectárea de alfalfa perteneciente a la Unidad de Producción 18 de Julio, perteneciente a la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH), en Bermejillo, Durango (23°54' Latitud Norte; 103°37' de longitud Oeste; y 1130 m.s.n.m.). El alfalfar contaba con un año de edad y se encontraba libre de plaguicidas, ya que en él no se realizó tratamiento químico para el control de plagas o enfermedades.

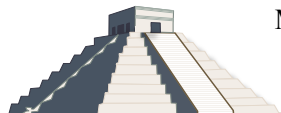
El muestreo se realizó cada semana durante el periodo comprendido del 7 de septiembre de 2011 al 7 de marzo de 2012. Se utilizó red entomológica de golpeo, modificada en la parte final con una bolsa intercambiable para separar cada muestra tomada. Se efectuaron 100 redadas sobre el cultivo, caminando en zigzag a todo lo largo y ancho de la parcela. Al finalizar el muestreo se retiraba la bolsa con los insectos colectados, los cuales se pasaron a una cámara con acetato de etilo para matarlos y posteriormente fueron colocados en un recipiente con alcohol al 70% para su posterior limpieza y revisión en el laboratorio. La información se presenta sumando el número de individuos por especie y por fecha de muestreo, estimándose su Desviación Estándar.

Para la identificación de especies, se utilizaron las claves de Agnew *et al.*, (1981); Brooks (1994); Brooks y Barnard (1990); y Penny *et al.*, (2000).

Resultados y discusión

Durante el periodo de muestreo, se colectaron 565 especímenes, de los cuales, *Chrysoperla carnea* (Stephens), *C. comanche* (Banks), *Chrysopa nigricornis* Burmeister y *Eremochrysa punctinervis* (McLachlan) pertenecen a la familia Chrysopidae (Neuroptera) y de este total, dos ejemplares son crisopas café de la familia Hemerobiidae (Neuroptera). La especie de crisopa predominante fue *C. carnea* con el 98.05%, seguida de *C. nigricornis* con 1.24% y finalmente crisopa café, *C. comanche* y *E. punctinervis* con menos del uno por ciento. La mayor presencia de *C. carnea* en 2011 fue durante la tercera y cuarta semanas de septiembre y octubre, sin embargo, las mayores capturas fueron en la segunda y tercera semanas de noviembre, con 65 y 110 crisopas, respectivamente; cíclicamente la densidad de crisopas se redujo, coincidiendo con los cortes de alfalfa (12 de octubre, 9 de noviembre, 1 y 28 de diciembre). A partir de enero del 2012, la presencia de crisopas se redujo drásticamente a valores menores a cuatro ejemplares, excepto el 22 de febrero en que se colectaron 20 individuos (Cuadro 1). Estos valores coinciden parcialmente con los señalados por Ramírez (1995 y 1996), quien indica que en los meses de noviembre y diciembre de esos dos años, se observaron las mayores densidades, aunque en cantidades menores a las mencionadas en este estudio.

Al analizar la información de *C. carnea*, se puede apreciar en el Cuadro 2, que la presencia de larvas (3.79%) fue menor que la de hembras (46.21%) y machos (50.00%); así también, se asume una proporción sexual de 1:1 en la población nativa de esta especie, lo cual está dentro de los límites señalados para diferentes especies de crisopas por Canard y Principi (1984).



Cuadro 1. Crisopas colectadas en el periodo de muestreo (tamaño de muestra: 100 redadas. DE, Desviación Estándar).

Fecha de muestreo	<i>Chrysoperla carnea</i>	<i>Chrysoperla comanche</i>	<i>Chrysopa nigricornis</i>	<i>Eremochrysa punctinervis</i>	Hemerobiidae (crisopa café)	Suma	DE
7 sept. 11	10	1	0	0	0	11	4.38
14 sept. 11	12	0	0	0	0	12	5.37
21 sept. 11	49	0	0	0	0	49	21.91
28 sept. 11	36	0	0	0	0	36	16.10
5 oct. 11	21	0	0	0	0	21	9.39
12 oct. 11	0	0	0	0	0	0	0
22 oct. 11	37	0	1	0	0	38	16.44
26 oct. 11	68	0	6	0	0	74	29.85
4 nov. 11	26	0	0	0	0	26	11.63
9 nov. 11	8	0	0	0	0	8	3.58
16 nov. 11	65	0	0	0	1	66	28.96
23 nov. 11	110	0	0	0	0	110	49.19
1 dic. 11	9	0	0	0	0	9	4.02
7 dic. 14	23	0	0	0	0	23	10.29
14 dic. 11	26	0	0	0	0	26	11.63
21 dic. 11	15	0	0	0	0	15	6.71
28 dic. 11	0	0	0	0	0	0	0
4 ene. 12	2	0	0	0	0	2	0.8
11 ene. 12	4	0	0	0	0	4	1.79
18 ene. 12	0	0	0	0	0	0	0
25 ene. 12	2	0	0	0	0	2	0.89
1 feb. 12	2	0	0	0	1	3	0.89
8 feb. 12	3	0	0	0	0	3	1.34
15 feb. 12	3	0	0	0	0	3	1.34
22 feb. 12	20	0	0	0	0	20	8.94
29 feb. 12	2	0	0	0	0	2	0.89
7 mar. 12	1	0	0	1	0	2	0.55
Suma (%)	554 (98.05)	1 (0.18)	7 (1.24)	1 (0.18)	2 (0.35)		
DE	26.337	0.192	1.163	0.192	0.267		

Conclusiones

Se colectaron 565 ejemplares de crisopas en alfalfa; las especies identificadas fueron *Chrysoperla carnea*, *C. comanche*, *Chrysopa nigricornis*, *Eremochrysa punctinervis* y crisopa café; la mayor presencia de crisopas ocurrió durante los meses de octubre a diciembre del 2011. *Chrysoperla carnea* fue la especie predominante, con una proporción sexual de hembras y machos de 1:1.

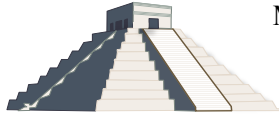
Cuadro 2. Larvas, hembras y machos de *Chrysoperla carnea* colectadas en el periodo de muestreo (tamaño de muestra: 100 redadas. DE, Desviación Estándar).



Fecha de muestreo	Larvas	Hembras (♀)	Machos (♂)	Suma	DE
7 sept. 11	2	1	7	10	3.21
14 sept. 11	0	6	6	12	3.464
21 sept. 11	2	30	17	49	14.01
28 sept. 11	0	21	15	36	10.82
5 oct. 11	5	15	1	21	7.21
12 oct. 11	0	0	0	0	0
22 oct. 11	0	26	11	37	13.05
26 oct. 11	2	18	48	68	23.35
4 nov. 11	0	18	8	26	9.02
9 nov. 11	0	5	3	8	2.52
16 nov. 11	0	23	42	65	21.03
23 nov. 11	0	40	70	110	35.12
1 dic. 11	2	3	4	9	1.00
7 dic. 14	0	10	13	23	6.81
14 dic. 11	0	14	12	26	7.57
21 dic. 11	0	8	7	15	4.36
28 dic. 11	0	0	0	0	0.000
4 ene. 12	0	1	1	2	0.577
11 ene. 12	1	1	2	4	0.577
18 ene. 12	0	0	0	0	0
25 ene. 12	0	1	1	2	0.58
1 feb. 12	1	1	0	2	0.58
8 feb. 12	3	0	0	3	1.73
15 feb. 12	0	1	2	3	1.00
22 feb. 12	2	12	6	20	5.03
29 feb. 12	1	0	1	2	0.58
7 mar. 12	0	1	0	1	0.58
Suma (%)	21 (3.79)	256 (46.21)	277 (50.00)		
DE	1.251	11.047	16.808		

Literatura citada

- Agnew, C.W., W.L. Sterling and D.A. Dean. 1981. Notes on the Chrysopidae and Hemerobiidae of eastern Texas with keys for their identification. Southwestern Entomol. Suppl. N° 4: 1-20.
- Anónimo, 2014. Resumen Económico 2013. Miércoles 1 de enero de 2014. p. 26.
- Brooks, S.J. 1994. A taxonomic review of the common green lacewing genus *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae). Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Ent.) 63 (2): 137-210.
- Brooks, S.J. & P.C. Barnard. 1990. The green lacewing of the world: a generic review (Neuroptera: Chrysopidae). Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Ent.) 59 (2): 117-286.
- Canard, M. 2001. Chapter 6: Natural food and feeding habits of lacewings. pp. 116-129. In: McEwen, P., T.R. New and A.E. Whittington (Eds.). Lacewings in the environment. Cambridge University Press. New York, U.S.A.
- Canard, M. and M.M. Principi. 1984. Life histories and behavior: Development of Chrysopidae pp. 57-75. In: Canard, M., Y. Semeria and T. R. New (Eds.). Biology of Chrysopidae. Series Entomologica Vol. 27. Dr. W. Junk Publishers. Netherlands, The Hague.
- Penny, N.D., C.A. Tauber, and T. De León. 2000. A new species of *Chrysopa* from Western North America with a key to North American species (Neuroptera: Chrysopidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 93 (4): 776-784.
- Ramírez D.M. 1995. Fluctuación de insectos en alfalfa ciclo 1995-1995. Informe de Investigación. INIFAP-CIRNOC-CELALA. Matamoros, Coahuila.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Ramírez D.M. 1996. Fluctuación de insectos en alfalfa ciclo 1995-1995. Informe de Investigación. INIFAP-CIRNOC-CELALA. Matamoros, Coahuila.
- Summers, C.G., W. Barnett, V.E. Burton, A.P. Gutierrez and V.M. Stern. 1985. Insects and other arthropods. *In*: Marble, V.L., *et al.* (Eds.). Integrated pest management for alfalfa hay. University of California, Oakland, California, U.S.A. pp. 42-63.



EFFECTO DEL COLOR DEL FRUTO DE CAFÉ Y TAMAÑO DEL HOSPEDERO EN LA LOCALIZACIÓN Y RECONOCIMIENTO DE LA BROCA DEL CAFÉ POR EL PARASITOIDE *Phymastichus coffea* (EULOPHIDAE: HYMENOPTERA)

Alfredo Castillo¹, Francisco Infante¹, Juan Cisneros¹, Enrique López¹, Francisco J. Valle-Mora¹, Francisco J. Salgueiro² y Fernando E. Vega³. ¹El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Antigua Aeropuerto Km. 2.5, Tapachula, Chiapas, México 30700, acastill@ecosur.mx. ²Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Occidente, Unidad Guasave, Sinaloa. ³Sustainable Perennial Crops Laboratory, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Bldg. 001, Beltsville, MD 20705-2350, USA

Resumen. *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae), es el único endoparásitoide conocido de adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Este parasitoide puede reconocer el color y el tamaño de su hospedero natural, pero muchos aspectos relacionados con estos estímulos son desconocidos. El presente trabajo tiene como objetivos estudiar la adaptación que tiene este parasitoide al color del fruto del café y al tamaño de la broca del café, para demostrar que posee un alto grado de especificidad a su hospedero natural. Dos experimentos fueron realizados usando bioensayos con una sola elección. En el primero se usaron dos modelos experimentales (natural y artificial) para medir el efecto del color del fruto y en el segundo experimento se usó un modelo artificial (una perla de vidrio negra sobre un domo de cera), para analizar el efecto del tamaño del hospedero. En los experimentos se registró el tiempo usado por *P. coffea* para localizar y reconocer al hospedero. Los resultados obtenidos indican que el estímulo visual es factor muy importante utilizado por las hembras de *P. coffea* para localizar y reconocer a su hospedero, ya que fueron atraídas por el simple estímulo físico que representó el modelo artificial. Un hospedero fue localizado más rápidamente cuando fue colocado sobre un fruto rojo y fue más tiempo manipulado cuando el fruto fue amarillo, independientemente si el modelo usado fue natural o artificial. Los hospederos más pequeños tardan más tiempo en ser localizados por *P. coffea*, pero cuando su tamaño es de 2 mm o de mayor diámetro, tardan más tiempo manipulándolo. Estos resultados sugieren que para *P. coffea* el color del fruto y tamaño del hospedero son estímulos claves para localizarlo y reconocerlo, y lo señalan como un agente de control de la broca del café con alta especificidad y con mínimo riesgo de impacto sobre otras especies de escolítidos.

Palabras clave: estímulos físicos, tamaño del hospedero, color del fruto, especificidad.

Introducción

Phymastichus coffea LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae), es el único endoparásitoide hasta ahora conocido de adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), la plaga más importante de fruto de café en el mundo (Le Pelley, 1968). Este endoparásitoide posee gran potencial para usarse como agente regulador de esta plaga porque tiene la capacidad de localizarla en el momento que se introduce al fruto del café. Para localizar a su hospedero natural, las hembras de *P. coffea* emplean estímulos químicos (Chiu-Magaña *et al.*, 2009). Otras especies de enemigos naturales utilizan además señales visuales, auditivas y táctiles para localizar a sus hospederos (Godfray, 1974). Aunque *P. coffea* posee un comportamiento que



parece estar asociado a una compleja mezcla de señales químicas y físicas, las investigaciones que se han realizado sobre los estímulos visuales que usa para localizar a su hospedero son escasos. Los pocos estudios al respecto señalan que *P. coffea* usa el tamaño y color de su hospedero como estímulos para su reconocimiento (Chiu-Magaña *et al.*, 2009). Sin embargo, se desconocen muchos aspectos asociados a la adaptación de este parasitoide durante el proceso de percepción visual de su hospedero natural. Este trabajo tiene como objetivo evaluar el grado de adaptación que poseen las hembras de *P. coffea* al color del fruto de café y al tamaño de las hembras de la broca, en términos del reconocimiento de estos estímulos para localizar y reconocer a su hospedero.

Materiales y Métodos

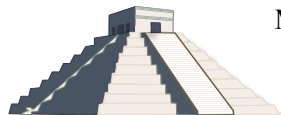
Mediante pruebas de no elección y empleando tubos de vidrio de 15×75 mm como arenas experimentales se realizaron dos tipos de experimentos, bajo las mismas condiciones de temperatura (27 ± 2 °C), humedad relativa (70 ± 5 %) e intensidad de luz (712 lx), registrándose el tiempo que una hembra del parasitoide uso para localizar al hospedero y manipularlo. Los parasitoides, hospederos y los modelos artificiales fueron usados solo una vez en todos los bioensayos.

Efecto del color del fruto. Se realizaron dos tipos de bioensayos bajo condiciones de laboratorio para evaluar el efecto del color del fruto para localizar y reconocer a su hospedero. En estos ensayos se le ofreció a una hembra de *P. coffea* una broca barrenando un fruto cortado por la mitad. Este bioensayo fue repetido 50 veces para cada estado de madurez del fruto de café (verde, sazón y maduro). Un segundo grupo de bioensayos fue repetido bajo las mismas condiciones anteriores, sustituyendo al modelo natural por un modelo artificial constituido por una esfera de vidrio de color negro (diámetro: 2 mm) en lugar de la broca, colocada sobre un domo de cera pintado de verde, amarillo o rojo, simulando una cereza de café partida por la mitad.

Efecto del tamaño del hospedero. En este experimento un solo tipo de bioensayo fue usado para conocer las preferencias de hembras de *P. coffea* respecto al tamaño de su hospedero. Este fue realizado confinando a una hembra de *P. coffea* recién emergida junto con un modelo artificial constituido por una esfera de vidrio de color negro, colocada sobre un domo de cera color amarillo. Se observó simultáneamente el comportamiento de diez hembras del parasitoide, lo que se repitió cinco veces con una perla del mismo tamaño. Los tamaños de perla que fueron evaluados fueron 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mm de diámetro. Los datos transformados ($\log X$) fueron analizados mediante un análisis de varianza y una prueba Tukey para comparar medias.

Resultados y discusión

Efecto del color del fruto. La actividad que exhibe *P. coffea* sobre el modelo natural y artificial es muy similar; independientemente del color del fruto. En todos los casos hubo una respuesta del parasitoide, lo cual sugiere que *P. coffea* utiliza de manera importante estímulos físicos para localizar a su hospedero. El color amarillo de un fruto influye significativamente sobre la



actividad de *P. coffea*, aumentando el tiempo de manipulación en ambos modelos ($F=6.4$; $g.l.=2$; $P=0.003$) y reduciendo su tiempo de búsqueda en el modelo natural ($F=10.3$; $g.l.=2$; $P<0.001$). Es posible que el color amarillo provoque una mayor actividad en *P. coffea* para manipular a su hospedero por el contraste de color generado entre el hospedero y el fruto, aunque también podría serlo como un estímulo físico de largo alcance. El contraste de color, generado por la esfera negra sobre el modelo artificial verde y amarillo, podría haber jugado un papel importante para reducir el tiempo de localización del hospedero. Sin embargo, el color rojo fue el tratamiento que generó menor tiempo de localización en ambos modelos. No se podría asumir que la localización del modelo color rojo fue influenciado por el olor del hospedero y/o fruto, ya que el menor tiempo de localización ocurrió en ambos modelos (natural y artificial), indicando la importancia del papel del estímulo físico. Por otra parte, *P. coffea* tarda más tiempo manipulando una broca real en comparación con una esfera de cristal negra, independientemente del color del fruto. Esto sugiere que de cualquier forma, un hospedero real posee estímulos que reducen el tiempo de localización y aumentan el tiempo de manipulación por *P. coffea*, de forma que este tipo de comportamientos pueden estar mediados por una mezcla de estímulos físicos y olfativos.

Cuadro 1. Tiempo promedio (min) empleado por hembras de *Phymastichus coffea* para el primer contacto y la manipulación de huésped realizado sobre dos distintos modelos ofrecidos como hospedero.

Estado de madurez del fruto y color del modelo	Variable			
	Tiempo del primer contacto (\pm E.E.)		Tiempo de manipulación (\pm E.E.)	
	Modelo natural (Una broca sobre un fruto de café)	Modelo artificial (Una perla de vidrio negra sobre domo de cera)	Modelo natural (Una broca sobre un fruto de café)	Modelo artificial (Una perla de vidrio negra sobre domo de cera)
Verde	21.9 \pm 4.0 b	9.7 \pm 3.3 a	4.7 \pm 1.2 a	0.4 \pm 0.1 b
Amarillo	9.1 \pm 2.3 a	20.9 \pm 0.1 b	6.4 \pm 1.1 a	3.4 \pm 0.0 a
Rojo	11.6 \pm 2.0 a	13.2 \pm 8.9 a	2.4 \pm 0.7 b	0.6 \pm 0.5 b

* Valores en una columna con diferente letra son significativamente diferentes.

Efecto del tamaño del hospedero. La actividad de las hembras de *P. coffea* sobre las esferas de diámetro menor a 1 mm es reducida. Esta actividad se incrementa en los diámetros mayores a 2 mm. *P. coffea* requiere menos tiempo para manipular a su hospedero cuando su tamaño es de 3 mm o menos, y este tiempo es más alto cuando el tamaño del hospedero es de 4 mm o más ($F=2.4$; $g.l.=8$; $P=0.03$). *P. coffea* tarda hasta 33 min en localizar a su hospedero cuando su tamaño es menor a 1 mm, mientras que este tiempo se reduce a menos de 20 min cuando el tamaño del hospedero es mayor a 2 mm. Una perla de 0.6 mm tarda significativamente más tiempo en ser localizada que otros tamaños ($F=14.6$; $g.l.=8$; $P<0.001$). Estos resultados sugieren que una hembra de *P. coffea* tiene una adaptación muy fuerte hacia los hospederos con un tamaño de 2 mm, justamente el tamaño que posee una broca hembra adulta (Tabla 2).



Tabla 2. Número promedio de esferas de vidrio negras de diferentes tamaños contactadas por hembras de *Phymastichus coffea* y tiempo promedio (min) empleado para contactarlas y manipularlas.

Tamaño de la esfera (mm)	Variable		
	Frecuencia de contactos/hembra (± E.E.)	Tiempo del primer contacto (± E.E.)	Tiempo de manipulación (± E.E.)
0.4	1.4 ± 0.22	27.03 ± 3.29 ab	0.1 ± 0.03 b
0.6	1.4 ± 0.24	33.9 ± 3.77 b	0.1 ± 0.02 b
0.8	1.3 ± 0.17	23.2 ± 4.39 ab	0.4 ± 0.13 b
1.0	2.4 ± 0.38	21.7 ± 4.05 ab	0.2 ± 0.05 b
2.0	3.1 ± 0.23	19.2 ± 2.49 ab	0.6 ± 0.18 b
3.0	3.5 ± 0.24	15.6 ± 2.32 ab	0.4 ± 0.10 b
4.0	2.7 ± 0.18	16.1 ± 2.32 ab	4.5 ± 0.84 a
5.0	2.2 ± 0.28	13.7 ± 3.78 a	4.4 ± 2.34 a
6.0	1.9 ± 0.16	18.6 ± 2.63 ab	5.7 ± 1.74 a

* Valores en una columna con diferente letra son significativamente diferentes.

Conclusión

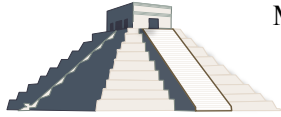
Estos resultados indican que *P. coffea* tiene una fuerte adaptación a un estímulo físico que simula a una hembra de *H. hampei* barrenado un fruto de café. El tamaño del hospedero y el color del fruto juegan un papel muy importante en esta adaptación, como estímulos clave para localizar y reconocer a la broca. Este tipo de adaptación indica que *P. coffea* posee una alta especificidad al sistema broca-café y que el riesgo que representa su introducción sobre los escolitidos, que forman parte de la diversidad presente en los cafetales de México, es mínimo cuando este enemigo natural ha sido liberado en agroecosistema con fines de control.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado a través del financiamiento del Departamento de Agricultura de los EE UU como parte del proyecto “Nematodes as biological control agents of the Coffee Berry Borer in México”.

Referencias

- Chiu Magaña, M., A. Castillo, J. C. Rojas. 2009. Estímulos usados en el reconocimiento del hospedero por *Phymastichus coffea*, un parasitoide de la broca del café. *Agrociencia*. 43(4): 393-401.
- Le Pelley, R. H., 1968. *Pests of coffee*. Longmans Green and Co., London, England.
- Godfray, H.C.J., 1994. *Parasitoids: Behavioural and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton, NJ.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ENTOMÓFAGOS



EFECTOS CAUSADOS POR TRES INSECTIDAS CUANDO SE APLICAN SOBRE EL ESTADO DE HUEVO DEL PARASITOIDE *Tamarixia triozae* (BURKS) (HYMENOPTERA: EULOHIDAE)

Sinue I. Morales-Alonso¹, Ana M. Martínez-Castillo¹, José I. Figueroa-de la Rosa¹, Juan M. Chavarrieta-Yáñez¹, Ruy Ortiz-Rodríguez², Fernando Tamayo-Mejía³ y Samuel Pineda-Guillermo¹. ¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapécuaro. 58880 Tarímbaro, Michoacán, México. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Av. Acueducto Esq. Tzintzuntzan Col. Matamoros 58130 Morelia, Michoacán, México. ³Centro de Sanidad Vegetal de Guanajuato. Vicente Rodríguez S/N Frac. La Paz, Irapuato, Guanajuato, México. moralesalonso88@gmail.com, spineda_us@yahoo.com

Resumen: Se evaluaron los efectos letales causados por tres concentraciones de los insecticidas EPA (un aceite de soya), imidacloprid (un neonicotinoide) y abamectina (un derivado natural) sobre ninfas de cuarto instar, tratadas por inmersión, del psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulcs) (Hemiptera: Triozidae) parasitadas con el estado de huevo del parasitoide *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae). EPA, imidacloprid y abamectina causaron entre 2.51 a 10%, 2.15 a 3.54% y 7.36 a 100% de mortalidad de las ninfas de *B. cockerelli*, respectivamente. EPA e imidacloprid causaron entre 26.20 a 61.53% y 1 a 12.37% de mortalidad del huevo de *T. triozae*, respectivamente, mientras que la concentración más baja de abamectina (.03 mg) causó 6%. Imidacloprid y abamectina causaron entre 3.54 a 25% y 39% en las larvas derivadas de los huevos del parasitoide, respectivamente, y en la pupa fue $\leq 2\%$ para los tres insecticidas. En los tratamientos con EPA e imidacloprid se obtuvo una emergencia de adultos del parasitoide entre -30% y 71%, mientras que en la concentración más baja de abamectina sólo fue de 9%.

Palabras claves: Ectoparasitoide sinovigénico, EPA, imidacloprid, abamectina, *Bactericera cockerelli*.

Introducción

El psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) se considera una de las plagas principales en cultivos hortícolas debido a la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Nachappa *et al.* 2014), agente causal de la enfermedad zebra chip en papa (Liefting *et al.* 2009). En México, el ectoparasitoide sinovigénico *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) se reportó por primera vez en poblaciones de *B. cockerelli* en un cultivo de tomate en el municipio de Jacona de Plancarte en el estado de Michoacán (Lomelí-Flores y Bueno 2002). Este parasitoide causó hasta 80% de parasitismo en ninfas de *B. cockerelli* en cultivos de chile pimiento (*Capsicum annum* L., 1753) libres de aplicaciones de insecticidas químicos, en el valle de Oaxaca (Bravo y López 2007). *Tamarixia triozae* puede ser una alternativa de control de *B. cockerelli*, pero antes de incluirlo en programas de manejo integrado de plagas (MIP) es necesario determinar su compatibilidad con los insecticidas químicos utilizados para el control de esta plaga. En este estudio se determinaron los efectos causados por los insecticidas EPA 90, imidacloprid y abamectina cuando se aplicaron sobre ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas con el estado de huevo de *T. triozae*.



Materiales y Métodos

Los individuos de *B. cockerelli* utilizados provinieron de una colonia mantenida sobre plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L., 1753) en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en Tarímbaro, Michoacán, México. La colonia del parasitoide *T. triozae* se mantuvo sobre las ninfas de tercero, cuarto y quinto instar de *B. cockerelli*.

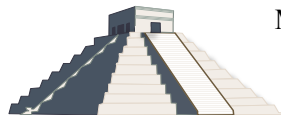
Insecticidas

Se utilizaron los productos Abakrone[®] (1.8% abamectin, emulsión concentrada), Imidakrone[®] (30.2% imidacloprid, suspensión concentrada) y EPA 90[®] (90% aceite de soya, emulsión concentrada). Estos insecticidas fueron obtenidos de la empresa BioKrone, Celaya, Guanajuato, México.

Efectos letales

Manualmente se infestaron folíolos de tomate con 15 ninfas de cuarto instar (≤ 48 h después de la ecdisis) de *B. cockerelli*. Estos folíolos se introdujeron, junto con 10 hembras de *T. triozae*, en un cilindro de plástico abierto en su parte superior, para su parasitación durante 6 h. Para evitar la deshidratación, los folíolos de tomate se colocaron en vasos de plástico con 28 ml de solución nutritiva (Hogland y Arnon 1950). Los cilindros se cubrieron con tela de organza para permitir la ventilación y evitar el escape de los insectos. Después del tiempo de parasitación, todas las ninfas de *B. cockerelli* se examinaron utilizando un microscopio estereoscópico (Modelo Leica EZA, 40X). Las ninfas que no fueron parasitadas se removieron con un pincel de cerdas finas.

Los folíolos de tomate con las ninfas parasitadas con el estado de huevo (≤ 24 h de edad) de *T. triozae* se sumergieron durante 5 s en tres diferentes concentraciones de abamectina (9, 4.5 y .03 mg de ingrediente activo [i.a.]/L), imidacloprid (260, 130 y 3 mg i.a./L) y EPA (1620, 810 y 443 mg i.a./L). Estas concentraciones corresponden a la concentración mínima recomendada en campo (CMiRC), la mitad de la CMiRC y la concentración letal media (CL₅₀) para ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* determinada por Bujanos *et al.* (2005), respectivamente. Para ayudar a la deposición de los insecticidas, éstos se disolvieron en agua destilada más el adherente-dispersante Tween 20 al 0.01%. Las aplicaciones de los insecticidas se realizaron 2 h después de verificar que todas las ninfas de *B. cockerelli* estuvieran parasitadas. Se realizaron seis repeticiones por cada concentración e insecticida. Una repetición se conformó de 10 ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas con el estado de huevo de *T. triozae*. Los individuos del testigo se trataron solamente con agua destilada más Tween 20 al 0.01%. Los folíolos tratados se dejaron secar a temperatura ambiente por 2 h. Cada folíolo, de cada tratamiento, se colocó individualmente en una caja de plástico (14 x 14 x 14 cm) en condiciones de laboratorio (~25 °C, HR de 56% y fotoperiodo de 12:12 h luz-oscuridad). Se registró la mortalidad del hospedero (ninfa de cuarto instar de *B. cockerelli*), mortalidad del huevo del parasitoide, mortalidad de larvas y pupas provenientes de los huevos tratados y emergencia del adulto parasitoide.



Resultados y Discusiones

EPA, imidacloprid y abamectina causaron una mortalidad significativa ($F = 15.73$, $gl = 41,175$; $P = 0.0001$) en ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas con el estado de huevo del parasitoide *T. triozae* (Cuadro 1). La mortalidad estuvo comprendida entre 2.51 a 10%, 2.15 a 3.54% y 7.36 a 100% para EPA, imidacloprid y abamectina, respectivamente. Luna *et al.* (2011) y Cerna *et al.* (2012) registraron una mortalidad de 100% para abamectina en ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* y para imidacloprid, reportado por estos mismos autores una mortalidad de un 28% y de un 26 a 56% respectivamente. Los productos comerciales Saf-TSide[®] y Un-Film[®] que contienen aceites minerales, causaron una mortalidad de 30% en ninfas de la mosca blanca,

Bemisia spp. (Hemiptera: Aleyrodidae) (González *et al.* 2006). De igual forma, en ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) Saf-T-Side[®] causó una mortalidad entre 33 a 72% (Martínez-Fernández *et al.* 2009).

La mortalidad en la concentración más baja (443 mg) de EPA y más alta imidacloprid (260 mg), así como las tres concentraciones de abamectina fueron diferentes con respecto a la observada en el testigo que fue 0%.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad (\pm EE) causada por tres insecticidas sobre el cuarto instar de *B. cockerelli* y los diferentes estados de vida del parasitoide *T. triozae*

Medias dentro de columnas (letras mayúsculas) seguidas con la misma letra no difieren significativamente ($P > 0.01$).

Los compuestos EPA e imidacloprid causaron entre 26.20 a 61.53% y 1 a 12.37%, de mortalidad en el estado de huevo de *T. triozae*, respectivamente (Cuadro 1). La concentración más baja de abamectina causó 6%. Caudillo 2010, reportó que abamectina, aplicado por aspersión, sobre ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli* parasitadas con el huevo de *T. triozae* colocado en la parte externa-ventral del hospedero, en hojas de chile pimiento causó entre 94 a 99% de mortalidad. En

Tratamiento	Concentración (mg de i.a./L)	Tratamiento de <i>Tamarixia triozae</i> en huevo				
		<i>B. cockerelli</i>	Huevo	Larva	Pupa	Emergencia
Testigo	0	0 \pm 1.59A	0 \pm 1.48A	0 \pm 1.52A	0 \pm 1.46A	100 \pm 1.18A
EPA	443	10 \pm 1.59B	26.20 \pm 1.74B	0 \pm 1.81AC	0 \pm 1.70A	63.16 \pm 1.27C
	810	3.10 \pm 1.59AB	36.34 \pm 1.74B	0 \pm 1.81AC	0 \pm 1.70A	50.13 \pm 1.27C
	1620	2.51 \pm 1.59AB	61.53 \pm 1.53B	1.97 \pm 1.58AC	0 \pm 1.51A	27.66 \pm 1.20B
	Imidacloprid	3	2.15 \pm 1.59AB	12.37 \pm 1.48C	3.54 \pm 1.52BC	0 \pm 1.46A
Abamectin	130	2.41 \pm 1.59AB	6.25 \pm 1.48C	7.51 \pm 1.52B	1.46 \pm 1.46A	64.80 \pm 1.18C
	260	3.54 \pm 1.59B	1 \pm 1.48A	24.92 \pm 1.52D	1.46 \pm 1.46A	61.92 \pm 1.18BC
	9	7.36 \pm 1.59B	5.74 \pm 1.48C	39.46 \pm 1.52D	1.76 \pm 1.46A	9.02 \pm 1.18D
Abamectin	4.5	100 \pm 1.59C	--	--	--	--
	9	100 \pm 1.59C	--	--	--	--



tratamientos por aspersión, el compuesto abamectina causó 100% de mortalidad del estado de huevo del parasitoide *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) cuando se encontraban dentro de los huevos de la palomilla de los cereales, *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Hussain *et al.* 2010). La mortalidad del huevo de *T. triozae* causada por imidacloprid en el presente estudio es baja, comparada con lo reportado (43 a 98%) por Caudillo (2010). Con respecto a otros insectos benéficos, como el parasitoide *T. chilonis*, imidacloprid causó una mortalidad entre 33% y 38% en el estado de huevo que se encontraba en huevos de *S. cerealella* (Hussain *et al.* 2010, 2012). De los tres insecticidas ensayados, EPA fue el que causó la mayor mortalidad del huevo de *T. triozae*, lo que coincide con lo reportado por Caudillo (2010), quien reportó entre 10 a 60%. La mortalidad causada por las tres concentraciones de EPA e imidacloprid en el huevo del parasitoide fue diferente con lo observado en el testigo (0%), con excepción de la concentración más alta de imidacloprid (260 mg) donde la mortalidad fue de 1% (Cuadro 1). Se registró, un efecto residual de imidacloprid y abamectin, pero no por EPA cuando las ninfas de *B. cockerelli*, parasitadas con el estado de huevo de *T. triozae* se trataron con los tres compuestos. Imidacloprid causó una mortalidad entre 3.54 a 26% de las larvas de *T. triozae* provenientes de los huevos tratados del parasitoide, mientras que la mortalidad en la concentración más baja (0.03 mg) de abamectina fue de 39%. En pupas provenientes de los huevos tratados del parasitoide no existió mortalidad significativa, ya que se registró $\leq 2\%$ para los tres compuestos (Cuadro 1). La emergencia de los adultos del parasitoide *T. triozae* proveniente de los huevos tratados fue afectada drásticamente. En EPA e imidacloprid se registró menos del 65% de emergencia; excepto en la concentración más baja de imidacloprid (71%). En la concentración más baja de abamectina se registró menos del 10% de emergencia de adultos del parasitoide. Todos los valores de emergencia causados por los tres insecticidas ensayados fueron significativamente diferentes de lo observado en el testigo (100%) (Cuadro 1).

Conclusiones

El uso de EPA, imidacloprid y abamectina, en combinación con el estado de huevo del parasitoide *T. triozae*, bajo un esquema de MIP debe evaluarse bajo condiciones de campo e invernadero.

Agradecimientos

Al CONACyT por la beca otorgada a Sinue I. Morales Alonso. Esta investigación fue financiada por la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Al PIFI 2012-2013 de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Literatura Citada

- Bravo, M. E. y López, L. P. 2007. Principales plagas del chile de agua en los valles centrales de Oaxaca. *Agroproduce*. Disponible en <http://www.oeidrus-oaxaca.gob.mx/produce/abril07/contenido.pdf>.
- Bujanos, M. R., Tiznado, J. A. G., Jarrillo, A. M. 2005. Manejo integrado del pulgón saltador *Bactericera* (= *Paratrioza*) *cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) en los cultivos de solanáceas en México. Segunda Convención Mundial de Chile. Zacatecas, Zacatecas, México. 14-16 de agosto del 2005. pp. 93-98.



- Caudillo, R. K. B. 2010. Descripción morfológica, biología y susceptibilidad de *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae), a diferentes insecticidas. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
- Cerna, E., Ail, C., Landeros J., Sánchez S., Badii M., Aguirre L., Ochoa Y. 2012. Comparación de la toxicidad y selectividad de insecticidas para la plaga *Bactericera cockerelli* y su depredador *Chrysoperla carnea*. *Agrociencia* 46: 783-793.
- González, A. A., Nuñez, E. M. del P., Galván, P. B., González, C. A., González, C. J. C. 2006. Extractos vegetales y aceites minerales como alternativa de control de mosca blanca (*Bemisia* spp.) en berenjena (*Solanum melongena*) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista UDO Agrícola* 1:84-91.
- Hogland, D. y Arnon, R. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Circular. California. *Agricultura*???. *Experiment Station* Vol. 347.
- Hussain, D., Akram, M., Iqbal, Z., Ali, A., Saleem, M. 2010. Effect of some insecticides on *Trichogramma chilonis* (Ishii). (Tricogrammatidae: Hymenoptera) immature and adult survival. *Journal Agriculture Research* 4: 531-537.
- Hussain, D., Ail, A., Mushtaq-Ul-Hassan, M., Ail, S., Saleem, M., Nadeem, S. 2012. Evaluation of toxicity of some new insecticides against egg parasitoid *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal Zoology* 4: 1123-1127.
- Liefting, L. W., Southerland, P. W., Ward, L. I., Paice, K. L., Weir, B. S., Clover G. R. G. 2009. A new "*Candidatus Liberibacter*" species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93: 208-214.
- Lomelí-Flores, J. R. y Bueno P. R. 2002. Nuevo registro de *Tamarixia triozae* (Burks) parasitoide del psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae) en México. *Folia Entomológica Mexicana* 41: 375-376.
- Luna-Cruz, A., Refugio, L. F., Rodríguez, L. E., Ortega, A. L. D., Huerta, P. A. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zoológica Mexicana (n. s.)* 27: 509-526.
- Martínez-Fernández, E., García-Montalvo, C., Martínez-Jaime, P., Alvear-Gacia, A. 2009. Efecto de algunos productos sobre las ninfas de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) en plantas de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzch). *Investigación Agropecuaria* 2:22-232.
- Nachappa, P., Levy, J., Pierson, E., Tamborindéguy, C. 2014. Correlation between "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" infection levels and fecundity in its psyllid vector. *Journal of Invertebrate Pathology* 115: 55-61.



ANÁLISIS DE LA TOXICIDAD DE INSECTICIDAS BOTÁNICOS EN HIMENÓPTEROS PARASITOIDES: UN META-ANÁLISIS PRELIMINAR

Raúl José Monsreal-Ceballos, Esaú Ruíz-Sánchez, Horacio Salomón Ballina-Gómez, Alejandra González-Moreno, Arturo Reyes-Ramírez, Instituto Tecnológico de Conkal, C.P. 97345, Yucatán, México. Tel 01 (999) 12-41-30. raulmonsreal@hotmail.com

Resumen. Se realizó un meta-análisis sobre el efecto de insecticidas botánicos en la mortalidad de parasitoides con el objetivo de conocer el impacto de estos productos en agentes de control biológico. Para obtener los estudios se utilizaron las bases de datos electrónicas Academic google, Springer, Wiley Online Library, BioOne, Elsevier, Cambridge Univ Press, Taylor & Francis, Cabdirect.org, SciELO e Ingenta Connect usando las palabras claves en inglés y español: "plant extracts", "parasitoid", "toxicological effects", "toxicity, mortality", "action insecticides" y los estudios ubicados en la referencia de cada artículo. Los criterios de inclusión de estudios fueron: a) que evaluaran la toxicidad de insecticidas botánicos, b) en himenópteros parasitoides, c) que se haya hecho bajo condiciones de laboratorio, y d) que midieran la mortalidad de adultos. Un total de 10 artículos entre los años 2003-2013 fueron seleccionados. Se extrajeron los valores medios, desviaciones estándar y tamaños de muestra de grupos testigo y tratamientos. La variable analizada fue la mortalidad de adultos. El análisis de los datos se realizó mediante Meta Win 2.1, calculando el efecto del tamaño (E_{++}) entre los grupos testigo y tratamientos con el modelo de efectos mixtos. Para la evaluar la homogeneidad de grupos categóricos (insecticidas botánicos) con respecto al tamaño de efecto, se calculó la heterogeneidad entre grupos (Q_B) y la significancia de estos se estimó usando distribución de χ^2 . Los resultados indicaron que la mayoría de los insecticidas botánicos casaron mortalidad de parasitoides ($E_{++}=1.874$, 95% IC: 1.3641-2.5929). La heterogeneidad entre estudios indica que los efectos entre los diferentes insecticidas son significativamente diferentes ($Q_B= 2176.7914$, $P < 0.05$). La mayor magnitud de efecto en la mortalidad se obtuvo con el aceite de semilla de *Jatropha curcas*, Rotenone 6.6 y Neemix 4.5. Los productos vegetales de *Origanum vulgare*, *Tephrosia vogelii* y Requiem 25EC no tuvieron efectos negativos en himenoptera parasitoide.

Palabras clave. Insecticidas Botánicos, Toxicidad, Himenópteros parasitoides, Meta-análisis.

Agradecimientos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría otorgada a Raúl José Monsreal Ceballos.



MANEJO INTEGRADO DE *Paraleyrodes* sp. pos. *bondari* (Hemíptera: Aleyrodidae) EN AGUACATE

Edgar Herney Varón-Devia; Luis Sigifredo Caicedo-Riascos; Karen Suarez-Gutierrez; Mildred Mayorga-Cobos. CORPOICA CI Nataima. Km.9 vía Espinal-Ibagué (Tolima-Colombia). +57 3152630117. evaron@corpoica.org.co; lcaicedo@hotmail.com; kl.suarez7@hotmail.com; mjmayorgac@unal.edu.co.

Resumen. Se establecieron dos parcelas con manejos contrastantes de mosca blanca (*Paraleyrodes* sp. pos. *bondari*), en cada una de tres fincas de aguacate de Fresno (Tolima), con diferentes niveles de infestación. El primero es un manejo integrado que consiste en el monitoreo del insecto, la utilización del entomopatógeno *Lecanicillium lecanii*, en focos donde el umbral sobrepase el 35% de infestación, el uso de insecticidas cuando la población sobrepase ese umbral en toda la plantación y la inoculación de parasitoides nativos. El segundo es el manejo convencional que incluye el monitoreo y cada una de las labores que lleve a cabo el agricultor para controlar el insecto. El porcentaje de infestación promedio de mosca blanca, para las tres fincas en el mes de Julio de 2014 fue inferior con el manejo integrado comparado con el manejo convencional. En las fincas con niveles de infestación alto y medio, ha habido mayor número de aplicaciones de insecticidas en la parcela con manejo integrado que en la parcela con manejo convencional. El porcentaje de parasitoidismo ha sido mayor en el manejo convencional, y la depredación lo ha sido en el manejo integrado. Especímenes del género *Eretmocerus* han sido encontrados en los tres niveles de infestación.

Palabras claves: Parasitoidismo, entomopatógeno, umbral de acción; mosca blanca; insecticidas.

Introducción

La especie de mosca blanca *Paraleyrodes* Quaintance. pos. *bondari*. está afectando cultivos de aguacate en el municipio de Fresno (Tolima-Colombia), el municipio de mayor área sembrada en Colombia. La afección consiste en daño indirecto y directo. El daño directo es causado por la alimentación de los estados inmaduros de las láminas foliares y el daño indirecto por la aparición secundaria de fumagina que afecta la fotosíntesis.

En investigaciones realizadas por CORPOICA en fincas productoras de aguacate en Fresno-Tolima se encontraron los géneros de parasitoides *Amitus*, *Eretmocerus* y *Encarsia* (Cruz, 2012). Así mismo, estudios realizados con hongos entomopatógenos como agentes de biocontrol indican que en general los estadios de ninfa de mosca blanca son altamente susceptibles a la infección por varias especies de hongos entomopatógenos (Albuquerque y Albuquerque, 2009).

El presente proyecto plantea validar e integrar en campo estrategias de control para el manejo de *Paraleyrodes* sp. en el cultivo de aguacate, en este se integra el uso del monitoreo, de entomopatógenos, parasitoides e insecticidas de acuerdo a umbrales de acción en campo, dentro de un plan de manejo integrado.

Materiales y métodos



Se plantea aplicar un esquema de manejo de mosca blanca durante seis meses a partir de Julio de 2014. Para ello se seleccionaron tres fincas productoras de aguacate variedad Lorena, con diferentes niveles de infestación por mosca blanca: bajo ($\geq 10\%$), medio ($\geq 30\%$) y alto (≥ 60) (Caicedo, 2014). Dentro de cada una de las tres fincas se establecieron dos tratamientos debidamente separados espacialmente. Los dos tratamientos correspondieron a:

1. Manejo integrado (MI)

El tratamiento de manejo integrado propuesto reúne las siguientes prácticas: monitoreo, aplicación de umbral de acción, uso de insecticidas de síntesis química, rotación de ingredientes activos, uso de productos biológicos (entomopatógenos) e incremento de parasitoides nativos.

Monitoreo: Estimación de ninfas teniendo cuenta la presencia o ausencia de colonias visibles en cada hoja evaluada (Southwood y Henderson, 2000). La metodología para evaluar los porcentajes de infestación consiste en tomar 4 ramas de 1m de largo, en cada rama 5 brotes (60 cm) y una hoja de la zona intermedia del brote de 60 cm, para un total de 20 hojas del estrato bajo. En cada hoja se observará la presencia o ausencia de colonias de ninfas ubicado en toda la superficie abaxial de la hoja (Caicedo, 2014). Se muestrea en total 10 árboles/ha (SAGARPA, 2002).

Uso focalizado de entomopatógenos: En las parcelas que presenten una densidad poblacional promedio de mosca blanca inferior al 35% de infestación, umbral de acción establecido por Caicedo (2014), pero con focos donde los árboles superen o igualen este umbral, se harán aplicaciones focalizadas con el producto biológico Vercani WP, el cual tiene como ingrediente activo el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecani*; éste se aplica en mezcla con el coadyuvante Neofat CE.

Uso de insecticidas de síntesis química: En las parcelas que vayan presentando una densidad poblacional promedio de mosca blanca igual o superior al umbral de acción, se realizan aplicaciones intercaladas de Actara 25 WG (I.A. Tiametoxam) y Epingle EC (I.A. Pyriproxifen), en mezcla con el coadyuvante Carrier, manteniendo un tiempo mínimo de dos semanas entre una aplicación y otra puesto que los productos son de acción prologada.

Incremento de parasitoides: En la finca que presenta la mayor cantidad de parasitoides en el último registro, se colectan hojas de aguacate que tengan la mayor parte del área foliar del envés cubierta con colonias de pupas de mosca blanca, estas hojas se ponen en cámara húmeda en frascos de vidrio grandes, los cuales tienen en su interior dos fuentes de alimento para los parasitoides (algodón humedecido con agua azucarada), los frascos son cubiertos con una tela de poro fino para permitir la oxigenación en el interior del frasco y evitar la salida de los insectos. Cuando inicia la emergencia de los parasitoides, estos son liberados en las dos fincas que presentaron el menor número de parasitoides.

2. Manejo convencional (MC)



Monitoreo: Se lleva a cabo un monitoreo igual al realizado en el tratamiento de manejo integrado.

Manejo: Está basado en el manejo que los agricultores le han venido dando a mosca blanca en el cultivo (usos de insecticidas, rotación de insecticidas, intervalos en el uso de insecticidas, formas de muestreo, periodicidad de los muestreos etc.), en donde básicamente las aplicaciones son calendarizadas (semanalmente), no existe una rotación adecuada de ingredientes activos, no tienen una forma y frecuencia definida de muestrear.

Las variables a evaluar en esta investigación son las siguientes:

- **Variables técnicas:** se evalúan los porcentajes de infestación semanal de acuerdo al método de presencia–ausencia de colonias visibles en hojas infestadas. En este método la presencia de una sola colonia indica que una hoja está infestada por la mosca blanca (Caicedo, 2014).

- **Variables ecológicas.** Las variables consideradas son el número de aplicaciones de plaguicidas de síntesis química, la cuantificación de parasitoides y el porcentaje de parasitoidismo. En los dos tratamientos, los porcentajes de parasitoidismo se evalúan semanalmente tomando 10 hojas al azar mediante el conteo de una colonia de exuvias, evaluando el tipo de emergencia del adulto. La forma normal de emerger la mosca blanca es en forma de T y cuando se encuentra parasitada la forma de emerger se ve en una forma circular, por tanto el parasitismo se verifica al observar un hueco en forma circular en la exuvia, cuando esta ha sido depredada tiene una apariencia plana porque se ha succionado su interior (Hoddle, 2006).

La cuantificación de los parasitoides se hace mediante el montaje quincenal de cámaras húmedas, estas se observan cada 5 días y se tienen en cuenta los parasitoides emergidos (*Amitus* sp., *Eretmocerus* sp., *Encarsia* sp.), determinando el más prevalente. Todos ellos son conservados en alcohol al 70%.

- **Variables socioeconómicas:** Las variables económicas consideradas para el desarrollo de este estudio se basarán en determinar los costos de producción y la diferencia entre ingreso y costo. El protocolo tendrá en cuenta la fluctuación del precio del kg. de fruta en el transcurso del mes y los costos incurridos para la producción mensual, para calcular la viabilidad económica (rentabilidad).

Resultados

Porcentajes de infestación de mosca blanca. Durante los meses de julio y agosto de 2014 el porcentaje de infestación promedio de mosca blanca, para las tres fincas fue inferior con el MI ($35,23 \pm 11,52$) que con el MC ($43,59 \pm 14,83$).



Porcentajes de parasitoidismo y depredación. El parasitoidismo ha tendido a ser mayor en el MC, y la depredación en el MI (Figura 1).

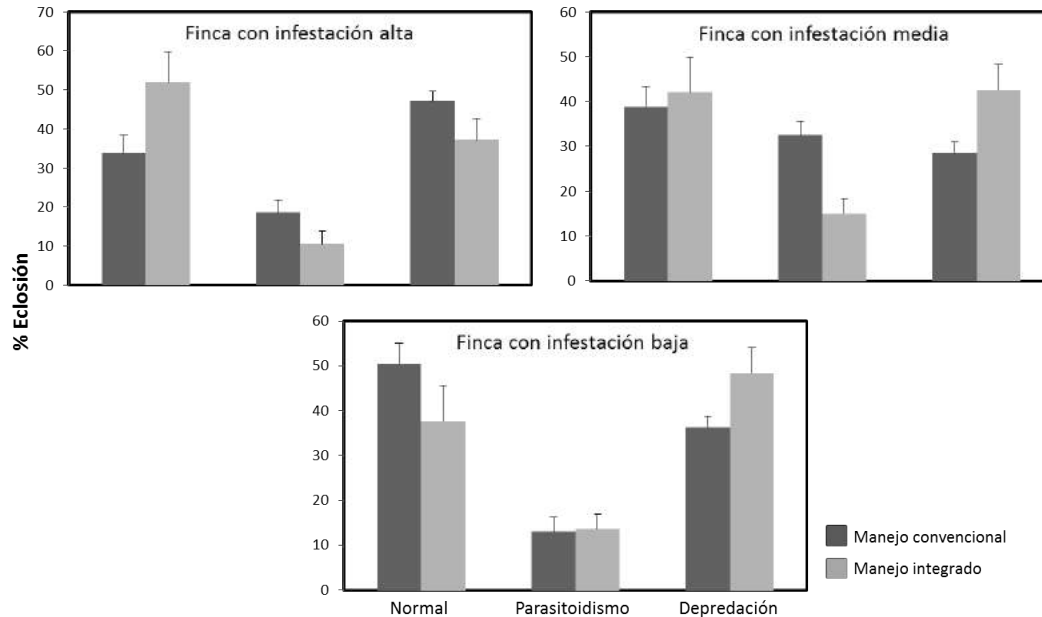


Figura 1. Porcentajes promedio de parasitoidismo y depredación de mosca blanca, basado en el tipo de emergencia del adulto, en tres fincas productoras de aguacate var. Lorena en el municipio de Fresno (Tolima-Colombia), con dos estrategias de manejo de mosca blanca, durante los meses de julio y agosto de 2014. Las barras verticales indican el error estándar de la media (n=4).

Cuantificación de parasitoides de mosca blanca. El género *Eretmocerus* se ha encontrado consistentemente en las tres fincas bajo el manejo integrado. En las fincas con infestación alta y baja el mayor número de parasitoides se presentó con el manejo integrado, mientras que en la de infestación media, se presentó con el manejo convencional. Cuanto mayor ha sido nivel de infestación de la plaga, mayor ha sido el número de parasitoides presentes en las colonias de pupas de mosca blanca.

Impacto ambiental en campo. Ha sido mayor el número de aplicaciones para el control de mosca blanca en la parcela con el MI (7), que en la parcela con MC (4), teniendo en cuenta las tres fincas.

Costos de producción, rendimiento y rentabilidad. En las fincas con niveles de infestación alto y medio, los costos de manejo del insecto para el mes de julio y agosto han sido mayores con el MI que con el MC. En la finca con nivel de infestación bajo ha sido mayor el costo con el MC.

Discusión

El manejo integrado de la mosca blanca, que incluye la liberación de parasitoides nativos y el uso de entomopatógenos ha probado hasta ahora ser efectivo en la disminución de los niveles de



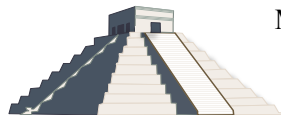
infestación de la mosca blanca. En otras investigaciones se ha demostrado la efectividad de los parasitoides en el control de poblaciones de moscas blancas (López *et al.*, 2009), y la interacción no riesgosa entre el hongo *Lecanicillium* y *Eretmocerus* (Lazreg *et al.*, 2009). Sin embargo, hasta ahora hay un mayor costo del manejo integrado, asociado al mayor número de aplicaciones de insecticidas. Se espera que una vez se estabilicen las poblaciones de mosca blanca por debajo del umbral establecido, los niveles de parasitismo aumenten, y los costos se reduzcan, al no requerirse el mismo número de aplicación de insecticidas.

Agradecimientos

Agradecemos a COLCIENCIAS por financiar el proyecto “Determinación de los factores incidentes en la prevalencia del problema fitosanitario de mosca blanca en aguacate (*Persea americana* Mill) Hass en el norte del Tolima”.

Literatura citada

- Albuquerque, E., Albuquerque, E. 2009. Hongos entomopatógenos. Importante herramienta para el control de moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae). Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vols. 5 e 6, p.209-242.
- Caicedo, L. 2014. Estimación de umbrales de acción para la mosca blanca *Paraleyrodes* Quaintance. pos. *bondari*. (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) en aguacate (*Persea americana* MILL) Hass y Lorena en el Fresno, Tolima, (Colombia). Tesis para optar al título de M.Sc. en ciencias agrarias con énfasis en entomología. Tesis en revisión. Universidad Nacional de Colombia.
- Cruz, G. 2013. Determinación de la influencia de los factores ambientales y fenología del cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill) sobre la fluctuación poblacional de mosca blanca *Paraleyrodes* sp y *Aleurocanthus* sp. en los municipios de Fresno y Herveo (Tolima). Trabajo de grado para optar al título de ingeniero agrónomo. 128 p.
- Hodde, M. S. 2006. Phenology, Life Tables, and Reproductive Biology of *Tetraleurodes perseae* (Hemiptera: Aleyrodidae) on California Avocado. Department of Entomology, University of California, Riverside, CA 92521. Annals of the Entomological Society of America 99(3):553-559.
- Lazreg, F.; Huang, Z.; Ali, S.; Ren, S. 2009. Effect of *Lecanicillium muscarium* on *Eretmocerus* sp. nr. *furushashii* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). J. Pest. Sci. 82: 27-32.
- López, V.; Kairo, M.; Pollard, G.; Pierre, CH.; Comodore, N.; Dominique, D. 2009. Post release survey to assess impact and potential host range expansion by *Amitus hesperidium* and *Encarsia perplexa*, two parasitoids introduced for the biological control of the citrus blackfly. Biocontrol. 54: 497-503.
- SAGARPA. 2002. Norma Oficial Mexicana. NOM-066-FITO-2002. Especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate. Secretaria de Agricultura, Ganadería de Desarrollo Rural. Diario oficial, primera sesión, pp. 54-65., 26 de abril de 2002.
- Southwood, T.R.E.; Henderson P.A. 2000. Ecological Methods. 592 p. 3rd ed. Blackwell Science. Oxford, United Kingdom.



PARASITOIDES DE LA FAMILIA BRACONIDAE E ICHNEUMONIDAE DE *Spodoptera frugiperda* L. (Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MAÍZ EN DURANGO, MÉXICO EN LOS ÚLTIMOS AÑOS

María Berenice González-Maldonado¹, Alejandro González-Hernández² y J. Natividad Gurrola-Reyes¹: Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR Unidad Durango. COFAA. Sigma No. 119. Fracc. 20 de Noviembre II. C.P. 34220. Durango, Dgo. mbgonzalez@ipn.mx. ²Facultad de Ciencias Biológicas. UANL.

Resumen. El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* es una de las principales plagas de cultivos de maíz en Durango, México., se evaluó el porcentaje de parasitismo natural de las principales familias de parasitoides de ésta plaga. Se colectaron larvas de los primeros estadios de desarrollo en plantas de maíz en etapa de verticilo durante el ciclo primavera-verano, durante junio a agosto 2012-2014. De 5200 larvas evaluadas, se presentaron seis especies de parasitoides: de dos familias, Braconidae: *Chelonus cautus*, *Chelonus insularis*, *Chelonus sonorensis*, *Meteorus* sp. (cuatro morfotipos diferentes) e Ichneumonidae: *Campoletis sonorensis* y *Pristomerus spinator*. El parasitoide con mayor frecuencia fue *Ch. insularis* (promedio 13.44%) y el de mayor abundancia fue *C. sonorensis* (promedio 23.38%), los demás parasitoides se presentaron en más bajos porcentajes de parasitismo. A través de los tres años los porcentajes de parasitismo de todos los parasitoides fueron disminuyendo, debido probablemente al cambio en las condiciones climáticas (Temperatura, humedad relativa, precipitación) y al uso de pesticidas, sin embargo, es factible utilizar estos parasitoides por aumento y conservación para el control biológico de ésta plaga.

Palabras clave: Parasitoides, gusano cogollero, Braconidae, Ichneumonidae, Durango.

Introducción

En Durango, México, el maíz después del frijol es uno de los principales cultivos agrícolas, en el ciclo primavera-verano 2013 se sembraron 154,505.25 ha de maíz con una producción de 297,383.44 ton y un rendimiento de 1.97 ton/ha (SIAP, 2013). El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las plagas que más daños causa a éste y otros cultivos en el continente americano (Jourdie *et al.* 2010). El control biológico es una alternativa sustentable en el manejo de plagas, mediante la integración de enemigos naturales, como parasitoides, depredadores y entomopatógenos (Williams *et al.* 2013). Molina-Ochoa *et al.* (2004) reportan a diferentes parasitoides, de los cuales *Ch. insularis* se encontró presente en Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Colima y Veracruz, donde este parasitoide fue el más abundante en los seis estados (de 1.0 a 16.7%). Esta especie de parasitoide es uno de los enemigos naturales de *S. frugiperda* con más amplia distribución natural en la costa del Pacífico y Golfo de México, así como en el noreste de México. Sin embargo, existe una gran diversidad de parasitoides de gusano cogollero, donde las principales familias son: Braconidae e Ichneumonidae. El objetivo del presente estudio fue conocer la presencia de los principales parasitoides de gusano cogollero de las familias Braconidae e Ichneumonidae que se han presentado de forma natural en cultivos de maíz en Durango, México.



Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en la región de los Valles, la cual se localiza en la parte central y sureste (Región de los Llanos) del Estado de Durango 24°21'24"N 104°35'05"O 1 900 msnm, que cubre 540 000 ha (4,5% de la superficie del Estado) (González *et al.* 2007). Los muestreos de larvas de gusano cogollero se realizaron en 16 sitios de cuatro localidades a una altitud entre 1876-1973 msnm. Se colectaron 100 larvas de gusano cogollero/sitio, de junio a agosto de 2012-2014, en cultivos de maíz en etapa de verticilo o cogollo. El muestreo de larvas de los estadios 1 a 6 se dirigió sobre las hojas de maíz con signos de defoliación y restos de desechos del insecto, las larvas se colectaron directamente de la planta con ayuda de pinzas entomológicas. El material se depositó en vasos de plástico de 3,5 cm de diámetro por 3,8 cm de altura, con 8 g de dieta artificial (Ashby 1972). Los vasos con larvas y dieta se colocaron en una cámara de cría (25 - 27°C, 60% de H.R y fotoperiodo 14:10 H: L) hasta alcanzar su desarrollo o hasta la emergencia de parasitoides. Los parasitoides fueron colocados en viales de 5 mL de capacidad con alcohol al 96%. La identificación de especies fue realizada por el Dr. Alejandro González Hernández (segundo autor), a través de la comparación con especímenes de referencia de la Colección de Insectos Benéficos Entomófagos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Para estimar el porcentaje de parasitismo de cada una de las especies de parasitoides de *S. frugiperda* se utilizó la fórmula de Bahena y Velázquez (2012):

Donde:

$$(\%) \text{ Parasitismo} = \frac{\text{Larvas parasitadas}}{\text{Larvas útiles}} \times 100$$

Las larvas útiles se obtienen con la diferencia entre las larvas colectadas y las que mueren por manejo y patógenos (virus, hongos, bacterias, nematodos). Las larvas parasitadas se cuantifican únicamente a partir de las larvas útiles, emerja o no el parasitoide adulto.

Resultados y discusión

De 5200 larvas colectadas en los últimos tres años, se encontraron seis especies de parasitoides de *S. frugiperda* de dos familias, Braconidae: *Chelonus cautus*, *Chelonus insularis*, *Chelonus sonorensis*, *Meteorus* sp. (cuatro morfotipos diferentes) e Ichneumonidae: *Campoletis sonorensis* y *Pristomerus spinator* (Cuadro 1). El parasitoide con mayor frecuencia fue *Ch. insularis* y el de mayor abundancia fue *C. sonorensis*, los demás parasitoides se presentaron en más bajos porcentajes de parasitismo.

Campoletis sonorensis (Cameron) fue el parasitoide más abundante en la Región de los Valles, Durango en 2012, con un porcentaje de parasitismo promedio de 44.25% en J. Gpe. Aguilera, Canatlán, Dgo., a 1946 msnm, se encontró además en 10 de los 16 sitios muestreados. En el año 2013, *C. sonorensis* fue nuevamente la especie predominante (10 de 16 localidades muestreadas),



nuevamente en J. Gpe. Aguilera con un 18.25%, valor inferior al del año pasado. En 2014, *C. sonorensis* presentó un máximo porcentaje de parasitismo de 7.66%, en la misma localidad, de forma natural, en 13 de las 16 localidades muestreadas.

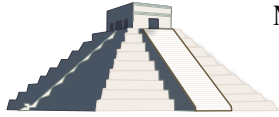
En el año 2012, *Ch. insularis* (Cresson) fue el parasitoide de mayor frecuencia relativa en el estudio, en Lerdo de Tejada, La Ferrería alcanzó 19% de parasitismo a 1894 msnm (Presente en 15/16 sitios muestreados). En el año 2013, se presentó con un 17%, en J. Gpe. Aguilera, Canatlán, pero solo estuvo presente en siete de las 16 localidades muestreadas, en el año 2014 se presentó la misma tendencia, el porcentaje de parasitismo bajo a 4.34% en la Col. Minerva a una altitud promedio de 1881 msnm (presente en 11 de los 16 sitios muestreados), se observó que todos los porcentajes de parasitismo fueron disminuyendo a través del tiempo.

Cuadro1. Parasitoides braconídeos e ichneumonídeos que parasitan de forma natural a *S. frugiperda* en cultivos de maíz en Durango, México.

Orden	Familia	Parasita	Sub-familia	Género y especie
Hymenoptera	Braconidae	Huevo-larva	Cheloninae	<i>Chelonus cautus</i> Cresson, 1872
		Huevo-larva		<i>Chelonus insularis</i> Cresson, 1865
		Huevo-larva		<i>Chelonus sonorensis</i> Cameron, 1887
		Larva	Meteorinae	<i>Meteorus</i> sp.
	Ichneumonidae	Larva	Campopleginae	<i>Campoletis sonorensis</i> Cameron, 1886
		Larva	Cremaestinae	<i>Pristomerus spinator</i> Fabricius, 1804

Esta disminución podría deberse probablemente al cambio en las condiciones climáticas, en relación a ello, Martínez *et al.* (2012) sostienen que la frecuencia relativa y la abundancia de parasitoides dependen de estos cambios en la región de origen, cuando hay precipitación pluvial los niveles de parasitismo en *S. frugiperda* se incrementan con cierto retardo en el tiempo y a altas temperaturas el parasitismo se reduce, mientras que a menor humedad relativa hay menor porcentaje de parasitismo, tal como lo reportaron para Etna, Oaxaca. En nuestro estudio en J. Guadalupe Aguilera, Canatlán, Sebastián Lerdo de Tejada, La Ferrería y Col. Minerva, Durango, se presentaron con mayor abundancia y frecuencia cinco de los seis parasitoides, destacando con mayores niveles de parasitismo *C. sonorensis* y *Ch. insularis*, en junio y agosto, además en este período se presentó la mayor precipitación acumulada 344,9 mm a temperatura media de 27 a 31°C.

Chelonus cautus, *Ch. sonorensis*, *Pristomerus spinator*, *Campoletis sonorensis*, *Meteorus* sp. (diversos morfotipos), encontrados en el presente estudio se consideran nuevos reportes en Durango; la determinación genética se encuentra en proceso. Este estudio permitió además conocer sobre la biodiversidad de parasitoides de gusano cogollero presentes de forma natural en



una importante región productora de maíz en Durango, México para la implementación de futuros programas de control biológico que permitan combatir a ésta plaga.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la Secretaria de Investigación y Posgrado del IPN el financiamiento otorgado al Proyecto de Investigación: Variabilidad genética de parasitoides de la familia Braconidae e Ichneumonidae aislados en Durango y Sinaloa. SIP20140886.

Literatura citada

- Bahena-Juárez, F., J. de J. Velázquez-García. 2012. Manejo agroecológico de plagas en maíz para una agricultura de conservación en el Valle Morelia-Quérendaro, Michoacán INIFAP. Libro Técnico No. 27. Uruapán, Michoacán. 60 p.
- González-Elizondo, Y., M. González-Elizondo. M. Márquez-Linares. 2007. Vegetación y eco regiones de Durango. IPN. México. 219 p.
- Jourdie, V., E. Virla., H. Murillo., J. M. S. Bento., T. C. J. Turling., N. Alvarez. 2010. Phylogeography of *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae) and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), two primary neotropical parasitoids of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 103(5): 742-749.
- Martínez-Martínez, L., L. A. Gutiérrez-Vázquez., C. Olivares-Isidro., R. Jarquín-López. 2012. Parasitismo natural de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en Etna, Oaxaca. pp. 344-347. *En: Memorias XXXV Congreso Nacional de Control Biológico*. Noviembre 2012. Puebla,
- Molina-Ochoa, J., J. E. Carpenter., R. Lezama-Gutiérrez., J. E. Foster., R. M. González., S. C. Ángel., L. J. Farías. 2004. Natural distribution of Hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Mexico. *Florida Entomologist* 87 (4): 461-472.
- Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. SIAP. 2013. Avance de siembras y cosechas. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> [Fecha revisión: 15 agosto 2014].
- Williams, T., H. C. Arredondo, and L. A. Rodríguez. 2013. Biological pest control in Mexico. *Annual Review of Entomology*. 58: 119-140.



EVALUACION DEL EFECTO COMBINADO DE *Catolaccus huteri* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) Y *Eupelmus cushmani* (HYMENOPTERA: EUPELMIDAE) SOBRE PICUDO DEL CHILE *Anthonomus eugenii* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN PRUEBAS DE SEMICAMPO.

Martha Beatriz Velásques-González; Julio César Velázquez-González¹, Alfonso Torres-Ruiz¹. KOPERT MEXICO¹ S.A. DE C.V. CIRCUITO EL MARQUÉS NORTE NO. 82. C.P. 76246. EL MARQUÉS QUERÉTARO, MÉXICO. jvelazquez@koppert.com.mx; atorres@koppert.com.mx

Resumen. Se evaluó el potencial de dos avispas parasitoides sobre una población de picudo del chile a una dosis de 1 y 10 avispas/m² de forma individual y combinada. La población de picudo se incrementó a partir de la semana 4, y la densidad de este en los diferentes tratamientos presento diferencias significativas $\alpha=0.0001$, $F=12.08$, $gl=4$. Con el análisis de los efectos fijos se encontró que los tratamientos formados por *Eupelmus* + *Catolaccus* a dosis de 1 avispa/m² y *Catolaccus*, presentaron la población más baja de picudo y se diferenciaron significativamente del control y del resto de los tratamientos ($t=2.85$, $gl=2$ 276; $\alpha=0.0004$) y $t=3.62$; $gl=2$ 287; $\alpha=0.0001$) respectivamente. La densidad poblacional de *C. huteri* y *E. cushmani* a dosis de 1 avispa/m², se mantuvo constante durante todo el experimento, no así para la dosis de 10 avispas/m² de *E. cushmani* la cual fue disminuyendo a media que transcurrió el experimento. La producción total de botones se vio afectada por la presencia de picudo en el control y tratamiento y se diferenció significativamente entre los tratamientos ($F=41.85$; $gl=5$; $\alpha=0.0001$). Con la estimación de los efectos fijos se encontró que el tratamiento de *Catolaccus* + *Eupelmus* a dosis 1 avispa/m² se diferenció del resto de los tratamiento, sin embargo solo fue ligeramente superior al control ($\alpha=0.001$, $gl=2246.22$). El uso de dosis bajas y uso combinado de ambas avispas fue ligeramente superior al control en la mayoría de las variables evaluadas, las tasas de parasitismo no superaron el 7% y se encontró que por efecto de depredación de ambas avispas un total de 22%, ambos en tratamiento combinado. Ambas avispas presentaron limitaciones en el manejo de picudo del chile, las cuales se pueden deber a la biología del hospedero, ya que la mayoría de las larvas de 3 instar cuando se desarrollan en la parte basal de la placenta no son alcanzables por ambas avispas. Se debe continuar evaluando la dosis y métodos de liberación de ambas avispas para potenciar su uso combinado.

Palabras clave: parasitoides, picudo del chile, pimiento, depredación, catolaccus+Eupelmus.



EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN DE *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) CON CUATRO DIETAS (MAÍZ CRIOLLO, HÍBRIDO, HIGUERILLA Y DIETA SEMISINTÉTICA) EN LOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE *Campoletis sonorensis* (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Ornella Barreto-Barriga¹, Raúl Omar Real-Santillán¹, Fernando Bahena-Juárez³, Ek del Val-de Gortari¹. Centro de Investigaciones en Ecosistemas, UNAM, Antigua Carretera a Pátzcuaro 8701 Col. Ex-hacienda de San José de La Huerta, CP. 58190 Morelia, Michoacán. ²Instituto Tecnológico del Valle de Morelia, Km. 6.5 Carretera Morelia-Salamanca. ³INIFAP, Campo Experimental Uruapan, Av. Latinoamericana Núm.1101. Col. Revolución, Uruapan, Michoacán. obarreto@cieco.unam.mx

Resumen. En nuestro país el cultivo de maíz es el más atacado por *S. frugiperda*, causando la disminución en el rendimiento en un 10% hasta la pérdida total del cultivo (SAGAR, 1999). El control de *S. frugiperda* se realiza en México mediante la aplicación de insecticidas químicos (Bahena *et al.* 2010). El uso de estos insecticidas ha provocado graves problemas ambientales. Por lo que es necesario buscar otras alternativas al uso de insecticidas, como el control biológico con parasitoides. En Michoacán *Campoletis sonorensis* controla naturalmente a *S. frugiperda*, con porcentajes de parasitismo de 40% (Bahena 2011). Por otro lado la calidad nutricional del alimento consumido por el insecto herbívoro hospedero afecta directamente los parámetros biológicos del parasitoide (Urrutia *et al.* 2007, Sarfraz *et al.* 2009). El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros biológicos de *C. sonorensis* que son afectados por la variación en la alimentación del hospedero *S. frugiperda*. Este conocimiento es necesario para lograr la reproducción exitosa en laboratorio de *C. sonorensis*. En este experimento se tuvo un factor que corresponde al tipo de dieta con el que se alimentó a las larvas de *S. frugiperda*, con 5 niveles: (1) Maíz híbrido (H318 del Inifap), (2) Maíz criollo blanco, (3) Higuierilla y (4) Dieta semisintética. Para la parasitación, larvas de tercer estadio se expusieron a dos hembras (sin experiencia de oviposición) de 6 días de edad. Este experimento se realizó a temperatura de 25°C. Las variables de respuesta en el parasitoide fueron: duración de los estados de desarrollo huevo pupa, pupa y emergencia del adulto, peso del capullo. La etapa de huevo-pupa tuvo una duración de 10 días en los cuatro tipos de alimento, en el caso de la etapa de pupa, tuvo una mayor duración en la dieta (7 días) comparado con el maíz criollo, el maíz híbrido y la higuierilla donde duró 6 días. La emergencia de los adultos se registró a los 16 días en el maíz criollo e híbrido y la higuierilla, en la dieta a los 17 días. También se observó que las pupas de la dieta e higuierilla tuvieron un mayor peso con 0.007 y 0.006 mg, respectivamente. Las pupas de los maíces criollo e híbrido pesaron 0.005 mg.



CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS DEL MAÍZ *Euxesta stigmatias* (LOEW) (DIPTERA: ULIDIIDAE) EN SINALOA

Cipriano. García-Gutiérrez¹, Edgardo Cortez-Mondaca² y J.R. Camacho-Báez¹. ¹CIIDIR COFAA-IPN Unidad Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Batiz Paredes No. 250. Guasave, Sinaloa., México 81101. garciaciprian@hotmail.com
²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Valle del Fuerte, 81110, Juan José Ríos, Sin.

Resumen. En este trabajo se presenta una reseña de los estudios realizados en torno a la mosca de los estigmas del maíz en Sinaloa, los cuales se refieren a estudios de morfología y ciclo de vida del insecto, y a la presencia de los diferentes enemigos naturales asociados a estas especies en cultivos de maíz en Guasave Sinaloa. Así como a las especies con potencial para el control natural; se refiere también a los hongos entomopatógenos que son patogénicos a esta plaga. Las especies del grupo de la mosca de los estigmas son: *E. stigmatias*, *C. massyla* y *E. nubila*, donde *E. stigmatias* es la principal plaga, por la magnitud de sus daños y presencia estacional. Se dan las diferencias morfológicas y de duración del ciclo de vida y comportamiento de estas especies. El único enemigo natural consistente y altamente específico para *E. stigmatias*, y depredador de *C. massyla* y *E. nubila* fue la chinche pirata *Orius* sp. La avispa *Spalangia* es un parasitoide de pupas que se puede utilizar para el control biológico por aumento en cultivos de O-I, mientras que *B. basiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosorosea* han demostrado ser patogénicos para *E. stigmatias* en laboratorio. Por lo anterior, estos agentes son promisorios para el control biológico de la mosca de los estigmas del maíz en Sinaloa.

Palabras clave: Mosca de los estigmas, maíz, control biológico

Introducción

En el Estado de Sinaloa se siembran 500 mil ha de maíz *Zea mays* L., en las cuales cada año se presentan como las plagas más importantes el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) y el gusano elotero *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (SIAP-SAGARPA 2008). Sin embargo, en los últimos años se ha presentado un grupo de dípteros, cuyas larvas causan daños similares en el elote y mazorca, formado por las especies; *Chaetopsis massyla* (Walker) *Eumecosomyia nubila* (Wiedemann) y *Euxesta stigmatias* (Loew) (Larsen 2009; comunicación personal¹), de las cuales esta última, conocida como la mosca de los estigmas (cornsilk fly, por su nombre en inglés) es ahora una plaga preponderante del maíz en el norte de Sinaloa, este insecto se había reportado en el noroeste de México por Pacheco en 1985 alimentándose del excremento del gusano elotero, dañando también a los granos tiernos. Sin embargo, en los últimos años este insecto ha adquirido importancia por alimentarse del grano de maíz, de manera similar a la del gusano elotero, siendo además más evidente su presencia en el ciclo agrícola de primavera-verano (Cortez 2008). En los últimos cinco años, en los maíces cultivados en Guasave, Sinaloa, se ha observado que las larvas se alimentan de los estigmas y pericarpio de los granos del elote provocando con esto la pudrición de la mazorca causada por *Fusarium* spp, lo que ha provocado mermas económicas en la comercialización del grano (García *et al.* 2010).



Por lo anterior, los productores de la región han empezado a realizar aplicaciones de insecticidas para el control de esta plaga, lo que generalmente es de muy poca utilidad, ya que las hacen cuando observan el daño. No obstante, en este momento las larvas del insecto se encuentran ya dentro del elote o mazorca, por lo que solo se logra matar a los adultos.

A nivel nacional existe poca información sobre la mosca de los estigmas, debido a que estos insectos apenas empieza a presentarse de manera evidente causando daños de manera recurrente, por lo menos en la región, por lo que en el presente trabajo tiene como objetivo alertar sobre la presencia de este insecto en otras áreas donde se cultiva el maíz de manera intensiva en México, con el objeto de iniciar estudios de control biológico enfocados al control oportuno de esta plaga.

Materiales y Métodos

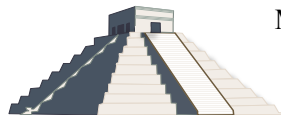
Biología y ecología de la plaga. De las tres especies se ha estudiado con mayor énfasis a *E. stigmatias*, por su predominio y magnitud de los daños que causa; sobre el ciclo de vida y comportamiento de las otras dos especies hay menos información disponible. Algunas diferencias morfológicas, de biología y comportamiento aparecen en el cuadro 1.

Resultados y Discusión

Enemigos naturales. Se conocen algunos enemigos naturales de esta plaga asociadas al maíz con posible acción reguladora de la población de la mosca de los estigmas, tales como las chinches asesinas *Zelus sp* y *Sinea sp* (Hemíptera Reduviidae); *Trichogramma sp.* (Hymenóptera: Braconidae); Catarinita rosa *Coleomegilla maculata* (DeGeer); catarinita roja *Cycloneda sanguinea* (Coleóptera Coccinélidae) e *Hyppodammia convergens* y Mosca Sirfida prob. *Metasyrphus sp.* (Díptera: Syrphidae) (Pacheco M. F. 1985; Romero J.B. 2009; Cortez Mondaca *et al.* 2009; Camacho Báez *et al.*; García *et a.* 2009).

En el cuadro 2, aparecen las especies de depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos considerados los más efectivos y específicos en la regulación natural de la mosca de los estigmas.

Acciones de control biológico. En Sinaloa el adulto de la mosca de los estigmas se presenta antes de la etapa de floración del cultivo (jilote), en este momento es cuando en los estigmas se ha encontrado un promedio de 40 huevecillos, después la larva se desarrolla en las mazorcas y entre las panojas, por lo que ahí es ya difícil la aplicación de algún método de control químico. Esta situación sugiere la posibilidad de desarrollar técnicas de control biológico utilizando enemigos naturales y hongos entomopatógenos que puedan superar esta situación.



Cuadro. 1 Morfología, ciclo de vida y comportamiento de las diferentes especies de las moscas de los estigmas.

ESPECIE	CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS	BIOLOGÍA	COMPORTAMIENTO	REFERENCIA
<i>E. stigmatias</i>	<p>Alas con cuatro manchas transversales bordes de la tercera banda transparente no definidos, margen inferior (anal-cubital) no delineado (1)</p> <p>Huevecillos: Dura $2.0 \pm 0.5_{cv}$ días, color blanco hialino y de forma alargada de, 0.80×0.20 mm.</p> <p>Larva: Dura $13.0 \pm 3.0_{cv}$ días, color blanco-amarillenta, alargada y apoda con la parte apical más ancha que la posterior, 7 mm de largo.</p> <p>Pupa: Dura $7.0 \pm 2.0_{cv}$ días, color amarillo-rojizo-café oscuro, con un extremo redondeado, 5×1.3 mm.</p> <p>Adulto: Tórax verde oscuro metálico y ojos café-rojizo, con cuatro bandas oscuras en las alas, patas negras con bandas amarillas en el extremo superior del tarso e inferior del fémur, la hembra 6.7 mm, el macho 5.5 mm con abdomen redondo, viven $24 \pm 10.0_{cv}$ días (2).</p>	<p>El ciclo de vida es 24 27 días en maíz dulce En Florida, EEUU, 3 a 4 generaciones al año.</p> <p>Las larvas Llegan a medir 0.6 cm de longitud. Cuando la salida del elote o mazorca no está obstruida por los estigmas secos, generalmente se dejan caer para pupar en el suelo a una profundidad de 2.0 cm</p> <p>Se encuentra en los estigmas, cerca del ápice del jilote; asociadas al daño de larvas de gusano elotero (3).</p> <p>En Sinaloa se ha observado que también se pueden encontrar en la parte dañada del elote, debajo de las hojas que envuelven la mazorca.</p> <p>La pupa en ocho a 11 días (4).</p> <p>En Sinaloa se ha observado una duración del ciclo de 22 días y 3 generaciones completas al año en maíz blanco, esta diferencia respecto a otras regiones posiblemente se debe al clima y variedades sembradas (5).</p> <p>Los meses en el que se ha presentado mayor abundancia de adultos y otros estados biológicos del insecto fue en Abril y Mayo, en los maíces del ciclo agrícola otoño-invierno en las etapas de fructificación (6).</p>	<p>Se alimentan de agua, polen, néctar, exudados y savia de las plantas, mueven las alas y caminan sobre el follaje de las plantas.</p> <p>Los adultos están en las partes soleadas. La cópula es por la mañana; la hembra pone de 2 a 30 huevecillos con un total de 95.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cortez 2009 2. García <i>et al</i>, 2011 3. (Nuessly & Capinera 2006; Hentz & Nuessly 2004; Nuessly & Capinera 2006). 4. CEVAF 2003. 5. Cortez Mondaca 2006. 6. García <i>et al</i>. 2010.



<i>C. massylla</i>	Tres bandas oscuras transversales en las alas, patas amarillas, a un segmento distal de la antena el margen superior es ligeramente cóncavo y muy aguzado en el extremo dorsal (Fig. 3).		Se alimentan de agua, polen, néctar, exudados y savia de las plantas, mueven las alas y caminan sobre el follaje de las plantas. Los adultos se ven en las partes soleadas.	García <i>et al</i> 2009.
<i>E. nubila</i>	Dos manchas grandes oscuras en la parte apical y anal, sin alcanzar el margen costal, parte media con un área clara alas de ligeramente de mayor tamaño que las de <i>C. massylla</i> (Fig. 3).		Se alimentan de agua, néctar, exudados y savia de las plantas y frutos de maíz y tomate, mueven las alas y caminan sobre el follaje de las plantas.	García <i>et al</i> 2009.

Cuadro 2. Agentes de control biológico de *E. stigmatias*, y con potencial para *C. massylla* y *E. nubila*.

ESPECIE	ACTIVIDAD	ESTADO DE DESARROLLO AFECTADO	PAÍS	REFERENCIA
Hymenóptera Pteromalidae <i>Spalangia</i> spp	Parasitoide	Pupa	México	Cortez- Mondaca <i>et al.</i> 2009. Camacho- Báez <i>et al.</i> 2010. García-Gutiérrez <i>et al.</i> 2010.
Hymenoptera Figitidae <i>Dettmeria borgmeier</i> Avispita		Huevecillos	Argentina	Bertolaccini <i>et al.</i> 2010.
Hemiptera Anthocoridae <i>Orius</i> sp.	Depredador	Huevecillos	E.U.A. México	Nuessly, G.S. y J.L. Capinera, 2006. Romero, J.B. 2009. Cortez- Mondaca <i>et al.</i> , 2009. García-Gutiérrez <i>et al.</i> 2010.
Neuróptera Chrysopidae <i>Crisopa Chrysoperla</i> spp. <i>Crisopa</i> café		Huevecillos y larvas	México	Pacheco M. F. 1985. Cortez- Mondaca <i>et al.</i> 2006. Romero J.B. 2009 Camacho- Báez <i>et al.</i> 2010.
<i>B. bassiana</i>	Hongo	Larvas y adultos	México	García Gutiérrez <i>et al.</i> 2010.
<i>P. fumosorosea</i>	Hongo	Larvas y adultos	México	García Gutiérrez <i>et al.</i> 2010.

El único enemigo natural consistente y altamente específico para *E. stigmatias*, y que posiblemente sea también depredador de *C. massylla* y *E. nubila*, es la chinche pirata *Orius* sp. En siembras de maíz de otoño invierno (O-I) este depredador es uno de los agentes biológicos más eficiente en la regulación de las poblaciones de esta plaga, pues es posible observar numerosas chinches en los estigmas alimentándose de huevecillos.



García *et al* (2010) realizaron pruebas de patogenicidad de cepas nativas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, crecidas en medio líquido a base de melaza; se hizo un bioensayo con larvas de *E. stigmatias* usando dieta artificial, y en adultos por aplicación tópica de 1×10^8 esp/ml. Se encontró que *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* causaron un mortalidad de larvas de 40 y 60 %, respectivamente; mientras que en adultos de la mosca la mortalidad fue de 62 y 90%, lo que demostró la patogenicidad de ambos hongos a nivel de laboratorio, por lo que se consideran promisorios para ser probado en una mayor superficie para el control del insecto.

Perspectivas. La mosca de los estigmas se está erigiendo como una plaga de importancia económica en maíz en el estado de Sinaloa, sólo después del gusano cogollero, y gusano elotero, lo que posiblemente se pueda dar en otras regiones productoras de maíz, con condiciones agroecológicas similares; el uso de insecticidas de contacto y de amplio espectro para el control de este insecto se realiza cuando se observa el daño de las larvas en los elotes, en este momento estas se encuentran protegidas por las hojas e incluso se localizan en la base o dentro de los granos atacados haciendo ineficiente esta práctica, por lo que su muestreo debe efectuarse antes de que inicie el espigamiento del cultivo.

El adulto se considera la única etapa de desarrollo susceptible de ser controlada con insecticidas, por lo que los campos infestados con la mosca de los estigmas deben ser asperjados con insecticidas efectivos para reducir la población antes de que los estigmas emerjan del jilote.

Esta situación abre una posibilidad para las siguientes prácticas de control de la mosca de los estigmas en maíz:

Parasitismo. La avispa *Spalangia* es un parasitoide de pupas que se puede utilizar para el control biológico por aumento en cultivos de O-I e impactar de una generación a otra a la población del insecto plaga, para que en P-V su presencia sea menor. Sin embargo, entre los estudios que se requieren para el eventual empleo de este agente de control biológico están:

- a) La cría masiva de las moscas de los estigmas y de *Spalangia* sp en laboratorio.
- b) Estudiar la fluctuación poblacional de la mosca y determinar la abundancia relativa del insecto; al respecto se sabe que en la región de Guasave Sin., la hembra ovípara $50 \pm 10_{cv}$ huevecillos, y la máxima abundancia de adultos registrada es cuando aparecen los estigmas, a los 90-98 días después de las siembras de maíz en P-V y O-I, por lo que en este momento es oportuno iniciar las liberaciones masivas de *Spalangia* sp.

Fomento de enemigos naturales. El establecimiento del cultivo en otoño-invierno, cuando los factores abióticos como el clima y los bióticos favorecen la presencia de los enemigos naturales como la chinche *Orius* sp para regular la presencia de la plaga por debajo de niveles en los que causa daño severo en siembras de P-V, es importante sembrar en febrero. En maíz dulce y amarillo el daño es más significativo y se requiere reducir las poblaciones de la mosca, realizando un control oportuno del gusano elotero y cogollero.



Siembra de híbridos tolerantes: En la región los Híbridos de maíz (Ceres-XR-45, Pioneer-30F32 y Bengala-Y) han presentado poco daño de mosca de los estigmas.

La Siembra de variedades con elevadas concentraciones de maysin en los estigmas provee resistencia contra mosca de los estigmas, gusano elotero, conchuela café *Euschistus servus* (Say) y chinche verde apestosa *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae), y carbón común o huitlacoche *Ustilago maydis* (DC.) Corda; tal como lo señalan, Lee *et al.*, (1998); Scully *et al.*, (2000) y Xinzhi *et al.*, (2008).

Uso de hongos entomopatógenos: *B. basiana*, *M. anisopliae* e *I. fumosorosea* han demostrado ser efectivos para el control de *E. stigmatias* en laboratorio, por lo que ambos hongos son candidatos para la evaluación de su efectividad en campo en el control del insecto, principalmente con *I. fumosorosea*.

En conclusión, los estudios realizados en el norte de Sinaloa, sirven para definir un método de control biológico de esta plaga en esta región, y posiblemente para otras regiones del país donde se siembra maíz de manera intensiva.

Agradecimientos.

A Fundación Produce Sinaloa A.C., por el financiamiento al proyecto: Estudio del comportamiento de la mosca del estigma del maíz como base para su control biológico con hongos entomopatógenos en el Valle agrícola de Guasave, Sinaloa.

Al Instituto Politécnico Nacional, por el financiamiento otorgado a través del proyecto SIP 20100250.

Al Dr. Vicente Hernández-Ortiz (Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Ver), por la identificación de las especies de moscas. Al Dr. Alejandro González Hernández, de la F C B de la UANL, por la identificación del parasitoide de pupas *Spalangia* spp., a la Biól. Elva Lorena Vazquez Montoya por la realización del ciclo de vida de la mosca de los estigmas Loew (Diptera: Ulidiidae) en laboratorio, y al Biól. Jesús Ignacio Valenzuela Hernández por su colaboración en la colecta de insectos.

Literatura Citada

- Bertolaccini, I. C. & Bouzo. N. Larsen. & J. C. Favaro. 2010. Especies del género *Euxesta* Loew (Diptera-Ulidiidae) plagas de maíces dulces BT en la provincia de Santa Fe Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent . 69: (1-2):123-126.
- Camacho-Báez, J.R., García-Gutiérrez, C., Valenzuela-Hernández, J.I., Vázquez- Montoya, E. L., Nava Pérez E., Armenta Bojorquez D., Mundo Ocampo, M., 2010. Búsqueda de enemigos naturales asociados a la mosca de los estigmas *Euxesta* spp. (Diptera: Otitidae). En maíz blanco en Guasave, Sinaloa, México. En memorias del Tercer Foro Estatal de Ciencia y Tecnología. Sinaloa., Investigación para el Desarrollo mesa 1.
- Cortez, M. E. & Camacho B. J.R. & Meza G. J.L. & Romero B. J. 2006. Insectos entomófagos asociados a cultivos de grano en el norte de Sinaloa. En memorias del Tercer Foro Estatal de Ciencia y Tecnología. Sinaloa., Investigación para el Desarrollo mesa 1.
- Cortez M.E. 2008. Recomendaciones para el manejo de las principales plagas insectiles del maíz en el norte de Sinaloa. Jornada de manejo sustentable del cultivo de maíz. Fundación Produce Sinaloa, A.C. pag.41-51. Culiacán, Sinaloa.



- Cortez, M. E. G. J. Meza, & B. J. Camacho. 2009. La mosca de los estigmas *Chaetopsis massyla* (Walker), *Eumecosomya nubila* (Wiedman) y *Euxesta stigmatias* (Loew) en maíz. Bioecología y manejo. pp. 153-169. En: García & Rojo (Eds.). Tecnología de granos y semillas. Libros Técnicos. Serie Agricultura, Universidad Autónoma Indígena de México. México. 278 p.
- García, G. C., E. Nava Pérez, J. R. Camacho, D. A. Bojórquez, L. Vázquez Montoya, & E. Cortez Mondaca. 2009. Control biológico y comportamiento de la mosca de los estigmas del maíz. Folleto técnico. Fundación Produce Sinaloa A.C. 27pp.
- García, G. C. 2010. Control biológico de la mosca de los estigmas del maíz. Fundación Produce Sinaloa. Memoria anual 2010-2011. Páginas 159-164.
- García-Gutiérrez. C., Vázquez-Montoya E.L., Camacho-Báez J.R., & Nava-Pérez E. 2011. Morfología, Ciclo de vida y Comportamiento de la Mosca de los estigmas del Maíz *Euxesta stigmatias* (Lowe) (Diptera: Ulidiidae) en Sinaloa. Southw. Entomol. 36(1): 111-113.
- Gaurau, G. G. S. Nuessly, G. J. Steck, D. R. Seal, J. L. Capinera, & K. J. Boote. 2010. New report of *Chaetopsis massyla* (Diptera: Ulidiidae) as a primary pest of corn in Florida. Fla. Entomol. 93: 198-202.
- Goyal, G., G. Nuessly, & H. Gill. 2008. Oviposition preference of corn-infesting picture wing flies. Entomol. Soc. of America. Annual Meeting. http://esa.confex.com/esa/2008/techprogram/paper_37284.htm.
- Huis, A. V. 1981. Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua. Wageningen, Holanda, 222 pp.
- Hentz, M. G., & Nuessly, G.S. 2004. A technique for rearing the sweet corn pest, *Euxesta stigmatias* (Diptera: Otitidae) on a *Helicoverpa* diet. Journal of Entomological Science 39: 140-143.
- Lee, E. A., P. F. Byrne, M. D. McMullen, M. E. Snook, B. R. Wiseman, N. W. Widstrom, and E. H. Coe. 1998. Genetic Mechanisms Underlying Apimaysin and Maysin Synthesis and Corn Earworm Antibiosis in Maize (*Zea mays* L.). Genetics Soc. of America. 149: 1997-2006.
- Maes, J. M., & Tellez Robleto J. 1988. Catálogo de los insectos y artrópodos terrestres asociados a las principales plantas de importancia económica en Nicaragua. Rev. Nica. Ent., 5:95 pp.
- Nuessly, G.S. & J.L. Capinera. 2006. Corn fly *Euxesta stigmatias*. Publication Number: EENY, University of Florida- USDA, ARS. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/cornsilk_fly.htm
- Nuessly, G., & S. E. Webb 2007. Insect Management for Sweet Corn. Publication #ENY-472. University of Florida, IFAS Extension. pp 9.
- Pacheco M. F. 1985. Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. Libro técnico número 1. Cd. Obregón, Sonora, México. 139, 339 p - 355 p.
- Painter, R. H. 1955. Insects on corn and teosinte in Guatemala. Journal of Economic Entomol. 48: 36-42.
- Romero, J.B. 2009. Tesis de licenciatura "Insectos entomófagos asociados al cultivo de maíz en el Norte de Sinaloa". Universidad de Occidente, Unidad Guasave, Sinaloa, México. Pp 96.
- SAGARPA, 2008. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>
- Scully, B. T., Nuessly, G. S., Beiriger, R. L. 2000. Resistance in maize to *Euxesta stigmatias* Loew (Diptera: Otitidae). Journ of Entomol. Science. 35: 432-443.
- Seal, D. R., & Jansson, R. K. 1989. Biology and management of corn-silk fly, *Euxesta stigmatias* Loew (Diptera: Otitidae), on sweet corn in southern Florida. Proceedings of the Florida State Horticultural Society .102: 370-373.
- Seal, D. R., Jansson, R. K., & Bondari, K. 1996. Abundance and reproduction of *Euxesta stigmatias* (Diptera: Otitidae) on sweet corn in different environmental conditions. Florida Entomologist 79: 413-422.
- SIAP-SAGARPA. 2008. Servicio de información estadística agroalimentaria (SIAP). <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/integra/Agricola/DatsBas/DBmaiz.pdf>. 31 de Octubre de 2008.
- Steyskal, G. C. 1968. Family Otitida (Ortaliidae: including Pterocallidae, Ulidiidae), pp 54.1-54.31. In Vanzolini PE, Papavero N. [eds.], A Catalogue of the Diptera of the Americas South of the United States. Depto Zoologia, Secretaria de Agricultura, Sao Paulo, Brasil.
- Steyskal, G. C. 1974. *Euxesta mazorca*, new species, associated with ears of maize in South America (Diptera, Otitidae). Proceedings of the Biological Society of Washington 87: 73-76.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Xinzhi N., M. D. Krakowsky, G. D. Buntin, B. G. Rector, B. Guo, & M. E. Snook. 2008. Identification of Multiple Ear-Colonizing Insect and Disease Resistance in CIMMYT Maize Inbred Lines with Varying Levels of Silk Maysin. *Journ.of Econ. Entomol.*101(4):1455-1465.



DEPREDACION INTRAGREMIAL DE *Geocoris punctipes* (HEMIPTERA: LYGAEIDAE) SOBRE *Eretmocerus eremicus* (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) Y SU EFECTO EN EL CONTROL DE MOSCA BLANCA

Lourdes Bao-Fundora¹, **Ricardo Ramirez-Romero**¹, Carla V. Sánchez-Hernández¹, José Sánchez-Martínez¹, Nicolas Desneux².¹Departamento de Producción Agrícola, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México. ²Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 400 route des Chappes. CP. 06903. Sophia-Antipolis, Francia. Autor correspondal: rramirez@cucba.udg.mx

Resumen. La chinche *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae) es un depredador de mosca blanca (MB). Esta última es una plaga controlada también por el parasitoide *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). Cuando uno de los enemigos naturales que comparten una presa ataca a otro, se establece una interacción conocida como depredación intragremial (DIG). Previamente, en condiciones de laboratorio, se reportó que *G. punctipes* ejerce DIG sobre *E. eremicus*. Sin embargo, no se sabe si esta DIG ocurre también en condiciones semi-naturales y el efecto que pudiese tener sobre el control de la mosca blanca. Por ello, nuestros objetivos fueron: i) determinar en condiciones semi-naturales si *G. punctipes* ejerce DIG sobre *E. eremicus* a través de técnicas moleculares y, ii) determinar el grado de infestación de MB en condiciones donde pudiese existir DIG. El experimento se realizó en condiciones semi-naturales con plantas de jitomate *Solanum lycopersicum* var. Saladette encerradas en micro-cosmos. Se conformaron cinco tratamientos: i) solo MB (control), ii) *G. punctipes* + MB, iii) *G. punctipes* + MB + *E. eremicus* (todos liberados simultáneamente), iv) *G. punctipes* + MB + *E. eremicus* (liberados de manera secuencial) y v) *E. eremicus* + MB. Las chinches, después de 48h de exposición a las presas, se colectaron y analizaron molecularmente para determinar si ejercían DIG sobre *E. eremicus*. Los resultados muestran que *G. punctipes* ejerce DIG sobre *E. eremicus* (adultos e inmaduros) en condiciones semi-naturales. También se encontró que el grado de infestación por MB fue significativamente menor en los tratamientos donde ambos enemigos naturales estaban presentes, en comparación con los tratamientos donde actuaron solos. Lo anterior indica que a pesar de existir DIG, su existencia no afecta el control sobre mosca blanca, por lo que el uso conjunto de estos dos enemigos naturales para control de MB parece factible.

Palabras claves: Depredación intragremial, ADN, semi-natural, *G. Punctipes*



ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A *Pseudacysta perseae* HEIDEMANN (HEMIPTERA: TINGIDAE) EN AGUACATE EN NAYARIT, MÉXICO

Ndahita De Dios-Ávila^{1,2}, Néstor Isiordia-Aquino², Jhonathan Cambero-Campos^{1,2}, Carlos Carvajal- Cazola², Marcia Rodríguez-Palomera¹, Gabriela Peña-Sandoval¹ y Claudio Ríos-Velasco³ ¹Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México. Carretera Tepic-Compostela Km 9. ²Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit, C.P. 63155 Tel: (311) 2111163., ³Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, México, C.P. 31570.

Bias_007_s@hotmail.com.

Resumen. La chinche del encaje del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann), se ha posicionado como una plaga de gran importancia para los cultivos de aguacate, ya que por el excesivo uso de insecticidas tanto su resistencia a agroquímicos como distribución, han ido aumentando. Como alternativa a uso de agroquímicos, el presente trabajo se ha enfocado a la búsqueda de enemigos naturales, que permitan disminuir los daños de ésta plaga a la producción de aguacate, mediante el control biológico de *P. perseae*. Para identificar parasitoides y hongos entomopatógenos específicos, se recolectaron especímenes de *P. perseae* de sus diferentes estadios, en cultivares de aguacate Hall y Choquette, durante los meses de mayo a agosto del 2012 y mayo a julio 2013. Los huevecillos (4974) y adultos (2769) fueron examinados en busca de enemigos naturales, de los cuales se obtuvieron e identificaron dos agentes de control biológico, un parasitoide de huevecillos *Oligosita* sp. (1.9 %) (Trichogrammatidae) y un entomopatógeno para adultos, *Metarhizum* sp. (1.4 %). El porcentaje de parasitismo total fue de 3.3 %, lo cual genera un potencial de uso en programas de control biológico por conservación.

Palabras clave: *Pseudacysta perseae*, control biológico, *Oligosita* sp., *Metarhizum* sp., Aguacate.

Introducción

La Chinche de encaje del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann), fue descrita por primera vez en Florida, E. U. A. en 1908 como *Acysta perseae*, a partir de ejemplares de aguacate durante el periodo 1897-1907 (Hoddle *et al.*, 2005). Durante casi un siglo, la distribución de esta plaga se mantuvo limitada a la península de Florida y México (Brailosvsky y Torre, 1986). Su daño se consideraba de importancia ocasional, catalogándose como plaga poco importante para las plantaciones de aguacate. Los estragos directos que produce la presencia de *P. perseae*, son ocasionados al insertar su aparato bucal en forma de aguja sobre el envés de las hojas, para extraer el contenido de las células. La alimentación inicial, provoca signos de decoloración amarillenta por el haz y el envés foliar, formándose áreas necróticas. En plantas severamente dañadas, la caída masiva de las hojas, por lo que se pueden encontrar árboles defoliados parcial o totalmente. El daño también propicia la entrada a hongos patógenos, en particular de *Colletotrichum* spp. (Hoddle *et al.*, 2005; Morales, 2000). Recientemente las poblaciones, *P. perseae* han aumentado, distribuyéndose ampliamente en las áreas aguacateras de Centro América (Almaguel *et al.*, 1999; IDICT, 2003). La presencia de *P. perseae* en México amenaza la superficie establecida y la producción de aguacate, la cual en el año 2013 se obtuvo una



producción de 1,467 millones de t. a nivel nacional, de las cuales el 2.34 % (34,345) correspondieron a la producción del estado de Nayarit (SAGARPA-SIAP, 2013).

A la fecha, el control químico ha sido el método más utilizado para el control de *P. perseae*, sin embargo el efecto rápido de estos productos ha ocasionado problemas de resistencia. Como consecuencia de las excesivas aplicaciones de insecticidas, desde, los años 90's, se ha observado la aparición de brotes poblacionales de *P. perseae*, situándose como una grave plaga foliar de aguacates en varias islas del Caribe (Peña y Jonson, 1998). Una alternativa potencial en el manejo de este insecto, menos dañina para el ambiente, es el uso de agentes de control biológico como parasitoides y entomopatógenos. En los estados de Florida y California, E. U. A. han conseguido utilizar enemigos naturales de esta plaga, logrando disminuir el uso de insecticidas y el desequilibrio ecológico (Hoddle *et al.*, 2005; Peña, 2007). Debido a lo anterior, el objetivo de la investigación fue identificar a los enemigos naturales de *Pseudacysta perseae* presentes en el cultivo de aguacate en el estado de Nayarit.

Materiales y Métodos

La obtención de las muestras, se realizaron durante los meses de mayo a agosto del 2012 y mayo a julio del 2013, en cultivares de aguacate Hall y Choquette del huerto llamado "El Cedro", municipio de San Blas, Nayarit. La zona se ubica geográficamente a 21° 32' 47.4" de latitud norte y 105° 08' 23.1" de longitud oeste, a una altura de 384 msnm.

Se colectaron hojas que mostraran la presencia del insecto plaga (diferentes estadios), en las zonas baja y media del árbol, fueron colocadas en bolsas de papel *kraft* y llevadas al laboratorio de Parasitología Agrícola del Centro Multidisciplinario de Investigación Científica (CEMIC) de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN), para su procesamiento. La identificación de la chinche de encaje se realizó con base a las características consideradas por Hernández *et al.* (2004). Para el caso de la obtención de parasitoides se recolectaron hojas con presencia de huevecillos, colocándolas en cajas Petri, sobre una película de yeso de 4 mm de espesor, situadas sobre una esponja saturada de agua Ríos *et al.* (2011). Se incubaron a temperatura ambiente durante 28 días para la obtención de parasitoides. Una vez recuperados, fueron etiquetados y conservados en alcohol al 70 % para su posterior montaje e identificación mediante claves taxonómicas de Pinto (1993). La confirmación se realizó por el Dr. Fabián García González, de la Universidad Autónoma de Chapingo, Unidad Regional Universitaria de las Zonas Áridas.

El porcentaje de parasitismo se obtuvo mediante la relación $(A/B)*100$, donde A se refiere al número de parasitoides emergidos y B es el número de ninfas recolectadas.

Para el caso del aislamiento de entomopatógenos, los especímenes de la chinche de encaje colectados, se colocaron en cajas Petri con una película de yeso de 4 mm de espesor y colocadas sobre una esponja saturada de agua e incubadas en una cámara bioclimática a una temperatura de 28 ± 2 °C y un fotoperiodo de 12:12 luz/oscuridad, para permitir el crecimiento de hongos. El aislamiento, purificación e identificación de los hongos, se llevó a cabo con la separación de especímenes con sintomatología característica del ataque de hongos. La identificación se llevó



acabo basándose en las características morfológicas macro y microscópicas explícitas en las claves taxonómicas correspondientes (Barnett y Hunter, 1986). La confirmación se realizó por el M. en C. Carlos Rubén Carvajal Cazola profesor-investigador de la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit.

Resultados y Discusión

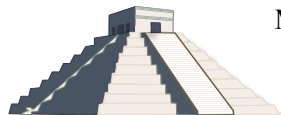
Se recolectaron 4,974 huevecillos, de los cuales se obtuvieron 97 parasitoides pertenecientes a la familia Trichogrammatidae, del género *Oligosita* sp. El porcentaje de parasitismo total fue de 1.9 %. El mayor porcentaje se registró en los meses de julio y agosto del 2012 con 3.3 %, (Cuadro 1). Al respecto, Peña *et al.* (2007) durante un estudio realizado en Florida E. U. A. en los años 1996-1998 reportó al parasitoide *Oligosita* sp., como el más frecuente durante los picos poblacionales más altos de *P. perseae*. Sin embargo, estudios realizados recientemente entre 2005 y 2007 sugieren que el mimarido, *Erythmelus* sp., puede ser más importante que *Oligosita* sp. indicando que la tasa de parasitismo de huevos probablemente menor 5 %. Hoddle *et al.* (2005), reportan en California, E. U. A., como agentes de control biológico a dos parasitoides de huevos incluyendo *Oligosita* sp., y uno no identificado de la familia *Mymaridae*.

Los parasitoides asociados a *P. perseae* en aguacate de Nayarit, contrastan a los registros de Peña *et al.* (2007), quienes no detectaron para Cuba, República Dominicana y Venezuela, la acción de parasitoides, pero si registran la presencia de algunos depredadores como, *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae), *Hyaliodes vitripennis* (Heteroptera: Miridae), *Paracarniella cubana* (Heteroptera: Miridae), *Stethoconus praefectus* (Heteroptera: Miridae) y un nuevo género y especies de Cecidomyiidae son los mayores depredadores de esta plaga en Florida.

Cuadro 1. Porcentaje de parasitismo de huevecillos de *Pseudacysta perseae* causada por *Oligosita* sp., en San Blas, Nayarit, México, 2012-2013.

Fecha de Muestreo	Nº de Huevecillos	Parasitoides Emergidos	% Parasitismo por Fecha
08 mayo-2012	703	11	1.5
14 junio-2012	1046	14	1.3
06 julio-2012	800	27	3.3
26 agosto-2012	750	25	3.3
12 mayo-2013	570	6	1.0
01 junio-2013	640	11	1.7
22 julio-2013	465	3	0.6
Total	4974	97	1.9

De los 2769 adultos recolectados, se obtuvieron 41 especímenes infectados por *Metarhizium* sp. La tasa de parasitismo fue de 1.4 %. El mayor porcentaje fue registrado en el mes de junio con 2.7 % (Cuadro 2). Al respecto, Álvarez *et al.* (2003), registraron a *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* e *Hirsutella* sp., como controladores naturales de *P. perseae* con parasitismo de adultos en la provincia de Matanzas, Cuba. Morales y Grillo (2004) en estudios realizados en Villa Clara, Cuba, reporta la presencia de *B. bassiana*, *H. verticilliodes* y *H. guyana* parasitando ninfas y adultos.



Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Pseudacysta perseae* causada por *Metarhizium* sp. en San Blas, Nayarit, México, 2012-2013.

Fecha de Muestreo	N° de Adultos	Entomopatógenos	% Parasitismo por Fecha
08 mayo-2012	449	0	0
14 junio-2012	456	6	1.3
06 julio-2012	370	4	1.0
26 agosto-2012	430	8	1.8
12 mayo-2013	250	4	1.6
01 junio-2013	435	12	2.7
22 julio-2013	379	7	1.8
Total	2769	41	1.4

Agradecimientos. Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Nayarit por el apoyo brindado durante la realización de esta investigación.

Bibliografía

- Almaguer, L., E. Blanco., P. De La Torre., I. Cáceres., Nieves C., Márquez M. y Blanco, L.1999. Control de la chinche del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann) en la Ciudad de La Habana. FITOSANIDAD. Volumen 3. No.2, Junio.
- Álvarez, J. F.; Montes De Oca, F. N. y Grillo, H. 2003. Hongos entomopatógenos de *Pseudacysta perseae* (Heidem.) (Heteróptera; Tingidae) en Jovellanos, Matanzas. Centro Agrícola. Año 30. No.2 abril-junio.
- Barnett, G. J. y B. B. Hunter. 1986. Illustrated genera of Imperfect Fungi. 4th ed. McMillan.
- Brailovsky, H., y Torre, L. 1986. Hemiptera-Heteróptera de México XXXVI. Revisión genérica de la familia Tingidae La Porte. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México 56. Serie Zoología (3): 869-932.
- Hernández, J. B., Blanco, G., Linares, B., Hernández, L., y Pérez, A. 2004. Detección del chinche de encaje del aguacate *Pseudacysta perseae*. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2004, 21 supl. 1:161-165.
- Hoddle, M. S., Bender, G. S., Morse, J. G., Kellum, D., Dowell, R., y Witney, G. W. 2005. Avocado Lace Bug. AvoResearch. Spring 2005. Calif. Avoc. Commission, Irvine, CA. 2 pp.
- Instituto de Información Científica y Tecnológica (IDICT). 2003. *Pseudacysta perseae* (Heid.). Chinche de encaje del aguacatero en Cuba. Informe Técnico. La Habana, Cuba. S/p.
- Morales, L. y Grillo, H. 2004. La chinche de encaje del aguacatero *Pseudacysta perseae* (Heidemann) (Heteróptera: Tingidae) Apuntes para la lucha biológica en las condiciones de Cuba. Manejo Integrado de Plagas en una Agricultura Sostenible. Intercambio de experiencias entre Cuba y Perú. Lima, Perú. 225 pp.
- Morales, L., Grillo, H., Hernández, V. 2000. Biología de *Pseudacysta perseae* (Heid.) (Heteroptera: Tingidae) a temperatura constante. Centro Agrícola 27(3)
- Peña, J. E. y Jonson, F. (1998). Insect management in avocados. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- Peña, J. E., Duncan, R., Roltsch, W., Gagné, R. y Agudelo, F. 2007. Natural Enemies Of The Avocado Lace Bug, *Pseudacysta perseae* (Heteroptera: Tingidae) In Florida, USA. In *Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate), Chile*. 12-16 pp.
- Pinto, J. D 1993. Correct application of the nominal genus *Brachista* Walker (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Proceeding of the Entomological Society of Washington 95: 298-299.
- Ríos, V. C., Cambero C., J., Valenzuela G., R., Gallegos M., G., Carvajal C., C. R. & Aguirre, U. L. 2011. Biological Activity of Hyphomycete Entomopathogenic fungi against *Gynaikothrips uzeli* (Thysanoptera: Phlaeothripidae). Florida Entomologist, 94: 1060-1062.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- SAGARPA-SIAP, 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultada 10 de Agosto 2014. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado>.
- Statistics Division on the Food and Agriculture Organization (FAOSTAT, 2012). Disponible en línea: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor> Consultado el 11 de junio de 2013.
- Urias, M.; Salazar, S. y Johansen R. 2007. Identificación y fluctuación poblacional de especies de trips (Thysanoptera) en aguacate Hass en Nayarit, México. Rev. Chapingo Serie Hort. 13 (1): 49-54.



ENTOMOFAUNA DEPRIDADORA DE CÍTRICOS EN LA REGION NORORIENTAL DEL ESTADO DE PUEBLA

Carolina Sánchez-Aguilera. **Héctor García-Roldán**. Programa de Ingeniería en Agronomía, Decanato de Ciencias Biológicas, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, A. C. 21 Sur 1103, Col. Santiago, C.P. 72410. Puebla, Pue. Fax (222) 232-52-51. Teléfono (222) 229-94-00 Ext. 7423 carolina.sanchez@upaep.mx

Resumen. La investigación de insectos depredadores en Cítricos se realizó en tres municipios de la Región Nororiental del estado de Puebla. Siendo Acateno, Hueytamalco y Tenampulco. Se realizaron recolectas quincenales de insectos presentes en las plantaciones de cítricos durante los meses de Agosto del 2013 al mes de Julio del 2014, se evaluaron los Ordenes Hemiptera, Coleoptera, Neuroptera y Díptera. Con las Familias Reduviidae, Pentatomidae, Coccinellidae, Chrysopidae, Hemerobiidae, Mantispidae, Dolichopodidae y Syrphidae. Y los Géneros *Apiomeris*, *Zelus*, *Repipta*, *Euthyrrhynchus*, *Perillus*, *Sinea*, *Azya*, *Scymnus*, *Delphastus*, *Stethorus*, *Axion*, *Chilocorus*, *Harmonia*, *Curinus*, *Cycloneda*, *Brachiacantha*, *Thalassa*, *Chrysoperla*, *Ceraeochryza*, *Hemerobius*, *Nolima*, *Condylostylus*, y *Allograpta*. Los géneros *Repipta*, *Zelus*, *Apiomeris*, *Azya*, *Stethorus*, *Ceraeochrysa* y *Condylostylus* resultaron los más abundantes. La especie de mayor potencial como depredadoras fueron la “Catarina” *Azya orbiger* (Mulsant) y la “chinche” *Repipta*.

Palabras Clave: Entomofauna, depredadora, Cítricos, nororiental, Puebla.

Introducción

La problemática nacional conocida como HLB ó Huanglongbing en la producción de cítricos, desafortunadamente tiende a incrementarse. Dicha situación se ve favorecida por el desconocimiento del Manejo Integral del insecto vector conocido como “psílido asiático” *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Homoptera: Psyllidae). Una de las Estrategias de Manejo, corresponde al uso de Control Biológico en el que se ha implementado con éxito en la costa del Pacífico, la liberación de la avispa parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae), sin embargo aún persiste el desconocimiento de la entomofauna depredadora en los cítricos. Afortunadamente el estado de Puebla se localiza en el área de transición de las dos regiones biogeográficas del país, de tal forma que presenta una gran diversidad de entomofauna depredadora que es prácticamente endémica y que constituyen un reto para la ciencia el que sea determinada, evaluada y difundida en el ámbito estatal y nacional. Por consiguiente resulta prioritario conocer los insectos depredadores que sin duda están ejerciendo un control natural en los Agroecosistemas (Ortega y Sánchez 2013). Por ende se generó la presente investigación que se enfocó a desarrollar objetivos de corto y mediano plazo que sin duda propiciarán que disminuya el impacto económico del insecto vector.

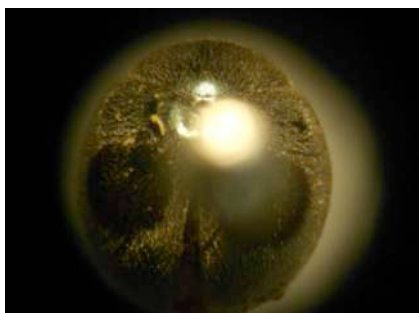
Materiales y Métodos



La presente investigación estuvo enfocada a la Sierra Nororiental del estado de Puebla, evaluando tres municipios que son: Acateno, Hueytamalco y Tenampulco. Trabajo de campo. Se realizaron recolectas quincenales de insectos presentes en las plantaciones de cítricos durante los meses de Agosto del 2013 al mes de Julio del 2014, para la recolecta de insectos, obtención de datos de campo e imágenes de los mismos a través de una cámara digital. Trabajo de Laboratorio. El material vivo fue transferido a envases de plástico que contenían alcohol al 70% o cajas y bolsas de plástico que facilitara su observación. El material recolectado se procedió al montaje e identificación con la ayuda del microscopio estereoscópico y claves de identificación (Gordon, 1993; Slater y Baranowsky 1978). Así también se realizó el etiquetado e integración de los ejemplares a la Colección Entomológica de la UPAEP. Se obtuvieron las imágenes de los ejemplares en cuestión con el apoyo de una cámara digital.

Resultados y Discusión

Fueron examinados ejemplares pertenecientes a 4 órdenes, 8 familias y 23 géneros pertenecientes a los Órdenes: Hemiptera, Coleóptera, Neuróptera y Díptera. A las Familias Reduviidae, Pentatomidae, Coccinellidae, Chrysopidae, Hemerobiidae, Mantispidae, Dolichopodidae y Syrphidae. A los Géneros *Apiomeris*, *Zelus*, *Repipta*, *Euthyrrhynchus*, *Perillus*, *Sinea*, *Azya*, *Scymnus*, *Delphastus*, *Stethorus*, *Axion*, *Chilocorus*, *Harmonia*, *Curinus*, *Cycloneda*, *Brachiacantha*, *Thalassa*, *Chrysoperla*, *Ceraeochrysa*, *Hemerobius*, *Nolima*, *Condylostylus*, y *Allograpta*. Predominó la diversidad de insectos depredadores, específicamente de “catarinas, chinches y crisopas”. Los géneros *Repipta*, *Zelus*, *Apiomeris*, *Azya*, *Stethorus*, *Ceraeochrysa* y *Condylostylus* resultaron los más abundantes. La especie de mayor potencial como depredadoras fueron la “Catarina” *Azya orbigera* (Mulsant) y la “chinche” *Repipta*. Dichas especies son consideradas a continuación:



Azya orbigera (Mulsant)



Repipta sp.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Agradecimientos

Al Comité de Investigación de la Universidad, a través del Proyecto 21601-1111. Agradezco el apoyo brindado por los alumnos: Héctor García Roldán y Alejandra Celorio Báez, del Programa de Ingeniería en Agronomía.

A la LCC Ingrid J. Aguilar Gómez por la obtención de las fotografías de los insectos.

Literatura Citada

- Gordon, R.D. 1993. The Coccinellidae (Coleoptera) of América North of Mexico. J. New York Entomol.Soc. 93 (1): 912 pp.
- Ortega-León G. y C. Sánchez. 2013. Guía Fotográfica de la Subfamilia Asopinae (Pentatomidae) Para México. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla A.C. 99 pp.
- Slater, J. A., and R.M. Baranowsky. 1978. How to Know the True Bugs. Dubuque, Iowa: Wm.C. Brown, 256 pp.



TRES PLANTAS MEDICINALES PROMISORIAS COMO RESERVORIO DE ORGANISMOS ENTOMÓFAGOS EN EL SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO.

Rebeca Peña-Martínez², **Roberto A. Terrón-Sierra**¹, Silvia Rodríguez-Navarro¹ Ana Lilia Muñoz-Viveros³ y Román Martínez-Rosas⁴. ¹Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso No 1100, Colonia Villa Quietud, Coyoacán, D.F., CP 04960, MÉXICO. ²ENCB-IPN. Prolongación Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Casco de Santo Tomás, D.F. C.P. 11340, MÉXICO. ³Laboratorio de Control de Plagas, FES-Iztacala-UNAM. Av. de los Barrios No. 1, Los Reyes Tlalneptla, Edo. Méx. 54090. ⁴Laboratorio de Entomología y Acarología del CNRF, DGSV, Guillermo Pérez Valenzuela 127. Col. Del Carmen Coyoacán, DF, CP 04100. regecaphis@hotmail.com

Resumen. Las plantas hospederas, sus insectos fitófagos y los organismos que regulan sus poblaciones, son elementos esenciales de un agro-ecosistema, por lo que los objetivos de este estudio fueron actualizar y continuar con el reconocimiento de las especies de artrópodos asociados al ajeno, *Artemisia absinthium* (ASTERACEAE); menta hierbabuena, *Mentha spicata* L. var. Tashkent y marrubio, *Marrubium vulgare* (LAMIACEAE) que actúan como fitófagos, sus enemigos naturales y sus periodos de ocurrencia en el predio agrícola “Las Ánimas” en Tulyehualco Xochimilco, D. F., donde se realizaron colectas y observaciones sobre estas plantas, en algunos periodos entre los años 2001 a 2012, y abril de 2013. En el predio del CIBAC esta metodología se llevó a cabo mediante una visita mensual sobre plantas de ajeno en los meses de septiembre de 2011, febrero y marzo de 2012 y enero de 2013. La información obtenida confirma que estas tres plantas medicinales constituyen un recurso alimenticio para organismos fitófagos; menta hierbabuena contribuye con el mayor número de especies de este tipo y, en conjunto con marrubio y ajeno constituyen el alimento y refugio de 69 especies de artrópodos: 36 fitófagos, 33 de enemigos naturales y una especie de hongo Entomoforal aportados en su mayor parte por Ajeno. La mayor parte de las especies fitófagas de insectos se presentaron en el área de estudio entre julio y septiembre y las entomófagas se presentan la mayor parte del año especialmente las especies de coccinélidos depredadores, por lo que estas tres especies de plantas medicinales constituyen un recurso recomendado para su inclusión en paquete y cuyo estudio detallado debe continuarse para su posible utilización sistemática incorporado en agro-ecosistemas para favorecer la presencia de artrópodos benéficos.

Palabras clave: Artrópodos, Fitófagos, Enemigos naturales, Plantas medicinales

Introducción

Uno de los componentes principales de la biodiversidad de los ecosistemas corresponde al complejo de plantas hospederas, insectos fitófagos y organismos que regulan a las poblaciones de fitófagos (Saiz *et al.*, 2000).

El ajeno, *Artemisia absinthium*; la menta *Mentha spp.* y el marrubio, *Marrubium vulgare*, se encuentran entre las 568 malezas exóticas introducidas a México (Espinoza-García, 2000); introducción realizada por el hombre con fines de aprovechamiento medicinal, debido a sus propiedades terapéuticas (Giuseppe *et al.*, 1985; Muñoz-López, 2002).



En el predio agrícola de “Las Ánimas” Xochimilco D.F., que en realidad se encuentra en una zona suburbana, se han realizado estudios con el interés de conocer a las especies de artrópodos fitófagos y sus enemigos naturales presentes en plantas herbáceas como los quelites (Terrón *et al.*, 2008) y medicinales como son ajenjo, *Artemisa absinthium* (Díaz de Cossío *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2008; Peña-Martínez *et al.*, 2008a, Peña-Martínez *et al.*, 2008b; Peña-Martínez *et al.*, 2013); belladona, *Atropa belladonna* (Terrón *et al.*, 2003); el marrubio, *Marrubium vulgare* L., (Peña-Martínez *et al.*, 2009; Terrón *et al.*, 2011) y la menta, *Mentha* spp. (Peña-Olmos *et al.*, 2003), Menta hierbabuena, *Mentha spicata* L. var. Tashkent (López-Rosas *et al.*, 2009 y López-Rosas *et al.*, 2010) asimismo un estudio sobre coccinélidos presentes en diversas plantas medicinales incluyendo ajenjo, marrubio y menta (Martínez, 2007). El objetivo de este trabajo fue reconocer el papel que presentan tres especies de plantas medicinales como fuentes de alimentación y refugio de insectos nocivos, benéficos y sus periodos de ocurrencia en los agrosistemas del sur de la ciudad de México.

Materiales y Métodos

La primera área de estudio corresponde al predio agrícola “Las Ánimas” en Tulyehualco, Xochimilco, a cargo de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Se localiza en la parte baja del lado norte del volcán Tehutli, a una altura de 2300 msnm. El clima es C (w), templado subhúmedo con lluvias en verano, en los meses de mayo a octubre. La precipitación anual varía de 800 a 1500 mm, y la temperatura media anual es de 16.2 °C, con una máxima de 31 °C (De León *et al.*, 2000). La segunda área de estudio se refiere al predio agrícola del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC). Es un campo experimental, localizado en la Delegación Xochimilco, D. F. que pertenece a la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco. Sus coordenadas son 19°16' norte y 99°06' oeste. La altitud es de 2221 msnm. Presenta un clima templado y heladas en invierno con una temperatura máxima de 23°C, la mínima de 7 °C y una precipitación media anual de 56.6 mm, donde crecen algunas arvenses y se han sembrado ornamentales, algunos frutales, hortalizas y medicinales (Terrón *et al.*, 2012). En el predio Las Ánimas se realizaron recolectas y observaciones a cielo abierto, de manera semanal, quincenal o mensualmente entre las 10:00 y 11:00 horas, sobre plantas o manchones de plantas de marrubio, ajenjo y menta, dispersos en el predio. Los periodos de estudio fueron durante la época de lluvias (mayo-septiembre) asimismo durante octubre y noviembre del año 2001 al 2012 y abril de 2013. En el predio del CIBAC esta metodología se llevó a cabo mediante una visita mensual, únicamente sobre plantas de ajenjo en los meses de septiembre de 2011, febrero y marzo de 2012 y enero de 2013. Algunos de los mejores ejemplares fueron montados en laminillas o en alfileres, fueron determinados por especialistas del Instituto de Biología de la UNAM y por los autores y depositados en las Colecciones respectivas. Posteriormente, la información se capturó en una base de datos del programa Excel.

Resultados y Discusión

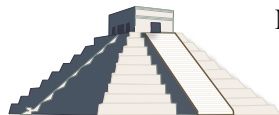


Como resultado de recolectas y observaciones se obtuvieron cerca de 8000 individuos, con la mayor frecuencia en menta hierbabuena. En total se determinaron 36 especies de artrópodos fitófagos, 35 de la clase Insecta y una de la clase Acari (Cuadro 1). La planta que presentó el mayor número de especies fitófagas fue menta hierbabuena, seguida por marrubio y ajeno. En este grupo predominan los Hemiptera de hábitos fitófagos por succión, seguidos por Thysanoptera, además de dos especies de Coleoptera, una de Orthoptera y una de Lepidoptera. Esto concuerda con lo señalado por Saiz *et al.* (2000) para los artrópodos asociados con un gran grupo de plantas herbáceas y arbustivas en diversas zonas ecológicas del norte de Chile, donde Hemiptera (incluidos antiguos Homoptera) y Thysanoptera contribuyeron con el mayor número de morfoespecies y número de ejemplares colectados.

Los enemigos naturales que posiblemente regulan a los insectos fitófagos son 33 especies que pertenecen a tres clases de artrópodos: Acari, Araneae e Insecta (Cuadro 2). Acari estuvo representada por la familia Erythraeidae con un género y una especie, Araneae con la familia Thomisidae con un género y una especie; La clase Insecta la representan 30 especies entomófagas de diversos taxa, de los cuales el que presenta la mayor riqueza específica son depredadores generalistas de la familia Coccinellidae (Coleoptera), la mayor parte de las especies son compartidas entre ajeno y menta hierbabuena. Ajeno contribuye con el mayor número de especies de enemigos naturales, seguido por marrubio y menta.

Cuadro 1. Insectos y ácaros fitófagos en Ajeno *Artemisa absinthium* L. (AJ) Menta *Mentha* (MT) y marrubio, *Marrubium vulgare* (MB) en Las Ánimas, Tulyehualco, D. F., México.

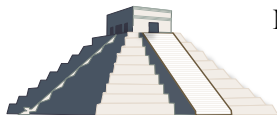
Nombre Común	Nombre Científico	AJ	MT	MB	Familia	Orden
FITÓFAGOS						
Pulgón críptico	<i>Cryptomyzus ballotae</i> H. R. L.			X	Aphididae	Hemiptera
Pulgón ajeno	<i>Macrosiphoniella absinthii</i> (L.)	X			Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Macrosiphoniella artemisiae</i> (Boyer de Fonscolombe)	X			Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer)			X	Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Ovatus mentharius</i> Van der Goot		X		Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Myzus ornatus</i> Laing			X	Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Aphis fabae</i> Scopoli			X	Aphididae	Hemiptera
Pulgón	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas)			X	Aphididae	Hemiptera
Chinche negra	<i>Stenomacra marginella</i> H.S.	X	X	X	Pyrrhocoridae	Hemiptera
Chinche	<i>Chlamydatus associatus</i> Uhler	X	X		Lygaeidae	Hemiptera
Chinche ligus	<i>Lygus</i> sp.		X		Miridae	Hemiptera
Chinche	<i>Nysius ericae</i> Schill		X		Lygaeidae	Hemiptera
Chinche ajonjolí	<i>Cyrtopeltis</i> sp.		X		Miridae	Hemiptera
Chinche	<i>Agonoscelis puberula</i> Stal			X	Pentatomidae	Hemiptera
Chinche	<i>Cosmopepla decorata</i> (H.)		X	X	Pentatomidae	Hemiptera
Chinche negra	<i>Sehirus cinctus cinctus</i> (Palisot de Beauvois)			X	Cydnidae	Hemiptera
Chicharrita	<i>Empoasca solana</i> DeLong		X	X	Cicadellidae	Hemiptera
Chicharrita	<i>Paraphlepsius irroratus</i> Say		X		Cicadellidae	Hemiptera



Chicharrita	<i>Draeculacephala</i> sp.		X		Cicadellidae	Hemiptera
Psílido	<i>Paratrioza cockerelli</i> (Sulc)		X		Psyllidae	Hemiptera
Chapulín	<i>Sphenarium purpurascens</i> Charpentier	X	X	X	Acrididae	Orthoptera
Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande)	X		X	Thripidae	Thysanoptera
Trips	<i>F. siringae</i> Moulton	X		X	Thripidae	Thysanoptera
Trips	<i>F. minuta</i> (Moulton)	X		X	Thripidae	Thysanoptera
Trips	<i>F. brunnescens</i> Priesner	X		X	Thripidae	Thysanoptera
Mariposita blanca de col	<i>Leptophobia aripa</i> (Boisduval)	X		X	Pieridae	Lepidoptera
Conchuela frijol	<i>Epilachna varivestis</i> Mulsant	X		X	Coccinellidae	Coleoptera
Gusano alambre	<i>Conoderus</i> sp.	X	X	X	Elateridae	Coleoptera
Picudo	<i>Trichapion</i> sp.		X		Curculionidae	Coleoptera
Picudo	<i>Apion godmani</i> Wagner		X		Curculionidae	Coleoptera
Gusano peludo	<i>Estigmene acrea</i> Drury		X		Arctidae	Lepidoptera
Pulga azul	<i>Altica torquata</i> JL Leconte		X		Chysomellidae	Coleoptera
Diabrotica	<i>Diabrotica virgifera zea</i> Le Conte		X		Chysomellidae	Coleoptera
Diabrotica	<i>D. undecimpunctata</i> Howard		X		Chysomellidae	Coleoptera
Gorgojo	<i>Necrobia</i> sp.		X		Cleridae	Coleoptera
Araña roja	<i>Tetranychus</i> sp.		X		Tetranychidae	*Acari
	<i>TOTAL</i>	12	21	18		

Cuadro 2. Insectos y ácaros entomófagos en Ajenjo *Artemisa absinthium* L. (AJ) menta *Mentha* (MT) y marrubio, *Marrubium vulgare* (MB) en Las Ánimas, Tulyehualco, D. F., México.

Depredadores	ENEMIGOS NATURALES					
Nombre Común	Nombre Científico	AJ	MT	MB	Familia	Orden
Araña cangrejo	<i>Misumena</i> sp.			X	Thomisidae	Araneae
Chinche pirata	<i>Orius thyestes</i> Herring	X	X		Anthocoridae	Hemiptera
Chinche pirata	<i>Orius</i> sp.		X		Anthocoridae	Hemiptera
Chinche asesina	<i>Zelus longiceps</i> (L.)			X	Reduviidae	Hemiptera
Chinche nabis	<i>Nabis</i> sp.			X	Nabidae	Hemiptera
Catarina asiática	<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas)	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
Catarina emarginada	<i>Cycloneda emarginata</i> (M.)	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
Catarina roja	<i>Cycloneda sanguinea</i> Linnaeus	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
Catarina convergente	<i>Hippodamia convergens</i> Güerin-Meneville	X	X	X	Coccinellidae	Coleoptera
Catarina	<i>Hippodamia koebelei</i> Timberlake	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
C. dos manchas	<i>Adalia bipunctata</i> (L.)	X		X	Coccinellidae	Coleoptera
C. nugatoria	<i>Coccinella</i> sp. aff. <i>C. n. nugatoria</i> M.			X	Coccinellidae	Coleoptera
Catarina ola	<i>Olla v- nigrum</i> (Mulsant)			X	Coccinellidae	Coleoptera
Catarina 7 manchas	<i>Coccinella septempunctata</i> L.			X	Coccinellidae	Coleoptera
Catarinita	<i>Scymnus loewii</i> Musant	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
Catarinita	<i>Scymnus huachuca</i> Gordon	X	X		Coccinellidae	Coleoptera
Catarinita	<i>Scymnus</i> sp.	X			Coccinellidae	Coleoptera
Escarabajo colops	<i>Collops vittatus</i> Say	X	X		Malachidae	Coleoptera



Mosca ladrona	<i>Efferia argyrosoma</i> Hine	X	X		Asilidae	Diptera
Falsa abeja	<i>Didea fasciata</i> Macquart	X	X		Syrphidae	Diptera
Crisopa	<i>Chrysoperla</i> sp.	X	X		Chrysopidae	Neuroptera
Hemeróbido	<i>Hemerobius</i> sp.	X			Hemerobidae	Neuroptera
Mosca sirfida	<i>Allograpta oblicua</i> Say	X			Syrphidae	Diptera
Dolicopódido	<i>Condylostylus</i> sp.	X	X		Dolicopódido	Diptera
Mosca "midge"	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> (Rondani)	X			Cecidomyiidae	Diptera
Fitoseido	<i>Neoseiulus</i> sp.	X	X		Phytoseiidae	Acarida
Ácaro rojo	<i>Balaustium</i> sp.			X	Erythraeidae	Acarida
Parasitoides						
Avispita	<i>Euplectrus plathypenea</i> H.			X	Eulophidae	Hymenoptera
Avispita	<i>Diaeretiella</i> sp.			X	Aphidiidae	Hymenoptera
Avispita	<i>Aphidius smitbi</i> Sharma & Subba Rao			X	Aphidiidae	Hymenoptera
Avispita	<i>Aphidius</i> sp.			X	Aphidiidae	Hymenoptera
Avispita	<i>Copidosoma truncatellum</i> D.			X	Encyrtidae	Hymenoptera
Patógenos						
Hongos	<i>Pandora neoaphidis</i> (Remaudière & Hennebert) Humber	X			Entomophthorales	Entomophthoraceae
TOTAL		20	15	14		

La mayor parte de las especies fitófagas de insectos se presentaron en el área de estudio entre julio y septiembre (Terrón-Sierra *et al.*, 2011) y las entomófagas comprenden la mayor parte del año especialmente las especies de coleópteros coccinélidos (Martínez, 2007). Los coleópteros coccinélidos constituyen la familia con mayor diversidad y representan entre 40% y 60% de los enemigos naturales asociados al marrubio, menta y ajeno y entre las cuales *H. convergens*, *H. axyridis* y *C. emarginata* son las especies que forman parte del control natural de especies de áfidos monófagas y polífagas asociadas a estas plantas medicinales.

Conclusiones

Las tres especies de plantas medicinales estudiadas constituyen reservorios de 36 especies de artrópodos fitófagos y 33 especies de hábitos entomófagos, por lo que constituyen un recurso que puede ser incorporado de una manera sistemática en agroecosistemas para favorecer la presencia de artrópodos benéficos. Además en el área de estudio existe un gran potencial para explorar la naturaleza de las interacciones entre grupos de plantas y el diverso conjunto de afidófagos nativos presentes y sus enemigos naturales; aspectos tales como constitución física y química de las plantas sobre los insectos presentes, preferencias alimenticias, competencia, dominancia, mutualismo, entre otras, que eventualmente aportarían conocimientos básicos sobre el control natural y biológico de plagas, además de elementos para proponer la conservación de los afidófagos nativos, que predominaron en el área de estudio.



Agradecimientos

Al proyecto “Artrópodos asociados a plantas medicinales, arvenses y sus enemigos naturales en el sur de la ciudad de México”, del Área de Investigación “Sistemas Agrícolas en Condiciones Limitantes de Producción”, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. A los especialistas, M. en C. Cristina Mayorga y Dr. Roberto Johansen del Instituto de Biología, UNAM.

Literatura citada

- De León, G. F., Hernández, M. S., Etchevers, J. D., Payán, Z. F., Ordaz, C. V. 2000. Short-term compost effect on macroaggregation in a sandy soil under low rainfall in the valley of Mexico. *Soil and Tillage Research* 56: 213-217.
- Díaz de Cossio, C., A., I., Terrón Sierra R. A., Mejía R. F. y Fierro A. A. 2007. *Macrosiphoniella absinthii* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae). Fluctuación y estructura poblacional en ajeno, *Artemisia absinthium*, en “Las Ánimas”, Tulyehualco, Distrito Federal. *Entomología Mexicana* 6(1): 314-319.
- Espinosa-García, F. J. 2000. Malezas introducidas en México. Universidad Nacional Autónoma de México. Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. U024. México D. F.
- Giuseppe, G., Negri, G. y Capelletti, C. 1985. Tratado de botánica. Editorial Labor, 4ª Edición, Italia. P 988-990.
- Hernández, M. S., Peña-Martínez, R., Terrón-Sierra, R. A. 2008. Abundancia de Coccinélidos en tres plantas medicinales en “Las Ánimas” Tulyehualco, Xochimilco, D. F. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Control Biológico*, Nov. 2008, Zacatecas, Zac. Pp. 209-302.
- López-Rosas, F. J., Rodríguez-Navarro, S. y Terrón-Sierra, R. A. 2009. Artrópodos asociados al cultivo de hierbabuena (*Mentha spicata* L. var. Taskent) en el predio “Las Ánimas”, Tulyehualco, D.F. *Entomología Mexicana* 8: 1039-1043.
- López-Rosas, F. J., Rodríguez-Navarro, S., Terrón-Sierra, R. A. y Flores-Macías, A. 2010. Importancia de los enemigos naturales asociados a insectos fitófagos en (*Mentha spicata* L. var. Taskent) en Tulyehualco, D. F. *Entomología Mexicana* 9: 178-182.
- Martínez, R. R. 2007. Coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) del predio “Las Ánimas”, Xochimilco, DF. México. Tesis Profesional Biólogo. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México. Pp 8-7 y 20-23.
- Muñoz-López, F., 2002. Plantas Medicinales y Aromáticas Estudio Cultivo y procesado., Ed. Mundi- prensa. p 81-84, 103-106.
- Peña-Olmos, L., Peña-Martínez, R., Terrón-Sierra, R., Rodríguez-Navarro, S., Montoya D. G. y Fierro, A. A. 2003. Afidófagos asociados a *O. mentharius* (Van der Goot) (Homoptera: Aphididae) sobre *Mentha* spp., en “Las Ánimas”, Tulyehualco, D. F. En: *Memorias del XXVI Congreso Nacional de Control Biológico*: 364-367.
- Peña-Martínez, R., Muñoz-Viveros, A. L. y Terrón-Sierra, R. A. 2008a. Registros de tres especies de áfidos (Hemiptera: Aphididae) asociados a plantas medicinales en México. *Entomología Mexicana* 7: 969-973.
- Peña-Martínez, R., Hernández, M. S. y Terrón-Sierra, R. A. 2009. El pulgón del manrubio, *Cryptomyzus ballotae* (Hille Ris Lambers), fluctuación y estructura poblacional en Xochimilco, D. F. México. *Entomología Mexicana* 8: 631-635.
- Peña-Martínez, R., Terrón-Sierra, R. A., Escudero, G. y Hernández, M. S. 2008b. Afidófagos y sus enemigos naturales asociados a pulgones en plantas medicinales en Las Ánimas, Tulyehualco, Xochimilco, D. F. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Control Biológico Zacatecas, Zac.* Pp. 302-330.
- Peña-Martínez R., R. A. Terrón-Sierra y Andrés Fierro-Álvarez 2013. Enemigos naturales del pulgón del ajeno europeo, *Macrosiphoniella absinthii* (L.), en las Ánimas, Tulyehualco, Distrito Federal, México. En *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Oaxaca, Oaxaca*: 187- 190.
- Saiz, F., Yates, L., Núñez, C., Daza, M., Varas, M. E. y Vivar, C. 2000. Biodiversidad del complejo de artrópodos asociados al follaje de la vegetación del norte de Chile II región. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 671-692.
- Terrón-Sierra, R. A., Rodríguez-Navarro, S., Peña-Martínez, R., Montoya, D. G. y Fierro Á. A. 2003. Insectos y ácaros asociados a belladona (*Atropa belladonna* L.) bajo condiciones de invernadero en “Las Ánimas”,



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Tulyehualco, D. F. X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, Univ. Autónoma de Chapingo, 20-24 octubre. En: Memorias del X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas. Pp. 72.
- Terrón, S., R., Peña-Martínez, R., Rodríguez-Navarro, S. y Fierro, A. A. 2008. Insectos y ácaros asociados a quelite cenizo, *Chenopodium album* L. (Chenopodiaceae); quelite colorado, *Amaranthus hybridus* L. (Amaranthaceae) en Las Ánimas, Tulyehualco, Distrito Federal, México. Folia Entomológica Mexicana 47(1): 9-20.
- Terrón-Sierra, R. A., Peña-Martínez, R., Rodríguez-Navarro, S. y Fierro Á. A. 2011. Enemigos naturales de artrópodos fitófagos en marrubio, *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) en las Ánimas, Tulyehualco, Distrito Federal, México. En: Memorias del XXXIV Congreso Nacional de Control Biológico, Monterrey, Nuevo León. Pp 235-239.



ACTIVIDAD FITÓFAGA DE *Nesidiocoris Tenuis* (HEMIPTERA: MIRIDAE) EN CULTIVOS DE JITOMATE EN EL SUR DE TEXAS

Gabriela Esparza-Díaz¹, y **Raúl T. Villanueva**¹, ¹Texas A&M AgriLife Extension Service, 2401 East Highway 83, Weslaco, Texas 78596, USA, rtvillanueva@ag.tamu.edu

Resumen. Este estudio describe la actividad fitófaga de *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) en el sur Texas. *Nesidiocoris tenuis* causa deformación de hojas, elongación de tallos en *S. lycopersicum*, necrosis en tallos y flores y posterior caída de flores debido a la alimentación del insecto. La mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) presa conocida de *N. tenuis* estuvo ausente durante la mayor parte de este estudio, observándose solamente 0.14 ± 0.07 ninfas/hoja en febrero 2014 mientras la población de *N. tenuis* disminuía. *Solanum lycopersicum* es importante en la dieta de *N. tenuis* en ausencia de presa.

Palabras claves: zoofitófago, insecto invasivo, *Solanum lycopersicum*

Introducción

Nesidiocoris tenuis Reuter (Hemiptera: Miridae) es comercializado como enemigo natural de mosquitas blancas en Europa y otros países alrededor del mar Mediterráneo. Sin embargo este insecto, a pesar de tener un comportamiento depredador, es fitófago en ausencia de sus presas. La presencia de *N. tenuis* fue recientemente reportada en las Islas Canarias (Stansly *et al.*, 2004). En Egipto, *N. tenuis* fue observado depredando la polilla del jitomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) (El-Arnaouty & Kortam, 2012; Mass 2012). En municipio Hidalgo, Texas se documentó las densidades de la población de *N. tenuis* en los cultivos de jitomate (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annuum*), calabaza (*Cucurbita* sp., Cucurbitaceae) y okra (*Abelmoschus esculentus*, Malvaceae) (Esparza-Díaz *et al.* 2014). El objetivo de este estudio fue ampliar el daño causado por la actividad fitófaga de *N. tenuis* en *S. lycopersicum*, estimar la abundancia de *N. tenuis*, establecer la relación con su presa la mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) y evaluar su establecimiento en tres variedades de *S. lycopersicum*.

Materiales y Métodos

La estimación de la población de *N. tenuis* fue estudiada en dos campos de *S. lycopersicum*, un experimental en la localidad La Blanca (experimental La Blanca) y otro comercial en la localidad Pharr (comercial-Pharr), ambos en el condado de Hidalgo, Texas. Los conteos foliares de *N. tenuis* fueron estimados con el método visual y sacudida de follaje (agitación o movimiento de la planta; Boyer & Dumas, 1963). Este método consistió en sacudir por 5 veces la parte foliar de la planta y contar los insectos que caían en la superficie de una tapa plástica blanca con dimensiones 21 x 35 cm y 735 cm² de área. El método visual se utilizó en el campo experimental -La Blanca y el método de sacudida de follaje en el campo comercial -Pharr. En el campo experimental - La



Blanca además de estimar la población de *N. tenuis* se observaron los daños por la alimentación en tallos en la planta. Dieciocho días previos al estudio (en setiembre 30, 2013) en este campo se aplicó 595 ml/ ha de insecticida esfenvalerato (Asana[®] XL). El campo comercial de Pharr está ubicado aproximadamente 10 Km al sur del campo La Blanca.

La incidencia de *N. tenuis* y *B. tabaci* fue estudiada en un segundo campo experimental de Texas A&M AgriLife Research and Extension Center en Weslaco. Los conteos de ninfas de *B. tabaci* se realizaron en hojas transportadas al laboratorio y usando un estereoscopio binocular. En el conteo de *N. tenuis* se aplicó el método de sacudida de plantas descrito anteriormente. Las poblaciones de ambas especies fueron estudiadas en tres variedades de *S. lycopersicum*, una variedad comercial resistente a enfermedades (Charger F1), una susceptible comercial (Non-GMO Crimson Sprinter), y otra variedad experimental (T5) resistente al virus del rizado amarillo del tomate (siglas en inglés TYLCV). Cada variedad fue establecida en un surco de 25 m de largo y 203 cm de ancho, con cubierta de polipropileno, además se sembró una hilera de sorgo a cada lado del acolchado. En cada fecha se muestrearon 5 plantas y 5 hojas por variedad para *N. tenuis* y *B. tabaci*, respectivamente; este muestreo se replicó tres veces en cada fecha. La variable fue el número de insectos de *N. tenuis* por sacudida por planta y el número de ninfas de *B. tabaci* por hoja. Los datos fueron analizados con ANOVA y las diferencias fueron estimadas con LSD ($p < 0.05$).

Resultados y discusión

Nesidiocoris tenuis fue previamente reportado en cultivos de tomate en el sur de Texas en 2013, y su identidad fue conformada por el Dr. Thomas J. Henry (Systematic Entomology Laboratory, USDA-ARS) (Esparza-Díaz *et al.*, in press). En este estudio se reporta los daños ocasionados por la alimentación de *N. tenuis* en *S. lycopersicum* en el campo experimental-La Blanca. El daño ocasionado por *N. tenuis* se caracterizó por deformación foliar y reducción del tamaño de las hojas, particularmente del ancho de las mismas. Además en este estudio se observó una elongación del tallo y manchas necróticas en sectores del tallo donde el insecto se alimentó (Figuras 1a y 1b). *Nesidiocoris tenuis* también provocó caídas en flores de *S. lycopersicum*. En un campo orgánico de *S. lycopersicum* en diciembre 2013, se constató una completa reducción de la cantidad de frutos como consecuencia del aborto de flores (R. T Villanueva, experiencia personal), este daño fue previamente reportado por otros autores (Arnó, Castañé, Riudavets, & Gabarra, 2010). Asimismo Esparza-Díaz *et al.* (in press) describieron un engrosamiento y deformación de la nervadura central de la hoja de *Capsicum annuum* sin daños visibles por la alimentación de *N. tenuis* en la lámina foliar. También se observaron abundantes números de *N. tenuis* en hojas y flores de *Cucurbita sp.* y *Abelmoschus esculentus* pero daños en hojas o flores no fueron observados. En este estudio, *N. tenuis* mostró una marcada preferencia por *S. lycopersicum*.

Las densidades poblacionales de *N. tenuis* estimada en los dos campos de jitomate se consideraron altas. En el campo experimental-La Blanca, la población de *N. tenuis* fue alta durante la mayor parte de octubre en 2013 a pesar de que dieciocho días antes se había aplicado



insecticida. En este campo, las poblaciones de *N. tenuis* disminuyeron a finales de octubre y sin embargo por la segunda semana de noviembre *N. tenuis* empezó a reaparecer (Figura 2a). Mientras en el campo comercial-Pharr, la población de *N. tenuis* tuvo su punto más bajo a finales de octubre (Figura 2a); y en el campo comercial de Pharr las poblaciones de *N. tenuis* fueron más altas a comienzos de noviembre, en este último campo se observó un daño foliar mínimo ocasionado por la alimentación de *N. tenuis*. Tampoco se observó la presencia de *B. tabaci*. La diferencia en estos dos campos posiblemente fue debido al distinto manejo del cultivo, deferencias varietales o las diferencias en la etapa fenológica del cultivo.



Figura 1. Daño causado por *Nesidiocoris tenuis* debido a su actividad fitófaga en (a) *S. lycopersicum* (elongación de tallos) y (b) acercamiento de daños necróticos en tallos de jitomate.

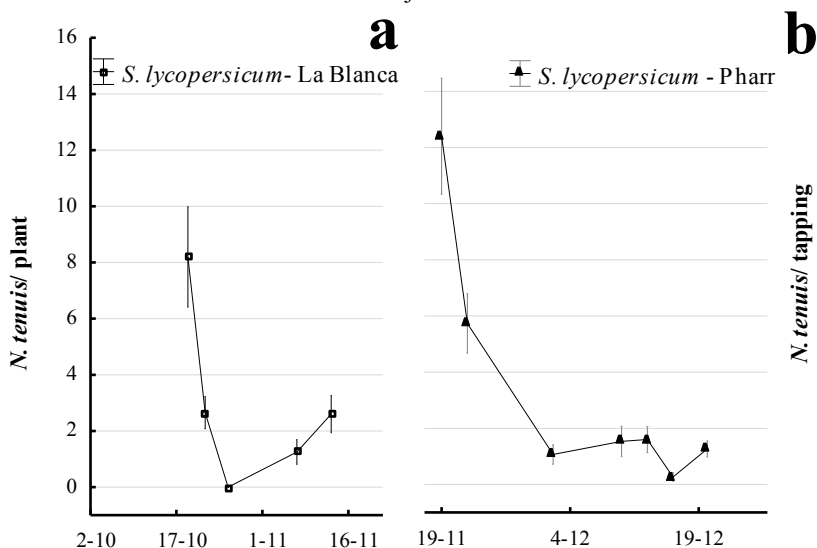


Figura 2. Media (\pm SEM) del número de *Nesidiocoris tenuis* por fecha en *Solanum lycopersicum* en: (a) La Blanca, Hidalgo Co. (conteos fueron hechos en toda la planta); y (b) en la localidad de Pharr, Hidalgo Co., TX (sacudiendo plantas)



La incidencia de *N. tenuis* y *B. tabaci* se estudió en el campo experimental-Weslaco. Inicialmente la población de *N. tenuis* tuvo su punto más abundante mientras que la población de *B. tabaci* fue casi nula. Sólo se observaron 0.14 ± 0.07 *B. tabaci* ninfas/hoja hasta mediados de febrero del 2014 (Figura 3a) momento cuando la población de *N. tenuis* ya había declinado. La ausencia de *B. tabaci* en casi todo el estudio pudo ser debido a condiciones climáticas (baja temperatura y lluvias frecuentes) o por la presencia de *N. tenuis* (Figura 3a), >12 y >4 *N. tenuis*/planta el 20 de diciembre 2013 y el 15 de enero 2014, respectivamente. Es posible que *N. tenuis* haya sido un factor importante en la ausencia de *B. tabaci*, pues es considerada su presa favorita de *N. tenuis* (Calvo, Bolckmans, & Belda, 2012).

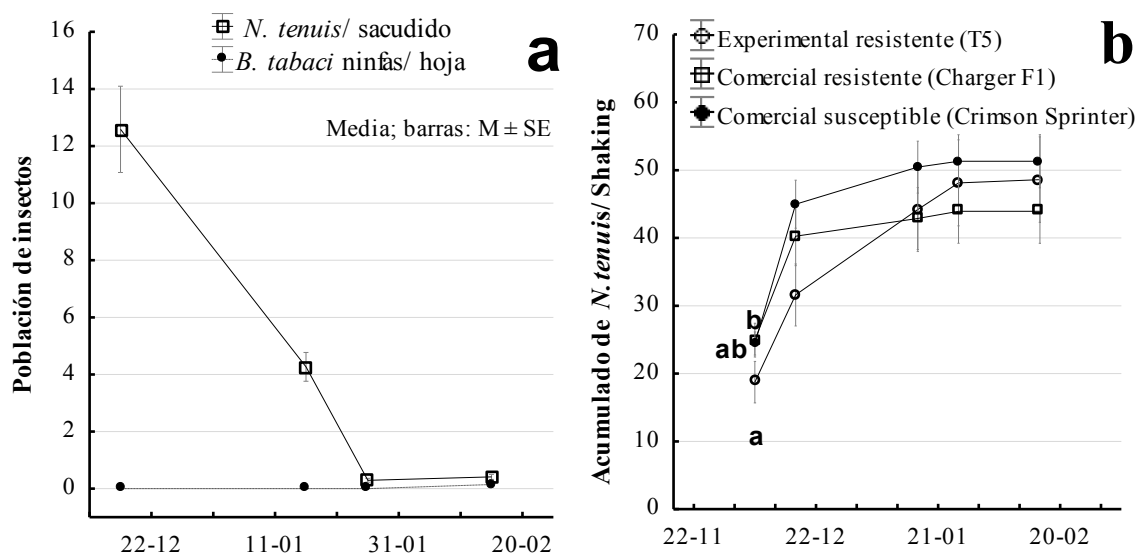


Figura 3. (a) Media (\pm SEM) del número de *Nesidiocoris tenuis* por planta (sacudiendo plantas) y de *Bemisia tabaci* (por hoja), y (b) Mean (\pm SEM) de abundancias acumuladas de *N. tenuis* en tres variedades de jitomate; experimental resistente a virus (T5), resistente comercial (Charger F1), y susceptible (Crimson Sprinter). Diferencias significativas ($p < 0.05$) sólo se encontraron en el primer conteo del 5 Diciembre de 2013 y en el resto de fechas no hubieron diferencias significativas ($p > 0.05$).

La incidencia de *N. tenuis* también se observó en los diferentes variedades de *S. lycopersicum* encontrándose al inicio un número significativamente menor de *N. tenuis* en la variedad experimental T5 (resistente al virus del rizado amarillo del tomate) ($F_{(2, 72)} = 29.14$; $p \leq 0.001$; Figura 3b). En las tres variedades la población de *N. tenuis* decayó a mediados de enero posiblemente debido a las temperaturas invernales. La temperatura óptima reportada para el desarrollo de *N. tenuis* se encuentra entre 20 y 30° C (Sánchez, Lacasa, Arnó, Castañé, & Alomar, 2009). En el municipio Hidalgo, el 8 de diciembre de 2013 la temperatura mínima cayó hasta los 2° C en una oportunidad, mientras que la mayor parte del tiempo las temperaturas estuvieron $< 20^\circ$ C causando finalmente una dramática reducción en la población de *N. tenuis*. El comportamiento fitófago de *N. tenuis* en ausencia de su presa favorita (*B. tabaci*); denota que su alimentación en hojas, flores y tallos daña la planta de *S. lycopersicum*. Será necesario hacer más



evaluaciones respecto a la relación de esta especie invasiva y su interacción con *B. tabaci* en el sur de Texas.

La legislación con respecto a la importación de insectos depredadores debe ser respetada por las compañías en el área de agricultura y los agricultores. Aunque los insectos benéficos en algunas áreas son efectivos, los insectos depredadores –especialmente los zoofitófagos- pueden convertirse en un problema si es que no se hacen evaluaciones previas. El público en general amerita una educación continua al respecto. Hasta la fecha, no se sabe cómo fue el ingreso de *N. tenuis* al Valle del Rio Grande. En una reciente conversación, (agosto 2014) (R.T. Villanueva, comunicación personal) con Syngenta Bioline Inc. en California, que comercializa *N. tenuis* (Nesiline[®]) en Europa, se recibió la información que la compra de este insecto no es permitido en los E.U.A. salvo condiciones especiales y con permiso del Departamento de Agricultura de E.U.A. En este caso se podría hipotetizar que la introducción de *N. tenuis* pudo haber sido a través de plántulas de *S. lycopersicum* procedentes de California (Dr. T. Henry tiene reportes de su presencia en este estado) y distribuidas en los invernaderos comerciales de Texas; también podrían ser a través de liberaciones hechas por agricultores locales del Valle del Rio Grande en Texas con importaciones no autorizadas de *N. tenuis*; o quizás *N. tenuis* haya sido importado por los productores de *S. lycopersicum* en México, y posteriormente este insecto haya migrado a Texas.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por fondos de **Organic Transition Program-NIFA-USDA, grant No. 2010-51106-21803** y Texas A&M AgriLife Extension Service.

Literatura citada

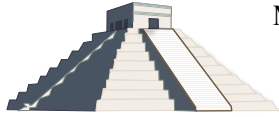
- Arnó, J., Castañé, C., Riudavets, J., & Gabarra, R. (2010). Risk of damage to tomato crops by the generalist zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae). *Bulletin of Entomological Research*, 100(1), 105–115. doi:10.1017/S0007485309006841
- Boyer, W. P., & Dumas, W. A. (1963). Soybean insect survey as used in Arkansas. *Coop. Econ. Insect Rep*, 13, 91–92.
- Calvo, F. J., Bolckmans, K., & Belda, J. E. (2012). Release rate for a pre-plant application of *Nesidiocoris tenuis* for *Bemisia tabaci* control in tomato. *BioControl*, 57(6), 809–817. doi:10.1007/s10526-012-9455-1
- El-Arnaouty, S. A., & Kortam, M. N. (2012). First record of the mired predatory species, *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae) on the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(2), 223–224.
- Esparza-Díaz, G., Villanueva, R. T., & Brister, C. (in press). First Occurrence of the Predacious *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) Causing Injuries to Tomato and Bell pepper in Texas. *Manuscript Submitted for Publication*.
- Mass, C. (2012). First Record of the Mired Predatory Species, *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Heteroptera : Miridae) on the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(2), 223–224.
- Sánchez, J. a., Lacasa, A., Arnó, J., Castañé, C., & Alomar, O. (2009). Life history parameters for *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Het., Miridae) under different temperature regimes. *Journal of Applied Entomology*, 133(2), 125–132. doi:10.1111/j.1439-0418.2008.01342.x



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Stansly, P. A., Sánchez, P. A., Rodríguez, J. M., Cañizares, F., Nieto, A., Leyva, M. J., ... Urbaneja, A. (2004). Prospects for biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) in greenhouse tomatoes of southern Spain. *Crop Protection*, 23(8), 701–712.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS Y FITOPATÓGENOS



ACTIVIDAD ANTAGÓNICA IN VITRO DE CUATRO ESPECIES DE *Bacillus* (BACILLALES: BACILLACEAE) ANTE ESPECIES DE *Fusarium* (MONILIALES: TUBERCULARIACEAE) PATÓGENOS DE HORTALIZAS

Nazario Francisco-Francisco, Gabriel Gallegos-Morales, Yisa M. Ochoa-Fuentes, Juan C. Delgado-Ortiz y Francisco D. Hernández-Castillo. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. C.P 25315. fafnaz@hotmail.com

Resumen. Se confrontó a las especies *B. pumilus*, *B. liquefaciens*, *B. subtilis*, y *B. amyloliquefaciens* contra las especies *F. verticillioides*, *F. oxysporum* aislado de plantas de ajo, *F. acuminatum*, *F. solani*, *F. proliferatum*; *F. oxysporum* f. sp. *melonis*; y *F. oxysporum* aislado de plantas de chile (*F.o.ch.*). Este trabajo se realizó con la intención de conformar posibles mezclas antagónicas potenciales de *Bacillus* para el control de diversas especies de *Fusarium*. Las pruebas de antagonismo se efectuaron por confrontación del antagonista contra el fitopatógeno en cajas de Petri conteniendo medio PDA, mediante la siembra por punción de cada especie de *Bacillus* en cuatro puntos equidistantes a 3.9 cm alrededor de la siembra de cada colonia de las especies de *Fusarium* la cual consistió en explantes de 5 mm de diámetro colocado al centro de la placa. La actividad antagónica se determinó a través de la medición (mm) del diámetro del crecimiento micelial de *Fusarium* en presencia de *Bacillus* utilizando un Vernier en el día 6 de establecida la confrontación bajo temperatura ambiente de laboratorio ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$). Como testigo se utilizaron placas donde se sembró solamente el hongo fitopatógeno. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y se analizaron mediante un diseño completamente al azar. El grado de inhibición se sometió a una comparación de medias por la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Los resultados mostraron que las especies de *Bacillus* arriba citados inhiben el crecimiento de las especies de *Fusarium* en un promedio de 24.2, 23.7, 20.0, y 17.9% respectivamente. *F. verticillioides* fue mayormente inhibido en 30.3% por los antagonistas, mientras que *F.o.ch.* solo fue inhibido en 6.7%. De manera particular se observó la posibilidad de una selección estratégica de las cepas de *Bacillus* para obtener un mayor antagonismo contra cada especie de *Fusarium* para diferentes especies de hortalizas.

Palabras claves: Control biológico, enfermedad radicular, mezcla antagónica.

Introducción

El género *Fusarium spp.* comprende una gran variedad de especies fitopatógenas causantes de marchitamientos en plantas cultivadas con altas repercusiones económicas en los cultivos de todo el mundo (Summerell *et al.*, 2010). Las especies de *Fusarium* presentan un amplio rango de hospederos y producen una reducción del rendimiento en cultivos de cebolla y ajo de hasta un 40% (Ochoa-Fuentes *et al.*, 2012). Para contrarrestar los daños que ocasiona se ha optado por el tratamiento a las semillas antes de la siembra (Tagne *et al.*, 2013). No obstante, la presencia del inóculo en los campos de cultivo es una amenaza latente, difícil de controlar mediante alternativas tradicionales como la aplicación de productos químicos (Funnell-Harris y Pedersen, 2011).



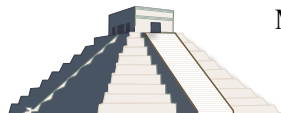
El control de hongos fitopatógeno mediante microorganismos benéficos, es una alternativa promisoriosa viable. Entre los microorganismos que se usan para este fin se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales también aportan beneficios al ecosistema (Pérez-García *et al.*, 2011). Estos microorganismos actúan mediante diversos mecanismos, algunas incluyen la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfatos en el suelo, la fijación de nitrógeno, y la inhibición del crecimiento de patógenos (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Esto último lo ejercen mediante competencia, producción de antibióticos, enzimas y otras sustancias como los sideróforos (Ma *et al.*, 2011). El género *Bacillus* presenta ventajas sobre otras bacterias, tales como la protección radicular vegetal, la habilidad para producir endosporas y la actividad de amplio espectro de sus antibióticos (Cavaglieri *et al.*, 2005); se sabe que *Bacillus spp.* presenta la capacidad de producir hasta 60 tipos de antibióticos (Nihorimbere *et al.*, 2010). Varias especies benéficas de *Bacillus* producen enzimas como las quitinasas que degradan la pared celular de hongos fitopatógenos (Sadfi *et al.*, 2001), además promueven el crecimiento vegetal (Ma *et al.*, 2011). El propósito de este trabajo fue evaluar el antagonismo de cuatro especies de *Bacillus* ante siete especies de *Fusarium* y medir la cinética de crecimiento de este patógeno.

Materiales y Métodos

Material biológico. Se utilizaron cuatro especies de *Bacillus*: *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. liquefaciens*, y *B. pumilus*. El aislamiento de estas cepas así como la forma de identificación han sido reportados en un trabajo anterior (Guillén-Cruz *et al.*, 2006). Las especies de *Fusarium* manejados fueron: *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. solani*, *F. proliferatum*; *F. oxysporum* f. sp. *melonis*; y *F. oxysporum* (Foch) los cuales fueron aislados de plantas de ajo; melón; y chile respectivamente. Las especies fueron aisladas e identificadas en trabajos previos (Ochoa-Fuentes *et al.* (2012).

Prueba de antagonismo. Las pruebas de antagonismo se efectuaron por confrontación del antagonista contra el fitopatógeno en cajas Petri conteniendo medio PDA, mediante la siembra por punción de una de las especies de *Bacillus* de 48 horas de cultivo en cuatro puntos equidistantes a 3.9 cm alrededor de cada colonia de las siete especies de *Fusarium*, sembradas individualmente al centro de la placa con un explante de 5 mm de crecimiento de 6 días de incubación. Las placas fueron selladas con cinta adhesiva e incubadas a temperatura ambiente de laboratorio de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$. Las pruebas del antagonismo consistieron en la confrontación de las cuatro especies de *Bacillus* con los seis aislados de *Fusarium*, repitiendo cinco veces cada ensayo. La actividad antagónica de cada aislado se determinó a través de la medición (mm) del diámetro del crecimiento micelial de *Fusarium* en presencia de *Bacillus* utilizando un vernier seis días después del establecimiento de la confrontación. Como testigo se utilizaron placas donde se sembró solamente el hongo fitopatógeno.

El comportamiento del crecimiento inhibitorio de la mejor especie de *Bacillus*. se determinó efectuando las mediciones a los 5, 6, 7, 8, 9, y 10 días de establecida la confrontación y trazando dicho crecimiento mediante una gráfica de dispersión. Con las mediciones obtenidas se realizaron los cálculos del porcentaje de inhibición para su transformación mediante la siguiente ecuación:



Porcentaje de inhibición = $(DCT - DCC) / DCT \times 100$

Donde DCT es el diámetro de crecimiento del hongo testigo y DCC es el diámetro de crecimiento del hongo en confrontación. Se realizó un promedio general de la inhibición en cada especie de *Bacillus* con todas las especies de *Fusarium* para determinar la especie con mayor antagonismo y con esta observar la evolución de la inhibición del crecimiento con las especies de *Fusarium*.

Diseño experimental y análisis estadístico. Los datos del promedio de inhibición de las diferentes especies de *Bacillus* se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) mediante un diseño completamente al azar. La estratificación del nivel del grado de inhibición se efectuaron por comparación de las medias por la prueba de Tukey ($p = 0.05$). Para ello se empleó el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC).

Resultados y Discusión

Los resultados mostraron que todas las especies de *Bacillus spp.* inhiben en diferente porcentaje el crecimiento de los aislados de *Fusarium spp.* Esto fue observado a los 6 días después del establecimiento de la confrontación, días anteriores no se logró detectar alguna diferencia estadística en todas las confrontaciones. La cepa *B. amyloliquefaciens* mostró menor antagonismo en comparación con *B. pumilus* lo cual podría deberse a que las dos especies producen diferentes tipos de antibióticos (Sadfi *et al.*, 2001). También se observó que *F. verticillioides* fue la especie más susceptible a todas las cepas *Bacillus* y el menos afectado fue *F. oxysporum* aislado de las plantas de Chile (*Foch*) (Tabla 1). Esto podría deberse a que la especie *F. oxysporum* (*Foch*) presenta mayor resistencia ante un amplio rango de compuestos antifúngicos en comparación a *F. verticillioides* (Tortorano *et al.*, 2008).

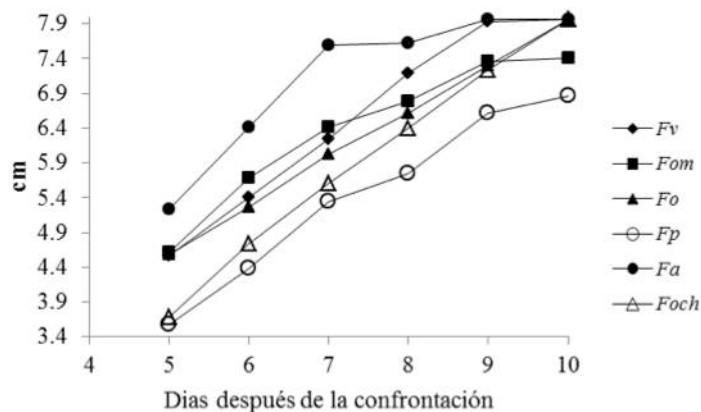
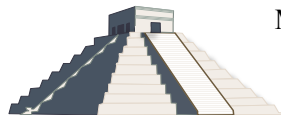


Figura 1. Crecimiento de *F. verticillioides* (*F.v.*), *F. oxysporum* (*F.o.*), *F. acuminatum* (*F.a.*), *F. solani* (*F.s.*), *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (*F.o.m.*), *F. oxysporum* aislado de plantas de Chile (*F.o.ch.*), y *F. proliferatum* (*F.p.*) en confrontación a través de varios días consecutivos.

La especie *B. pumilus* fue la especie que mayor inhibición ocasionó en todas las especies de *Fusarium* (Figura 1). *B. pumilus* muestra protección efectiva contra otras especies como en *F. oxysporum* f. sp. *lentil*, en el que reduce el índice de marchitez en 25% y hasta un 75% mediante



la conformación de mezclas con antagonistas como *Pseudomonas alcaligenes* (Akhtar *et al.*, 2010). *B. pumilus* produce metabolitos resistentes a la hidrólisis por varias proteasas, peptidasa y otras enzimas los cuales inhiben a un amplio rango de especies de *Fusarium* (Munimbazi y Bullerman, 1998).

Tabla 1. Antagonismo de cuatro especies de *Bacillus* ante siete especies del género *Fusarium* a los 6 días después de la confrontación.

	Porcentaje de inhibición (%)				†Media
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. liquefaciens</i>	<i>B. pumilus</i>	
<i>Fv</i>	21.9 *b	25.4 b	35.4 a	38.4 a	30.3 a
<i>Fom</i>	16.8 b	17.3 b	24.5 a	24.1 a	20.7 abc
<i>Fo</i>	28.1 a	25.4 b	27.8 ab	27.7 ab	27.3 ab
<i>Fp</i>	13.4 ab	6.4 b	20.3 a	18.4 a	14.6 dc
<i>Fa</i>	30.2 a	23.8 b	28.1 ab	28.8 ab	27.7 ab
<i>Foch</i>	8.8 a	3.5 b	7.4 ab	7.2 ab	6.7 d
<i>Fs</i>	17.8 c	18.0 bc	20.7 ab	21.9 a	19.6 bc
‡Media	20.0 b	17.9 b	23.7 a	24.2 a	

*Medias con la misma literal no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($p=0.05$).

†Media general de la inhibición del crecimiento para cada especie de *Fusarium*.

‡Media general del antagonismo de cada especie de *Bacillus*.

Los resultados permiten observar que las especies de *Bacillus* difieren en el antagonismo contra las especies de *Fusarium*, el cual varía de 6.7 a 30.3%. La conformación de mezclas de cepas de *Bacillus* promete una inhibición efectiva de cada una de las especies de *Fusarium*.

Literatura Citada

- Akhtar, M. S., U. Shakeel, Z. A. Siddiqui, 2010. Biocontrol of *Fusarium* wilt by *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas alcaligenes*, and *Rhizobium sp.* on lentil. *Turkish Journal of Biology* 32:1-7
- Cavaglieri, L., J. R. Orlando, M. I. Rodriguez, S. Chulze, and M. Etcheverry, 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Research in Microbiology* 156:748-754.
- Funnell-Harris, D. L. and J. F. Pedersen, 2011. Presence of *Fusarium spp.* in air and soil associated with sorghum fields. *Plant Disease* 95:648-656.
- Guillén-Cruz, R., F. D. Hernández-Castillo, G. Gallegos-Morales, R. Rodríguez-Herrera, C. N. Aguilar-González, E. Padron-Corral, M. H. Reyes-Valdés, 2006. *Bacillus spp.* Como Bicontrol en un suelo Infestado con *Fusarium spp.* *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora capsici* Leonian y su Efecto en el Desarrollo y Rendimiento del Cultivo de Chile (*Capsicum annum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 24:105-114.
- Nihorimbere, V., M. Ongena, H. Cawoy, Y. Brostaux, P. Kakana, E. Jourdan, and Thonart, 2010. Beneficial effects of *Bacillus subtilis* on field-grown tomato in Burundi: Reduction of local *Fusarium* disease and growth promotion. *African Journal of Microbiology Research* 4:1135-1142.
- Lugtenberg, B., and F. Kamilova, 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63:541-556.
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M., and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology advances*, 29:248-258.
- Munimbazi, C., and L. B. Bullerman, 1998. Isolation and partial characterization of antifungal metabolites of *Bacillus pumilus*. *Journal of Applied Microbiology* 84: 959-968.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Ochoa-Fuentes, Y. M., E. Cerna-Chavez, G. Gallegos-Morales, J. Landeros-Flores, J. C. Delgado-Ortiz, S. Hernández-Camacho, R. Rodríguez-Guerra, y V. Olalde-Portugal, 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semillas de ajo en Aguascaliente, México. *Revista Mexicana de Micología* 36:27-31.
- Pérez-García, A., D. Romero, and A. De Vicente, 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology* 22:187-193.
- Sadfi, N., M. Cherif, I. Fliss, A. Boudabbous, and H. Antoun, 2001. Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers. *Journal of Plant Pathology* 83:101-118.
- Summerell, B. A., M. H. Laurence, E. C. Liew, and J. F. Leslie, 2010. Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. *Fungal Diversity* 44:3-13.
- Tagne, A., P. A. Zollo, D. A. Fontem, S. B. Mathur, and E. Neergaard, 2013. Fungicides and Essential Oils for Controlling Maize Seed-Borne *Fusarium moniliforme* and its Transmission into Seedlings. *World Journal of Agricultural Sciences* 9:290-297.
- Tortorano, A. M., A. Prigitano, G. Dho, M. C. Esposito, C. Gianni, A. Grancini, and M. A. Viviani, 2008. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility patterns of 75 clinical isolates of *Fusarium spp.* from northern Italy. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 52:2683-2685.



SELECCIÓN DE ACTINOMICETOS CON POTENCIAL DE BIOCONTROL CONTRA FITOPATÓGENOS

Anahi González-Acevedo¹, **Raúl Rodríguez-Guerra¹**, Isidro Humberto Almeyda-León¹, Kenzy Iveth Peña-Carrillo¹, Ismael Hernández-Torres¹, Juan Francisco Pinales-Quiroz¹, Carlos Eduardo Hernández-Luna², Sergio Manuel Salcedo-Martínez². ¹Campo Experimental General Terán, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. AP No. 3. Km. 31 Carr. Montemorelos-China, CP 67400, General Terán, Nuevo León, México. ²Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Ciudad Universitaria, C.P. 66450 San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.
rodriguez.raul@inifap.gob.mx

Resumen. Sesenta cepas de actinomicetos aisladas de suelos no cultivados de cinco municipios del estado de Nuevo León, México, fueron sometidas a una preselección por su actividad antagonica contra la germinación de cuatro especies de *Colletotrichum* (*Colletotrichum phyllanthi*, *C. gloeosporioides*, *C. tropicale*, *C. musae*), el crecimiento micelial de cuatro fitopatógenos que atacan raíz (*Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora cinnamomi*, *P. capsici*) y cuatro cepas de hongos aislados de hojas con fumagina. Cinco cepas de actinomicetos se consideraron sobresalientes y se evaluaron por su efecto fungicida o fungistático contra las especies de *Colletotrichum* y los patógenos de raíz. Fragmentos de colonias de patógenos de raíz y suspensión de conidios de especies de *Colletotrichum* expuestos a la confrontación con las cepas sobresalientes de actinomicetos fueron removidos de las confrontaciones y transferidos a PDA. Desarrollo de colonias del 10% o menos de fragmentos y un 2 % o menos de germinación de conidios transferidos a PDA se consideró un efecto fungicida por parte de los actinomicetos contra los fitopatógenos. La cepa Rayones-8 y Rayones-28 sobresalen por este efecto fungicida contra seis de los fitopatógenos evaluados en esta investigación.

Palabras clave: *Colletotrichum* spp., fitopatógenos de raíz, hongos de la fumagina.

Introducción

El uso de plaguicidas es la principal estrategia para controlar a los fitopatógenos; sin embargo, éstos causan efectos negativos en la salud y el ambiente. En los últimos años se ha acentuado la búsqueda de microorganismos para su desarrollo como agentes de biocontrol, y reducir los riesgos por el uso de plaguicidas. Los actinomicetos son un grupo de bacterias gram positivas entre las que se encuentra el género *Streptomyces*, el cual cuenta con más de 500 especies (Kämpfer, 2012) de las cuales se ha reportado que producen más de 7,000 compuestos químicos bioactivos en diferentes áreas de aplicación (Hasani *et al.*, 2014; Kumar y Kumar, 2014; Sharma, 2014). Lo anterior demuestra el potencial de este grupo de bacterias en la identificación de especies con actividad biológica contra fitopatógenos. El objetivo de esta investigación consistió en seleccionar actinomicetos aislados de suelo con potencial de biocontrol contra fitopatógenos.



Materiales y Métodos

Muestras y aislamiento. Durante el 2013 se obtuvieron muestras de suelos no cultivados de cinco municipios del estado de Nuevo León, México. Para cada locación, las muestras se obtuvieron de un área aproximada de 25 m², y consistieron de cinco submuestras de aproximadamente 100 gr de suelo colectadas a una profundidad de 10-15 cm cercano al sistema radical de las plantas presentes. De cada muestra se elaboraron diluciones seriadas de suelo de 10¹ a 10⁻⁴ en agua estéril, y de cada una se distribuyeron 50 µL en 3, 7, 7 y 7 cajas Petri, respectivamente, conteniendo el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) acidificado (200 µL de ácido láctico 85 % incorporado a un litro de medio después de esterilizado). Las cajas fueron revisadas cada 24 hr durante cuatro días para transferir colonias de actinomicetos a nuevas cajas Petri. Las cepas se conservaron en agua (Rodríguez y Gato, 2010).

Preselección de antagonistas. Se realizaron confrontaciones preliminares (sin repeticiones) en papa dextrosa agar (PDA) entre 60 cepas de actinomicetos aislados de suelo contra cuatro especies de *Colletotrichum* (*C. phyllanthi*, Co-9; *C. gloeosporioides*, Co-10; *C. tropicale*, Co-19; *C. musae*, Co-37), *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora cinnamomi*, *P. capsici* y cuatro cepas (F2, F4, F5, F7) de hongos aislados de hojas de cítricos con fumagina. Las especies de *Colletotrichum* y las cepas de fumagina se inocularon en cuatro puntos cardinales alrededor de cada actinomiceto, mientras que los hongos *R. solani* y *M. phaseolina* se inocularon en lados opuestos de colonias de los actinomicetos, al igual que *P. cinnamomi* y *P. capsici*. Se inoculó 10⁶ conidios para las especies de *Colletotrichum* y un fragmento de colonia de aproximadamente 0.5 mm² para los demás fitopatógenos. Los fitopatógenos se colocaron a una distancia aproximada de 1.7 cm de las colonias de actinomicetos de 6 a 8 días de edad, crecidas en el centro de cajas Petri conteniendo PDA. Los testigos consistieron en inocular los fitopatógenos y hongos de la fumagina en PDA. A las 48 hr se revisaron las confrontaciones; se evaluó la germinación de conidios considerando tres tipos de respuesta para las especies de *Colletotrichum* (+, inhibición de la germinación de conidios; +/-, existe germinación pero el crecimiento micelial es pobre; -, ausencia de inhibición de la germinación). Para los fitopatógenos y hongos de la fumagina también se consideraron tres tipos de respuesta (+, inhibición del crecimiento micelial mayor del 75 %; +/-, inhibición del crecimiento micelial del 50 al 75 %; -, inhibición del crecimiento micelial menor al 50 %). Se consideraron sobresalientes las cepas de actinomicetos que mostraron inhibición de los conidios y más del 75 % del crecimiento micelial.

Desarrollo de colonias de fitopatógenos que atacan raíz. Las cepas sobresalientes se utilizaron para determinar su efecto en el desarrollo de colonias de tres patógenos de raíz (*R. solani*, *M. phaseolina*, *P. cinnamomi*). Seis cajas Petri se inocularon en el centro con cada actinomiceto y a los 11-12 días se colocaron cuatro fragmentos de colonia de los patógenos de raíz a una distancia aproximada de 1.5 cm alrededor de cada actinomiceto. Los testigos consistieron en inocular los fitopatógenos en cuatro puntos de cajas Petri conteniendo sólo PDA. Cada caja Petri se etiquetó progresivamente (1 a 6), las primeras tres se mantuvieron por 48 h y los fragmentos se retiraron de la confrontación para transferirlos a PDA. Las tres cajas restantes se mantuvieron por 96 ó 120



h antes de transferir los fragmentos a PDA. A las 48, 96 y 120 h se determinó el porcentaje de fragmentos que desarrollaron colonia de cada fitopatógeno estando en la confrontación, así como a las 48 después de ser retirados de las confrontaciones y transferirse a PDA. Valores menores al 10 % de colonias desarrolladas de fitopatógenos se consideraron como un efecto antagónico o fungicida por parte de los actinomicetos durante la confrontación o después de ser transferidos a PDA, respectivamente.

Inhibición de la germinación de conidios. Los actinomicetos sobresalientes también se usaron para cuantificar la germinación de conidios de las especies de *Colletotrichum*. Los actinomicetos se inocularon en tres cajas Petri como se describió anteriormente y a los 12-13 se inocularon en cuatro puntos alrededor de cada actinomiceto con 15 μL de una suspensión de 10^6 conidios mL^{-1} de las especies de *Colletotrichum*. Los testigos consistieron en inocular conidios en cuatro puntos de cajas Petri con PDA. A las 48 h se retiraron de cada confrontación los fragmentos de medio de cultivo conteniendo los conidios previamente inoculados, y se invirtieron en cajas Petri conteniendo PDA para sólo dejar depositados los conidios. A las 24 h se cuantificó a 150X el número de conidios germinados y no germinados y se obtuvo el porcentaje de conidios germinados. Una germinación menor al 2 % se consideró como un efecto fungicida en el que los conidios se vuelven inviables después de 48 h de confrontación con algún actinomiceto. Debido a que en los testigos se observó un denso crecimiento a las 24 h de su inoculación, no se cuantificó el número de conidios germinados, así que se consideró el 100 % de germinación en éstos.

Resultados y Discusión

Muestras y aislamiento. Se aislaron 90 cepas de actinomicetos a partir de suelo de cinco municipios del estado de Nuevo León (Cuadro 1), y debido a la similitud morfológica de colonias aisladas dentro de cada muestra sólo se mantuvieron sesenta cepas en total. La cantidad contrastante de cepas entre muestras puede ser debido a los ambientes de donde se obtuvieron.

Cuadro 1. Sitios de origen de las muestras de suelo de los cuales se obtuvieron cepas de actinomicetos.

Origen	Ubicación	Fecha colecta	Cepas aisladas	Cepas antagónicas contra al menos un microorganismo ensayado
Bustamante	26°32'03.46'' N/100°03'45.60'' O	18/10/2013	12	7
Rayones	25°00'21.70'' N/100°03'58.10'' O	09/10/2013	23	10
Galeana	24°51'10.70'' N/100°22'17.70'' O	01/10/2013	11	0
Aramberri	24°02'44.10'' N/99°57'40.30'' O	01/10/2013	11	2
Dr. Arroyo	23°46'18.40'' N/100°16'11.00'' O	01/10/2013	3	2

Preselección de antagonistas. Cinco cepas de actinomicetos se consideraron sobresalientes por su reacción a ocho fitopatógenos y cuatro hongos asociados a la fumagina (Cuadro 2). El resto de cepas variaron en su respuesta contra los fitopatógenos y hongos de la fumagina confrontados. En el Cuadro 1 se muestra la cantidad de actinomicetos que inhibieron la germinación de conidios o más del 75 % del crecimiento micelial de al menos una especie de *Colletotrichum*, patógeno de raíz u hongo de la fumagina.



Desarrollo de colonias de fitopatógenos que atacan raíz. Sólo *R. solani* desarrolló colonias durante la confrontación por 48 y 120 h con la cepa Rayones-4, así como con la cepa Rayones-15 a las 48 h. En las demás confrontaciones no se observó el desarrollo de colonias de ningún fitopatógeno durante las confrontaciones. El porcentaje de colonias desarrolladas en los testigos fue del 100 %. Lo anterior indica que los actinomicetos tienen elevada capacidad antagonista contra los tres fitopatógenos ensayados mientras se encuentran en la confrontación.

Cuadro 2. Respuesta de fitopatógenos y hongos de la fumagina a la confrontación con cinco cepas de actinomicetos.

Actinomiceto	<i>Colletotrichum</i> spp.						Cepas fumagina				<i>Phytophthora</i>	
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Macrophomina phaseoli</i>	CO-9	Co-10	Co-19	Co-37	F2	F4	F5	F7	<i>cinnamomi</i>	<i>capsici</i>
Rayones-4	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+
Rayones-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rayones-15	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+
Rayones-28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bustamante-7	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+

* Revisar tipo de respuestas en materiales y métodos.

Sin embargo, los fragmentos de colonia de los fitopatógenos que fueron removidos de la confrontación y transferidos a PDA en ausencia de los actinomicetos, variaron en su capacidad de desarrollar colonias (Cuadro 3). Se observó un efecto fungicida contra *R. solani* y *M. phaseolina* desde las 48 h de exposición con los actinomicetos Rayones-8 y Rayones-28, y también a las 48 h contra *P. cinnamomi* con los actinomicetos Rayones-15, Rayones-28 y Bustamante-7.

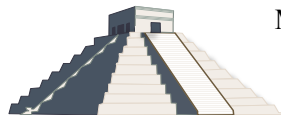
Cuadro 3. Porcentaje de colonias desarrolladas de tres patógenos de raíz a las 48 horas posteriores a su transferencia a PDA de la confrontación por 48 y 120 h con cinco actinomicetos.

Actinomiceto	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Macrophomina phaseolina</i>		<i>Phytophthora cinnamomi</i>	
	48	120	48	120	48	120
Rayones-4	16.7	16.7	75.0	83.3	66.7	33.3
Rayones-8	0.0	0.0*	0.0	0.0*	75.0	91.7*
Rayones-15	33.3	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0
Rayones-28	0.0	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0
Bustamante-7	33.3	50.0	8.3	25.0	0.0	0.0
Testigo	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* Resultados a las 96 h durante la confrontación.

La respuesta fungicida contra *R. solani* y *M. phaseolina* después de 120 h de exposición con Rayones 15 sugiere que este actinomiceto tiene un efecto lento para causar la muerte de las hifas de estos fitopatógenos, mientras que Rayones-4 muestra un efecto fungistático contra los tres fitopatógenos a los tiempos de exposición sometidos.

Inhibición de la germinación de conidios.



Los porcentajes de germinación de conidios variaron de 0.0 a 11.0 dependiendo de la confrontación de los actinomicetos con especies de *Colletotrichum* (Cuadro 4). Los conidios de las cuatro especies de *Colletotrichum* fueron incapaces de germinar 24 h posteriores a la confrontación con Rayones-8 y Rayones-15, por lo que se considera que estas dos cepas tuvieron un efecto fungicida. Bustamante-7 y Rayones-28 tuvieron efecto fungicida contra tres especies y Rayones-4 contra dos especies del género *Colletotrichum*.

Los resultados anteriores demuestran la presencia de actinomicetos con capacidad fungicida contra fitopatógenos de la raíz y especies de *Colletotrichum*, incrementando el número de cepas con capacidad antagonista reportado previamente en México (Sánchez-Ovalle *et al.*, 2011; Dávila *et al.*, 2013; Evangelista-Martínez, 2014).

Cuadro 4. Conidios germinados de cuatro especies de *Colletotrichum* a las 24 horas posteriores de su transferencia a PDA de la confrontación por 48 horas con cinco actinomicetos.

Actinomiceto	<i>C. phyllanti</i>		<i>C. gloeosporioides</i>		<i>C. tropicale</i>		<i>C. musae</i>	
	%	n*	%	n	%	n	%	n
Rayones-4	11.0	647.3	3.0	599.3	0.7	542.7	0.0	840.7
Rayones-8	0.0	546.0	0.0	647.3	0.0	823.3	0.0	770.6
Rayones-15	0.0	711.0	0.0	865.7	0.0	918.7	0.0	878.0
Rayones-28	0.0	365.3	12.1	394.7	1.8	802.0	0.0	905.7
Bustamante-7	0.7	493.0	0.0	692.7	0.0	1046	2.9	907.3
Testigo	100	Nd**	100	Nd	100	Nd	100	Nd

*Promedio de conidios observados en cuatro lecturas de cada repetición. **No se determinó el número de conidios germinados o no, debido al denso crecimiento en los puntos inoculados a las 24 h de establecidas las confrontaciones.

Conclusiones

Los resultados anteriores demuestran que cepas de actinomicetos aisladas de suelo tienen un efecto fungicida al menos contra un fitopatógeno, y las cepas Rayones-8 y Rayones-28 sobresalen por este efecto contra seis de los fitopatógenos evaluados en esta investigación.

Agradecimientos.

Se agradece el apoyo financiero otorgado por la Fundación Produce Nuevo León, A.C., ejercicio 2013-2014, para la realización de esta investigación.

Literatura Citada

- Dávila M., M.D., G. Gallegos M., F.D. Hernández C., Y.M. Ochoa F., y A. Flores O. 2013. Actinomicetos antagonistas contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:1187-1196.
- Evangelista-Martínez Z. 2014. Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30:1639-1647.
- Hasani A., A. Kariminik and K. Issazadeh. 2014. Streptomyces: Characteristics and their antimicrobial activities. *Int. J. Adv. Biol. Biom. Res.* 2:63-75.
- Kumar R. and S. Kumar. 2014. Bioprospecting of actinomycetes and its diversity in various environments: a review. *Current Discovery* 3:16-32.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Kämpfer P. 2012. Genus I. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339 emend. Witt and Stackebrandt 1990, 370 emend. Wellington, Stackebrandt, Sanders, Wolstrup and Jorgensen 1992, 159. *In*: Goodfellow M, Kämpfer P, Busse H-J *et al* (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology, Part B, vol 5, 2nd edn. Springer, New York, pp:1455-1767.
- Sánchez-Ovalle, M.D.R., S.R. Sánchez-Peña, G. Gallegos-Morales, A. Sánchez-Arizpe. 2011. Actividad inhibitoria de actinomicetos aislados de hormigas cultivadoras de hongos (Hymenoptera: Formicidae) sobre *Colletotrichum lindemuthianum* y *Rhizoctonia solani*. *Revista Agraria-Nueva Epoca* 8:14-17.
- Sharma M. 2014. Actinomycetes: Source, identification, and their applications. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3:801-832.



TIPO DE ANTIBIOSIS DE LA CEPA CP-5 DE UN ACTINOMICETO CONTRA FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE PUDRICIÓN DE RAÍZ

Raúl Asael Rodríguez-Villarreal¹, **Raúl Rodríguez-Guerra**², Kenzy Iveth Peña-Carrillo², Emmanuel Fernández-Cruz², Isidro Humberto Almeyda-León², Ismael Hernández-Torres², Efraín Acosta-Díaz², Talina Olivia Martínez Martínez³. ¹Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Ciudad Universitaria, C.P. 66450, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. ²Campo Experimental General Terán, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. AP No. 3. Km. 31 Carr. Montemorelos-China, CP 67400, General Terán, Nuevo León, México. Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. AP 112, km 6.5 Carr. Celaya-San Miguel de Allende, CP 38110, Celaya, Guanajuato, México. rodriguez.raul@inifap.gob.mx

Resumen. Previamente se reportó que una cepa de actinomiceto designada CP-5, muestra elevada actividad antagonica contra *Phytophthora capsici*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani*, y que el análisis BLAST de su secuencia mostró la máxima cobertura e identidad con *Streptomyces platensis*. En esta investigación se determinó mediante el uso de placas invertidas que el crecimiento micelial de los fitopatógenos es similar entre los testigos y la confrontación con CP-5, lo que indica que la actividad observada se debe a compuestos difusibles en el sustrato donde crece el actinomiceto. Además, la transferencia de fragmentos de colonia de los fitopatógenos después de tres tiempos de exposición con CP-5 demostró que *M. phaseolina* y *R. solani* reanudan su crecimiento, mientras que *P. capsici* es incapaz de continuar creciendo. Esto indica que existe una acción fungistática contra los primeros dos fitopatógenos, y una acción biocida contra *P. capsici*. Con base al análisis filogenético de la secuencia del gen 16S de la cepa CP-5 y otras secuencias con las que guarda elevada cobertura e identidad, se determinó que CP-5 está fuertemente relacionada con tres especies del género *Streptomyces*. Esta cepa puede considerarse como un excelente candidato para su desarrollo como agente de biocontrol.

Palabras clave: Gen 16S, *Streptomyces* sp., volátiles, fungistasis, biocida.

Introducción

El uso de plaguicidas en la agricultura representa un alto impacto negativo en la salud y en el ambiente, y ha llevado a la necesidad de desarrollar nuevas estrategias para controlar a los fitopatógenos. Una práctica para lograrlo incluye el uso de agentes de biocontrol. Un importante grupo de bacterias gram positivas productoras de una gran variedad de compuestos bioactivos para la agricultura y otros usos, son los actinomicetos (Doubou *et al.*, 2001; Sharma, 2014). Dentro de este grupo, recientemente se ha reportado que la cepa CP-5 tiene elevada actividad antagonica contra el crecimiento micelial de *Phytophthora capsici*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani* (Rodríguez *et al.*, 2013), y que corresponde a *Streptomyces platensis* con base al análisis BLAST de su secuencia 16S. Los objetivos de esta investigación son determinar si la actividad antagonica previamente reportada es debida a compuestos volátiles y si existe una actividad fungistática o biosida contra los fitopatógenos. Además, establecer mediante un análisis filogenético la identidad de la cepa CP-5, utilizando la secuencia del gen 16S.

Materiales y Métodos



Antagonismo por volátiles. Bases de cajas Petri conteniendo PDA se inocularon con la cepa CP-5, *P. capsici*, *R. solani* o *M. phaseolina*. La cepa CP-5 se inoculó por extensión en el centro de cajas Petri seis días antes de los fitopatógenos, y los fitopatógenos se inocularon con un disco de colonia de 0.4 cm en el centro de cajas Petri. La confrontación consistió en unir la base de cajas Petri inoculadas con CP-5 con la base inoculada con cada fitopatógeno. Como testigos se utilizaron cajas Petri inoculadas con cada fitopatógeno y unidas con la base de cajas Petri conteniendo sólo PDA. El experimento se realizó con 4 repeticiones de cada combinación. A las 48 hr se midió el crecimiento radial de los fitopatógenos y los datos se sometieron a un análisis de varianza completamente al azar. La similitud del crecimiento radial entre la confrontación de CP-5 con cada fitopatógeno y su testigo, indica que compuestos volátiles no son responsables del antagonismo previamente reportado.

Actividad biocida. CP-5 se inoculó por dispersión en el centro de cajas Petri conteniendo PDA y a los 10 días se estableció la confrontación con 12 fragmentos (0.4 cm de diámetro) de colonia de 5 días de edad de cada fitopatógeno, por triplicado. A las 24, 48 y 72 hr se retiró de cada confrontación cuatro fragmentos y se transfirieron a cajas Petri conteniendo PDA. A las 72 hr se determinó el porcentaje de fragmentos que desarrollaron colonias después de ser retirados de la confrontación, y de cada testigo. Se consideró un efecto biosida por parte de la cepa CP-5 cuando hubo ausencia de crecimiento de los fitopatógenos a partir de los fragmentos retirados de las confrontaciones; mientras que la ocurrencia de crecimiento se consideró un efecto fungistático mientras permanecían en la confrontación con el actinomiceto.

Identificación genética de CP-5. El ADN de la cepa CP-5 se extrajo y el gen 16S fue amplificado con los iniciadores F1 (5'-AGAGTTTGATCITGGCTCAG-3'; I=inosine) y R5 (5'-ACGGITACCTTGTTACGACTT-3) como se describió previamente (Cooke y Meyer, 2003). El producto de la PCR se purificó con el kit de Bio Basic Inc. (EZ-10 Spin column BS354) según instrucciones del fabricante. La secuenciación se realizó en ambos sentidos y ambas secuencias se alinearon. La secuencia consenso se sometió al GenBank, se analizó y comparó con secuencias reportadas en la página del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) con el algoritmo megablast. Secuencias con cobertura de 100 % y similitud mayor del 99 % a la de CP-5 se utilizaron para establecer su relación filogenética y la identidad de esta cepa.

Resultados y Discusión

Antagonismo por volátiles. En la prueba de antibiosis por compuestos volátiles, el crecimiento radial de *P. capsici* y *R. solani* fue estadísticamente igual entre la confrontación con CP- y los testigos (datos no mostrados). Mientras que para *M. phaseolina* se encontró una reducción de 0.3 cm del crecimiento radial con CP-5. Lo anterior descarta un papel importante de compuestos volátiles en la actividad antagónica observada en confrontaciones preliminares, y sugiere que compuestos difusibles producidos por la cepa CP-5 en el medio de cultivo están involucrados de



manera importante en la inhibición del crecimiento micelial de los fitopatógenos. Son escasos los reportes de actinomicetos que producen compuestos antibióticos volátiles contra hongos y bacterias, como el de Danaei *et al.* (2014), quienes encontraron que *Streptomyces griseus* produce volátiles que inhiben el crecimiento micelial de *Penicillium chrysogenum* and *Botrytis cinerea*, y el de Sahaya and Dhanaseeli (2011), que mencionan una inhibición del 39.7 % del crecimiento micelial de *R. solani* por compuestos volátiles producidos por un actinomiceto desconocido. Wan *et al.* (2008), encontraron que la cepa F-1 de *S. platensis* produce volátiles que reducen el crecimiento micelial de *B. cinerea*, *R. solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, y demostraron que este actinomiceto reduce la incidencia y severidad sobre frutos de fresa, arroz y colza causada por estos fitopatógenos, respectivamente. Aunque nuestros resultados demuestran que la cepa CP-5 guarda una estrecha relación con *S. platensis*, esta cepa fue incapaz de mostrar un efecto por compuestos volátiles contra el crecimiento radial de *P. capsici*, *R. solani* y *M. phaseolina*.

Actividad biocida. Todos los fragmentos (100 %) de *R. solani* y *M. phaseolina* desarrollaron colonias después de confrontarse 24 y 48 hr con CP-5; y sólo *M. phaseolina* fue incapaz de desarrollar colonias en el 100 % de los fragmentos después de 72 hr de confrontación dual con el actinomiceto. Mientras que *P. capsici* fue incapaz de desarrollar colonias desde las 24 a las 72 hr de exposición en confrontación dual con CP-5 (Cuadro1). Los resultados demuestran que la inhibición del crecimiento de *R. solani* y *M. phaseolina* en la confrontación con CP-5 es debida a un efecto fungistático. Mientras que la inhibición de *P. capsici* es debida a una actividad biosida, y de acuerdo a los datos experimentales se requiere al menos 24 hr de confrontación dual sin contacto entre este fitopatógeno con CP-5, para evitar el desarrollo de colonias. Son escasos los trabajos que tratan de determinar la capacidad fungistática o biosida de respuestas antagónicas causadas por actinomicetos. El-Tarabilya *et al.* (2000), demostraron que *Sclerotinia minor* fue incapaz de crecer después de ocho días de ser inoculado en cajas Petri conteniendo el medio de cultivo agar quitina coloidal, donde previamente creció *Streptomyces viridodisticus* sobre una membrana de diálisis, lo que para ellos representó una actividad fungicida de compuestos producidos por el actinomiceto y liberados al medio de cultivo.

Identificación genética del actinomiceto CP-5. Se obtuvo una secuencia de 1385 pb del gen 16S del actinomiceto CP-5, la cual cuenta con número de accesoión KM213013 en el GenBank. El análisis BLAST de esta secuencia arrojó 40 secuencias del género *Streptomyces* depositadas en el GenBank que mostraron 99 % de cobertura y más del 99 % de identidad con la secuencia del gen 16S de la cepa CP-5. Con estas secuencias se realizó un análisis filogenético (Figura 1) que demostró que CP-5 guarda mayor relación (hasta 100 % de cobertura y de identidad) con tres especies de *Streptomyces* (*S. platensis*, *S. hygroscopicus*, *S. caniferus*).



Cuadro 1. Porcentaje de fragmentos que desarrollaron colonias de tres fitopatógenos a las 72 hr después de tres tiempos de exposición en confrontación dual con el actinomiceto CP-5.

Tratamiento	24 hr	48 hr	72 hr
<i>R. solani</i>	100.0a*	100.0a	100.0a
<i>R. solani</i> + CP-5	100.0a	100.0a	100.0a
<i>M. phaseolina</i>	100.0a	100.0a	100.0a
<i>M. phaseolina</i> + CP-5	100.0a	100.0a	83.3a
<i>P. capsici</i>	100.0a	100.0a	100.0a
<i>P. capsici</i> + CP-5	0.0b	0.0b	0.0b

* Letras diferentes después de los valores indica diferencias (DMS; $p=0.01$) entre la confrontación y el testigo de cada fitopatógeno, para cada tiempo de exposición.

Las secuencias del gen 16S entre las tres especies de *Streptomyces* guardan una cobertura y similitud mayor al 99 % entre sí. Sin embargo, Labeda *et al.* (2012) demuestran la escasa relación de *S. caniferus* con las otras dos especies, por lo que la secuencia analizada puede corresponder a una cepa identificada erróneamente.

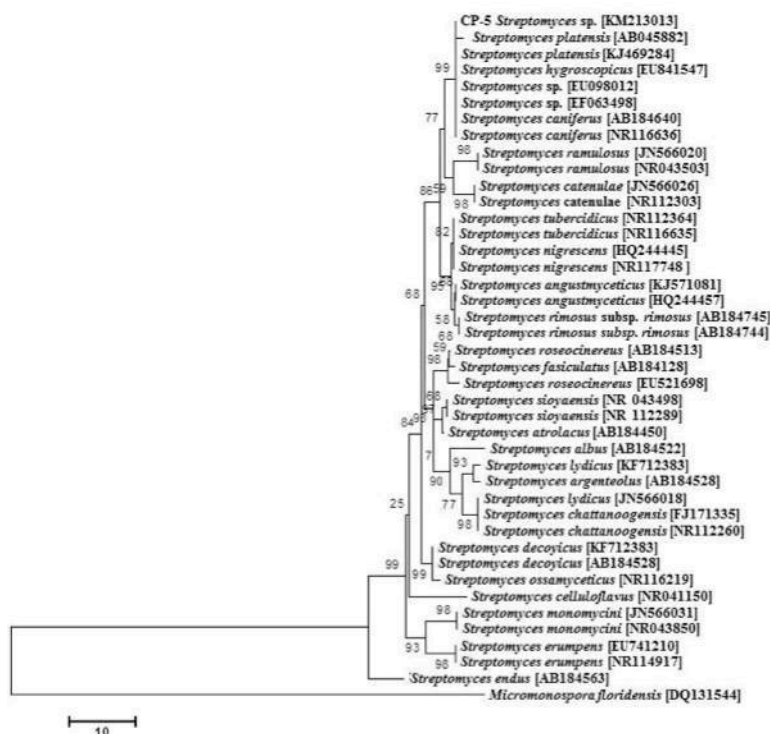


Figura 1. Árbol filogenético obtenido mediante el método de Neighbor-joining con secuencias del gen ribosomal 16S de especies de *Streptomyces* reportadas en el NCBI y la cepa CP-5. Los porcentajes del análisis de bootstrap que respaldan la ramificación del árbol se muestran en sus respectivos nodos. La escala representa el número de diferencias de nucleótidos entre secuencias.

De las tres especies relacionadas con la cepa CP-5, sólo de *S. platensis* y *S. hygroscopicus* se ha reportado capacidad inhibitoria contra fitopatógenos por compuestos volátiles o liberados al sustrato (Wan *et al.*, 2008; Prapagdee *et al.*, 2008). Los resultados aquí obtenidos indican que la cepa CP-5 corresponde a una especie del género *Streptomyces*. De las investigaciones realizadas



en México que han analizado el gen 16S de actinomicetos aislados de suelo (Evangelista-Martínez, 2014; Petrosyan *et al.*, 2003) y de agua de mar (Becerril-Espinosa *et al.*, 2013), ninguna muestra resultados que sugieran su relación con CP-5.

Conclusiones

La cepa CP-5 corresponde al género *Streptomyces*, la inhibición que causa contra los fitopatógenos se debe principalmente a antibiosis por compuestos no volátiles, y es de tipo fungistática contra *R. solani* y *M. phaseolina*, y biocida contra *P. capsici*.

Agradecimientos.

Se agradece el apoyo financiero otorgado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias para la realización de esta investigación como parte de los proyectos con No. de Registro 1322272046 y 11235432043.

Literatura Citada

- Becerril-Espinosa A., K.C. Freel, P.R. Jensen and I.E. Soria-Mercado. 2013. Marine actinobacteria from the Gulf of California: diversity, abundance and secondary metabolite biosynthetic potential. *Antonie van Leeuwenhoek* (2013) 103:809–819.
- Cook A.E. and P.R. Meyers. 2003. Rapid identification of filamentous actinomycetes to the genus level using genus-specific 16S Rna gene restriction fragment patterns. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53:1907-1915.
- Danaei M., A. Baghizadeh, S. Pourseyedi, J. Amini and M.M. Yaghoob. 2014. Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. *European Journal of Experimental Biology* 4:334-339.
- Doumbou, C.L., M.K.H. Salove, D.L. Crawford and C. Beaulieu, 2001. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection* 82 :85-102.
- El-Tarabilya K.A., M.H. Solimana, A.H. Nassara, H.A. Al-Hassania, K. Sivasithamparam, F. McKennad and G.E.St.J. Hardy. 2000. Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathology* 49:573-583.
- Evangelista-Martínez Z. 2014. Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30:1639-1647.
- Labeda D.P., M. Goodfellow, R. Brown, A.C. Ward, B. Lanoot, M. Vannanneyt, J. Swings, S.-B. Kim, Z. Liu, J. Chun, T. Tamura, A. Oguchi, T. Kikuchi, H. Kikuchi, T. Nishii, K. Tsuji, Y. Yamaguchi, A. Tase, M. Takahashi, T. Sakane, K.I. Suzuki and K. Hatano. 2012. Phylogenetic study of the species within the family Streptomycetaceae. *Antonie van Leeuwenhoek* 101:73-104.
- Petrosyan P., M. García-Varela, A. Luz-Madriral, C. Huitrón and M.E. Flores. 2003. *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53: 269-273.
- Prapagdee B., C. Kuekulvong and S. Mongkolsuk. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4:330-337.
- Rodríguez V.R.A., R. Rodríguez G., I.H. Almeyda L., G. Medina R., I. Torres H. y E. Acosta D. 2013. Antagonismo de actinomicetos contra fitopatógenos. VIII Reunión Nacional de Innovación Agrícola. pp:199.
- Sahaya M.R. and M. Dhanaseeli 2012. Biocontrol potential of selected actinomycete and its metabolites against *Rhizoctonia solani*. *Indian Journal of Natural Sciences* 11:965-972.
- Sharma M. 2014. Actinomycetes: Source, identification, and their applications. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3:801-832.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Wan, M.G., G.Q. Li, J. Zhang and H.-C. Huang. 2008. Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. *Biological Control* 46:552-559.



PRODUCCIÓN DE QUITINASAS EN MEDIO LIQUIDO EMPLEANDO EL HONGO FITOPATÓGENO *Penicillium sp*, CON TRES SUSTRATOS QUITINOSOS.

¹Xóchilt Beatriz Escobar-Chaparro, ¹Sandra Edit Jiménez-Alejandro, ²Oscar Nuñez-Gaona, ²Laura Patricia Ramírez-Coutiño. ¹División de posgrado, ²Instituto de Biotecnología Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec. Circuito Central #200, Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., México C.P. 6830.
Contacto: chaparro16@gmail.com

Resumen. Se evaluó la producción de quitinasas en medio líquido con el hongo fitopatógeno *Penicillium sp*, utilizando cutícula de chapulín (*Sphenarium purpurascens*), cutícula de escarabajo harinero (*Tenebrio molitor*) y exoesqueleto de camarón (*Penaeus*) a pH y temperatura reportados. Durante las fermentaciones con sustratos sin desproteínizar se observó que para el chapulín y el tenebrio la máxima concentración volumétrica se presenta a las 24 horas, mientras que para el camarón se presentó a las 48 horas, mostrando los siguientes valores para exoquitinasas y endoquitinasas: 0.70 y 1150 mU/mL (chapulín), 0.38 y 365 mU/mL (tenebrio) y 1.94 y 961.6 mU/mL (camarón). En las fermentaciones con sustratos desproteínizados se obtuvo la máxima concentración volumétrica a las 48 horas con todos obteniéndose los siguientes resultados para exoquitinasas y endoquitinasas: 1.11 y 2985 mU/mL (chapulín), 3.99 y 680 mU/mL (tenebrio) y 4.5 y 1254 mU/mL (camarón). Los resultados mostraron que la cutícula de chapulín fue el mejor sustrato para la producción de quitinasas por fermentación en medio líquido.

Palabras claves: Fermentación en medio líquido, hongo fitopatógeno, quitinasas.

Introducción

A nivel mundial los hongos fitopatógenos originan pérdidas que ascienden a miles de millones de dólares al año. El daño que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas atacadas por estos microorganismos. En cuanto a las pérdidas económicas, éstas pueden ser de tipo cuantitativo y/o cualitativo, sabor, textura, color y forma (Ma. del Pilar Rodríguez Guzmán, 2001). Entre estos hongos se encuentra *Penicillium sp* el cual es productor de quitinasas por lo que se estudia la capacidad de producir estas enzimas por el hongo (Baquero, 2012). El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la desproteínización de los sustratos sobre la producción de quitinasas por *Penicillium sp* en fermentación líquida.

Materiales y métodos.

Empleo un aislado morfológicamente similar a *Penicillium sp*, aislado de papaya, que fue cultivado en medio Papa dextrosa agar (PDA) durante ocho días a 25°C, después de este tiempo los conidios se extrajeron empleando una solución de Tween 80 al 0.02 %. La concentración del inóculo empleado en las fermentaciones fue de 1×10^7 conidios/mL.

Como sustratos se utilizaron tres fuentes de residuos quitinosos, exoesqueleto de camarón (*Penaeus*) provenientes de la embalsadera en la ciudad de Alvarado Veracruz, cutícula de



chapulín (*Sphenarium purpurascens*) de la comunidad de Santo Tomas Jalieza, Ocotlán, Oaxaca y cutícula de escarabajo harinero (*Tenebrio molitor*) perteneciente al insectario de la Universidad del Papaloapan. Se realizó una desproteínización previa de los sustratos con tetraborato de potasio agitando a 180 rpm, evaluando diferentes tiempos de tratamiento. Al final de cada tratamiento los sustratos se neutralizaron con agua destilada se molieron y tamizaron para obtener un tamaño de partícula de 149 μm .

La fermentación en medio líquido (FML) se realizó, empleando medio Czapeck modificado (Cira, *et al* 2002), utilizando como fuente de carbono y nitrógeno la cutícula desproteínizada de chapulín, tenebrio y camarón (10g/L) incubando a 25°C a un pH inicial de 5 y 180 rpm durante ocho días. A la fracción líquida de las muestras obtenidas cada 24 horas, se le determinó proteína soluble por el método de Bradford (1976), actividades quitinolíticas: endoquitinasas y exoquitinasas (Tronsmo y Harman, 1993), azúcares reductores (Miller, 1959), empleando una curva patrón de N-acetilglucosamina (NAG) y biomasa por peso seco.

Resultados y discusiones

La desproteínización de la cutícula de *Tenebrio molitor* con tetraborato de potasio utilizando la técnica de Montesinos-Matías (2012) incluye cinco lavados alternando con agua destilada y una agitación posterior con la sal durante once horas. La mejor desproteínización alcanzada en este trabajo fue un tratamiento continuo con tetraborato por una hora, alcanzando el 100% de desproteínización en los tres sustratos, con lo cual se redujo hasta cuatro veces la cantidad de reactivo y consumo de agua.

En las fermentaciones con sustratos sin desproteínizar los resultados mostraron que con cutícula de chapulín, *Penicillium sp* produjo la mayor cantidad de quitinasas (Tabla 1). Cabe mencionar que las concentraciones volumétricas de las endoquitinasas son diferentes para los tres sustratos, presentando la cutícula de chapulín un incremento de 3.1 veces en comparación con la cutícula de tenebrio y de 1.19 en comparación con exoesqueleto de camarón; mientras que para la Nhasa el exoesqueleto de camarón mostro un incremento de 2.7 en comparación con la cutícula de chapulín y de 5.1 veces en comparación con la cutícula de tenebrio.

La mayor concentración de azúcares reductores (0.070 y 0.075 mg NAG/mL) se observó a las 24 horas para las cutículas de chapulín y tenebrio que coincide con el tiempo de mayor producción de quitinasas lo que indicaría la liberación del monómero de NAG para cada sustrato. En el caso del exoesqueleto de camarón se observó que la mayor producción de azúcares reductores (0.261 mg NAG/mL), proteína soluble y biomasa fue a las 48 horas en comparación con los otros sustratos, coincidiendo con el tiempo máximo de producción de las enzimas.



Tabla 1. Resultados de la FML empleando *Penicillium sp* con sustratos no desproteinizados. El tiempo de mayor producción se muestra entre paréntesis

Determinaciones	Sustrato		
	Camarón	Chapulín	Tenebrio
Endoquitinasas (mU/mL)	961.6±0.001 (48 h)	1150±0.001 (24 h)	365±0.08 (24 h)
Exoquitinasas (mU/mL)	1.94± 0.02 (48 h)	0.70±0.002 (24 h)	0.38±0.003 (24 h)
Biomasa (mg/L)	29±0.007 (48 h)	12±0.01 (24 h)	8.1±0.01 (24 h)
Proteína soluble(µg/mL)	8.73±0.01 (48 h)	12.31±0.02 (24 h)	8.6±0.01 (24 h)
Azúcares reductores (mg NAG/mL)	0.261±0.001 (48 h)	0.070±0.001 (24 h)	0.075±0.01 (24 h)

Los resultados de la FML con sustratos desproteinizados (Tabla 2), mostraron el mismo comportamiento para los tres sustratos solo que a las 48 horas para el caso en las endoquitinasas se incrementó la concentración volumétrica. Mostrando la cutícula de chapulín un aumento de 2.3 veces en comparación con el exoesqueleto de camarón y de 4.3 veces con la cutícula de tenebrio; para el caso de las Nhasas el exoesqueleto de camarón fue 2.3 veces mayor en comparación con la cutícula de chapulín y 13.23 veces con la de tenebrio. Comparando la producción de enzimas de los sustratos sin desproteinar y desproteinizados las endoquitinasas, con cutícula de chapulín aumenta 2.5 veces, con tenebrio 1.8 y con camarón 1.3 veces; para la producción de Nhasas con chapulín aumenta 1.5 veces, con tenebrio 10.5 veces y con camarón 2.3 veces.

El tiempo de mayor producción de quitinasas coincidió con la máxima producción de azúcares reductores, proteína soluble y biomasa, a las 48 horas con los sustratos desproteinizados.

Tabla 2. Resultados de la FML empleando *Penicillium sp* con sustratos desproteinizados.

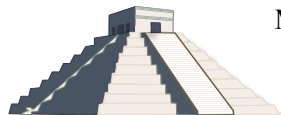
Determinaciones	Sustrato		
	Camarón	Chapulín	Tenebrio
Endoquitinasas (mU/mL)	1254±0.00.01 (48 h)	2985±0.001 (48 h)	680±0.001 (48 h)
Exoquitinasas (mU/mL)	4.5± 0.001 (48 h)	1.11±0.001 (48 h)	3.99±0.001 (48 h)
Biomasa (mg/L)	9.3±0.005 (48 h)	6.9±0.005 (48 h)	11±0.001 (48 h)
Proteína soluble(µg/mL)	10.59±0.008 (48 h)	9.28±0.01 (48 h)	11.57±0.001 (48 h)
Azúcares reductores (mg NAG/mL)	0.18±0.007 (48 h)	0.41±0.001 (48 h)	0.087±0.001 (48 h)

Los resultados mostraron que la cutícula de chapulín desproteinizada produce la mayor concentración volumétrica de endoquitinasas para el caso de las Nhasas el exoesqueleto de camarón desproteinado produce la mayor cantidad. Para fines de biocontrol los resultados sugieren que el proceso de desproteización a escala industrial tendría un efecto positivo sobre la producción de quitinasas.



Bibliografía

- Baquero J. E., Torrenegra R.D., Bayona M, 2012. Un metabolito Secundario Antibacteriano de *Penicillium verrucosum*. Proyecto Colciencias - Pontificia Universidad Javeriana, Cod. 1203-12-10404
- Bradford M M., 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding Analytical. Biochemistry Methods in the biological Sciences 72, 248.
- Miller G. L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry, 31: 426-428.
- Montesinos M. R., 2012. Relación de la inducción/represión de enzimas hidrolíticas con la infectividad en cepas de *Beauveria bassiana* resistentes a 2-desoxi-D glucosa. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana.
- Rodríguez Guzmán Ma. Del Pilar. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie) 2001 Número especial: 53-78 Instituto de Ecología, A.C. México
- Tronsmo, A., and Harman, G E., 1993. Detection and quantification of N-acetil-D-glucosaminidase, chitobiosidase, and endochitinase in solutions and on gels. Analytical. Biochemistry Methods in the biological Sciences 208: 74-79.



UNA ALTERNATIVA DE CONTROL PARA EL MUÉRDAGO ENANO *Arceuthobium* spp (SANTALALES: VISCACEAE).

Sergio Hernández-Pablo¹, Dionicio Alvarado-Rosales¹, Victoria Ayala-Escobar¹, Alejandro Pérez-Panduro¹.
¹Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo; Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco Edo. de México. C.P. 56230. sergio.hernandez@colpos.mx

Resumen: El objetivo inicial del presente estudio fue el aislamiento e identificación de hongos asociados a plantas de muérdago enano (*Arceuthobium vaginatum* subsp. *vaginatum*, *Arceuthobium globosum* subsp. *grandicaule*, *Arceuthobium abietis-religiosae*) con síntomas de marchitez y necrosis. Enseguida, se seleccionaron "in vitro", los hongos con potencial para el control, estableciendo un experimento bajo el diseño completamente al azar. Los hongos que mostraron este potencial fueron *Fusarium* spp, *Phoma* spp y *Alternaria* spp. Finalmente, estos hongos se aplicaron bajo condiciones de campo, en un diseño experimental completamente al azar, y se aplicó una concentración de 1×10^6 conidios/mL. Con base en los análisis estadísticos por el software SAS versión 9; los mejores tratamientos de los hongos que causaron síntomas de marchitez y necrosis fueron *Fusarium* spp y *Alternaria* spp. Se concluye que *Fusarium* spp, es el mejor hongo que causó mayor daño a una concentración de 1×10^6 conidios/mL y que podría usarse para el control del muérdago enano.

Palabras clave. Hongos asociados, *Arceuthobium*.



BIOCONTROL IN VITRO DE *Uromyces transversalis* (UREDINALES: PUCCINACEAE), CON HONGOS ANTAGONISTAS

Edith Sonia Romero-Orán¹, **Jesús Gaudencio Aquino-Martínez**², José Francisco Ramírez-Dávila³, Ana Tarín Gutiérrez-Ibáñez³ y Jesús Ricardo Sánchez-Pale³. ¹Estudiante del Programa y Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, edo. de México, C.P. 50200; ²Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), Conjunto Sedagro s/n, Metepec, edo. de México, C.P. 52140. ; ³Profesor-Investigador del Centro de Investigación en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, edo. de México, C.P. 50200.

Resumen. La roya [*Uromyces transversalis* (Thümen) G. Winter], es una enfermedad que afecta el rendimiento y calidad de la flor de gladiolo en el Estado de México y se combate con fungicidas químicos. Por ello, se evaluó la eficiencia del biocontrol *in vitro* de *U. transversalis* con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de la entidad. Se hicieron dos concentraciones de conidios (300 y 600 mL de UFC) de seis cepas de los hongos *Cladosporium* sp. (ClGI), *Alternaria* sp. (AltGI), *Aspergillus* sp. (AspGI) y *Trichoderma* sp. (TrFCA, TrJi y TrPi), con tres repeticiones, y se asperjaron sobre hojas de gladiolo con pústulas de roya procedentes de cinco localidades (Villa Guerrero, Zumpahuacán, Malinalco, Jocotitlán e Ixtlahuaca), bajo un diseño experimental completamente al azar. Las cajas Petri con las confrontaciones se incubaron por cinco días a 25 ± 2 °C. Los aislamientos TrPi (608.0×10^6 ml⁻¹ UFC), TrFCA (371.2×10^6 ml⁻¹ UFC) y AltGI (470.4×10^6 ml⁻¹ UFC), presentaron la mayor colonización de pústulas de *U. transversalis* con 67.62, 62.67 y 60.20 %, respectivamente. Por la forma en que los antagonistas colonizaron las pústulas del patógeno se deduce que su modo de acción es por micoparasitismo.

Palabras clave: Gladiolo (*Gladiolus* spp.), Roya transversal (*Uromyces transversalis*), *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp.

Antecedentes

La floricultura es una actividad de importancia económica en México, existiendo en el país alrededor de 2.2 mil hectáreas cultivadas de gladiolo (Escalante *et al.*, 2006). El cultivo del gladiolo es afectado por diferentes tipos de plagas y enfermedades, entre las enfermedades fúngicas, destaca la roya transversal, originada por el agente causal *Uromyces transversalis* (Thümen) G. Winter, (CESAVEM, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006). En el Estado de México, se siembran alrededor de 800 ha; sin embargo, la “roya transversal” ocasiona pérdidas mayores al 90 % de la producción (CESAVEM, 2005; Schubert *et al.*, 2006). El manejo y control de la roya transversal, se han realizado por diversas estrategias basadas principalmente en el uso de plaguicidas sintéticos. Una estrategia innovadora para el manejo de plagas y enfermedades de plantas de importancia agrícola, es el control biológico (Whipps y Lumbsed, 2001). Dentro del control biológico existe el empleo de hongos antagonistas nativos asociados al patógeno en cultivos comerciales de gladiolo, razón por la cual este trabajo tiene como propósito evaluar la



eficiencia de control de seis cepas de hongos contra *U. transversalis* en cultivos comerciales de gladiolo de cinco municipios.

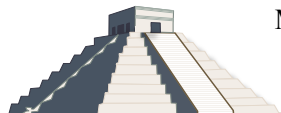
Materiales y métodos

El presente trabajo de investigación consistió en evaluar la eficiencia del biocontrol *in vitro* de *U. transversalis* con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de la entidad. Se hicieron dos concentraciones de conidios (300 y 600 mL de UFC) de seis cepas de los hongos *Cladosporium* sp. (ClGl), *Alternaria* sp. (AltGl), *Aspergillus* sp. (AspGl) y *Trichoderma* sp. (TrFCA, TrJi y TrPi), con tres repeticiones, y se asperjaron sobre hojas de gladiolo con pústulas de roya procedentes de cinco localidades (Villa Guerrero, Zumpahuacán, Malinalco, Jocotitlán e Ixtlahuaca), bajo un diseño experimental completamente al azar. Siguiendo la metodología modificada de Hsiang y colaboradores (2004), se realizaron cortes de hojas de gladiolo con pústulas de *U. transversalis* de 3X7 cm aproximadamente. En cada corte se colocó en cada corte con empleo de una micropipeta 0.7 μ L de la suspensión de UFC de cada antagonista sobre cada una de las pústulas, contando previamente el número total de estas. Una vez realizada la puesta de la gota de UFC, se pasaron los cortes del tejido junto con bases plásticas en cajas de Petri con medio Aguar- Agua, incubados por 5 días a una temperatura de 25°C \pm 2 °C. La colonización de los antagonistas se observó cada 24 hrs, bajo estereomicroscopio, para evaluar el porcentaje de colonización, considerada a los cinco días, empleando la fórmula: % Colonización= (No. De pústulas colonizadas/ No. De pústulas totales) X 100, adaptada de la fórmula de Phillips y Hayman (1970). Finalmente se realizaron montajes temporales de cortes transversales, de los crecimientos fúngicos sobre las pústulas y fueron fotografiadas con el software PixelPro Versión 1.1.0.

Resultados y discusión

El total de cepas de hongos antagonistas empleados fueron seis: *Cladosporium* sp. (ClGl), *Alternaria* sp. (AltGl), *Aspergillus* sp. (AspGl) y *Trichoderma* sp. (TrFCA, TrJi y TrPi). Los antagonistas utilizados para biocontrol de enfermedades son generalmente saprófitos, debido a su facilidad de adaptación al medio, su alta capacidad de competencia por nutrientes frente a otros microorganismos, su versatilidad y fácil manipulación, el hongo *Cladosporium* puede emplearse como agente de biocontrol de la roya transversal, además este microorganismo se aisló de las pústulas de roya transversal y roya blanca. En cambio *Trichoderma* ha sido reportado como agente de biocontrol de diversos hongos patógenos, principalmente del suelo, debido a su amplia distribución y alto rango de hospedantes (Howell, 2006; Aquino, *et al.*, 2007; Hoyos, *et al.*, 2008; Quiroz, *et al.*, 2008). Sin embargo, existen otras especies fúngicas que potencialmente pueden inhibir o limitar el crecimiento de los patógenos (Paul, 1999a; 1999b), como es el caso de algunas especies de *Aspergillus* (Alfonso *et al.*, 1992; Lourenço *et al.*, 2006; Suárez-Estrella *et al.*, 2007).

Pruebas de antagonismo *in vitro*. Se observaron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos de TrPi y las cepas ClGl y AspGl, en las diluciones de 300 mL. De las seis cepas probadas, TrPi invadió claramente el mayor número de pústulas. Los tratamientos de la



dilución de 600 mL, no presentaron diferencias estadísticas, sin embargo las cepas AltGl, TrFCA y TrPi presentaron un porcentaje de colonización superior al 50% (Cuadro 1).

Cuadro 1. Media y desviación estándar del porcentaje de colonización (efectividad biológica) de dos concentraciones de ufm de seis hongos antagonistas sobre *U. transversalis*.

Cepa	%Col (600 mL)	%Col (300 mL)
	Media \pm σ	Media \pm σ
CIGlI	47.70 \pm 21.68	45.36 \pm 15.11 b
AltGl	60.20 \pm 17.69	60.20 \pm 17.24 ab
AspGl	41.70 \pm 21.40	44.54 \pm 26.3 b
TrFCA	56.00 \pm 25.57	62.67 \pm 20.25 ab
TrJi	48.80 \pm 21.00	53.73 \pm 14.16 ab
TrPi	53.20 \pm 23.74	67.62 \pm 24.84 a

Pese a la mayor cantidad de UFC en la cepa de *Aspergillus* sp (Cuadro 2), esta no influyo en su eficiencia biológica representada en el porcentaje de colonización.

Cuadro 2. Total de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) por mililitro.

Dilución 1 (600 ml)		Dilución 2 (300 ml)	
Cepa	ufm/10 μ l	Cepa	ufm/10 μ l
CIGl	236.8X10 ⁶	CIGl	521.6X10 ⁶
AltGl	166.4X10 ⁶	AltGl	470.4X10 ⁶
AspGl	183.0X10 ⁹	AspGl	3.369X10 ⁹
TrFCA	134.4X10 ⁶	TrFCA	371.2X10 ⁶
TrJi	160.0X10 ⁶	TrJi	348.8X10 ⁶
TrPi	332.8X10 ⁶	TrPi	608.0X10 ⁶

Respecto a los cortes transversales, de los crecimientos fúngicos sobre las pústulas Sempere y Santamarina (2008), han observado que la capacidad antagonica se hace evidente por la variación observada con respecto a la selectividad de algunas cepas de hongos. En las observaciones microscópicas de las zonas de colonización, las seis cepas produjeron variaciones como deshidratación, degradación y deformación de uredias y urediosporas (Fig. 1A).

Conclusion

Los aislamientos TrPi (608.0X10⁶ ml⁻¹ UFC), TrFCA (371.2X10⁶ ml⁻¹ UFC) y AltGl (470.4X10⁶ ml⁻¹ UFC), presentaron la mayor colonización de pústulas de *U. transversalis* con 67.62, 62.67 y 60.20 %, respectivamente. Por la forma en que los antagonistas colonizaron las pústulas del patógeno se deduce que su modo de acción es por micoparasitismo mediante hinchamiento, degradación y deformación de uredias y urediosporas. Los aislamientos serán evaluados en campo e invernadero, y se podrán emplear en un programa de manejo integrado de roya transversal del gladiolo.

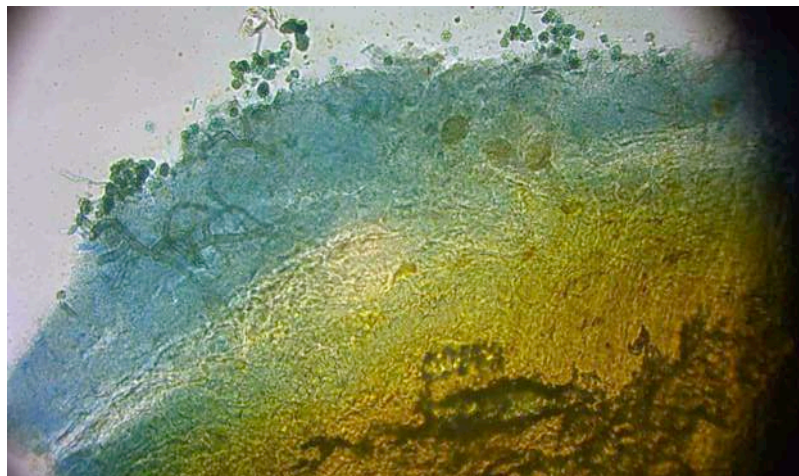


Fig.1. A. Observación en microscopio compuesto de la invasión de *Trichoderma* de Pino (TrPi) en el tejido y ureidas de *U. transversalis* (40X).

Literatura citada

- Alfonso C., F. del Amo, O.M. Nuero, F. Reyes, 1992. Physiological and biochemical studies on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 for its biocontrol by nonpathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters 99 : 169-174.
- Aquino- Martínez J.G, L.M Vasques- García y B.G. Reyes-Reyes. 2007. Biocontrol in vitro de *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *dianthi* (Prill. y Delacr.) Synder y Hans. con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de Villa Guerrero, Estado de México. Revista Mexicana de Fitopatología 26: 127-137.
- Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de México (CESAVEM). 2005. Resultados del muestreo de la roya transversal del gladiolo en el Estado de México. Toluca, México, México. 12 p.
- Escalante, E.L.E., Escalante, E.Y.I., Linzaga, E.C. y Carreño, R.E. 2006. Efecto de diferentes dosis de sulfato de amonio en el rendimiento del gladiolo (*Gladiolus grandiflorus* L.). Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero; Iguala Guerrero, México. 5 p.
- Howell C.R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology. Vol. 96, No. 2. Pp. 178-180
- Hoyos-Carbajal L., Duque G., y Ordaz P.S. 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 2:77-82.
- Lourenço Jr., V., L.A. Maffia, R. da Silva-Romeiro, E.S.G. Mizubuti, 2006. Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. Biological Control 38 : 331-340.
- Paul, B., 1999a. Suppression of *Botrytis cinerea* causing the gray mould disease of grape-vine by an aggressive mycoparasite, *Phytium radiosum*. FEMS Microbiology Letters 176 : 25-30.
- Paul, B., 1999b. *Phytium periplocum*, an aggressive mycoparasite of *Botrytis cinerea* causing the gray mould disease of grape-vine. FEMS Microbiology Letters 181 : 277-280.
- Quiroz-Sarmiento V.F., Ferrera-Cerrato R., Alarcón A., y Lara, H.M. 2008. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. Revista Mexicana de Micología. 26:27-31.
- Rodríguez G., S.P. Fernández, M. Valenzuela y J.G. Loya. 2006. First report of gladiolus rust caused by *Uromyces transversalis* in Michoacán, México. Plant Diseases.(5): 687.
- Schubert, T., Leahy, R. and Silagyi, A. 2006. Pest alert. Gladiolus rust (*Uromyces transversalis*) arrives in the US: Florida and California. DPI-FDACS. <http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/pathology%5Cgladiolus-rust.html>.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Sempere, F., M.P. Santamarina, 2008. Suppression of *Nigrospora oryzae* (Berck & Broowe) Petch. by an aggressive mycoparasite and competitor, *Penicillium oxalium* Curve & Thom. International Journal of Food Microbiology 122 : 35-43.
- Suárez-Estrella, F., C. Vargas-García, M.J. López, C. Capel, J. Moreno, 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*. Crop Protection 26 : 26-53.
- Whipps, J.M., D.R. Lumsden, 2001. Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: Status and prospects. In: Butt, T.M., C.W. Jackson, N. Magan (eds.), Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potentials. CABI Publishing. Wallingford. pp 9-22.



TOLERANCIA A *Phytophthora capsici* EN PLANTAS DE FRESA INOCULADAS CON *Rhizopagus intrarradices* Y BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR's).

María Serret-López¹, David Espinosa-Victoria², Olga Gómez-Rodríguez¹, Julián Delgadillo-Martínez². ¹ Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados. CP 56230, Texcoco, Edo. de México. Teléfonos: 5804-5900 y 95-202-00. ² Postgrado en Edafología, Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. de México. Teléfonos: 5804-5900 y 95-202-00., serret1702@hotmail.com.

Resumen. La fresa (*Fragaria annanasa* Duch.) es un cultivo de gran importancia para México. Sin embargo, el abuso en la aplicación plaguicidas en el control de patógenos del suelo, ha ocasionado la degradación de estos y daños a la salud humana. Esto ha llevado a buscar alternativas de biocontrol, por lo tanto, el objetivo general este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Rhizopagus intrarradices* (*Glomus intrarradices*) e inoculación con PGPR's en la supresión de la marchitez causada por *Phytophthora capsici* en la variedad comercial de fresa "Festival". Ocho días después del trasplante se inoculó 3 g de esporas de *Rhizopagus intrarradices* y una concentración de 10⁸ ufc/ml de PGPR's por tratamiento. *Phytophthora capsici* se inoculó 45 días después de la aplicación de estos organismos. Se evaluaron las siguientes variables: Antagonismo de PGPR's a este patógeno, colonización micorrízica y severidad de la enfermedad. Se observó la presencia de hifas y vesículas en las plantas inoculadas con *R. intrarradices*, 40 días después de la inoculación y disminución en la severidad en plantas inoculadas con este agente de biocontrol, sin embargo, contrario a lo que se esperaba, se observó una severidad del 67.5% en plantas inoculadas con PGPR's.
Palabras clave: Micorriza, patógeno, supresión.

Introducción

La fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) es una planta perteneciente a la familia Rosácea y es considerada fruta de placer por excelencia. Se destaca por su contenido de vitamina C, taninos, flavonoides, antocianinas, catequina, quercetina, kaempferol y ácidos orgánicos (Argelys, 2012). Para México el cultivo de la fresa es de gran importancia socioeconómica por su fuerte demanda de mano de obra y porque genera una elevada proporción de los ingresos por divisas que el país obtiene a través de las exportaciones frutícolas (Sánchez, 2008). El principal estado productor de fresa en México es Michoacán, con una superficie sembrada de 6,418 has siguiéndole Baja California con 2,022 has (SIAP, 2013). En la región de Zamora, Michoacán, las variedades que más se cultivan son "Festival" con el 32% de la superficie total, "Camino Real" con el 28% y "Aromas" con el 20%; en la zona Norte-Centro las variedades "Camino Real", "Camarosa" y "Festival" cubrieron el 97% de la superficie total (Sánchez, 2008). Dentro de los principales problemas fitosanitarios encontramos a *Phytophthora*, que es un género importante de oomycetos fitopatógenos responsable directo de considerables pérdidas económicas en este cultivo. Ocasiona daños a plantas susceptibles como, pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas, base del tallo y otros órganos. Las plantas de fresa con frecuencia empiezan a mostrar síntomas como marchitamiento, clorosis y resquebrajamiento de tallo; debido principalmente a la sequía y



deficiencia nutricional, se debilitan y se vuelven susceptibles al ataque de otros patógenos lo cual aunado a diversos factores, conducen a la muerte de las plantas (Dorantes *et al.* 2008). *Phytophthora capsici* se aisló por primera vez en Nuevo México, EUA, en pimiento (Leonian, 1992); después en otros hospedantes, tal es el caso de, calabacita, melón, berenjena, jitomate, cacao, macadamia, pepino, sandía y fresa (Tlapal *et al.* 1995). Para el manejo de este fitopatógeno se emplean: agroquímicos, variedades resistentes, prácticas culturales y microorganismos antagónicos (Mora, 1988; Espinosa *et al.* 2004). Se ha reportado que la micorriza arbuscular tiene un efecto supresor protector en las enfermedades causadas por algunos patógenos de la raíz como *Phytophthora capsici*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas syringae* (Dorantes *et al.* 2008). Así mismo se ha encontrado que la micorriza arbuscular y PGPR's tienen efecto protector contra enfermedades causadas por algunos patógenos de raíz como *Phytophthora capsici*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas syringae* (Dorantes *et al.* 2008). Por lo tanto, el objetivo general este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Glomus intraradices* y PGPR's. como mecanismo de tolerancia de plantas de fresa a la infección de *Phytophthora capsici*.

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en dos fases, la primera, en el laboratorio de Microbiología perteneciente al Postgrado de Edafología y la segunda, en una cámara bioclimática, perteneciente al Postgrado de Botánica, ubicada en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Estado de México: 19°30' LN, 98°53' LO, 2250 ,msnm. La primer fase, consistió, en realizar una prueba de antagonismo con PGPR's constituido por las bacterias: *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, y *Paenibacillus* sp. Proporcionadas por el área de Microbiología, del Postgrado de Edafología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se cultivaron en agar nutritivo por 48 h a 27°C. La cepa *P. capsici* proporcionada por el Postgrado de Fitopatología de la misma institución, con diez días de desarrollo en medio v8 (Agar nutritivo, Jugo v8 y Carbonato de calcio). Las bacterias fueron estriadas de forma individual en una línea recta 3cm desde la rodaja de *P. capsici*. Las cajas fueron incubadas a 25°C por 5 días y después se comprobó la zona de inhibición y cualquier cambio en la morfología micelial de *P. capsici*. Como control, se utilizó un disco de micelio del patógeno sin el antagonista. Después de sembrar el antagonista en las cajas, actividad de los aislamientos antagónicos se clasificó de acuerdo con el grado basado en una escala de 1 a 5, en la cual 1 es el 100% de micoparasitismo y 5 en 0% de micoparasitismo. La segunda fase, se realizó en ambiente controlado, estuvo constituida de ocho tratamientos (incluyendo los testigos positivo y negativo). Los tratamientos fueron los siguientes: (1) Testigo negativo (sin inocular), (2) Testigo positivo (inoculado con *P. capsici*.), (3) Plantas inoculadas con PGRP's, (4) Plantas inoculadas con PGRP's y *P. capsici*, (5) Plantas inoculadas con *R. intraradices*, (6) Plantas inoculadas con *R. intraradices* y *P. capsici*, (7) Plantas inoculadas con PGRP's y *R. intraradices* (8) Plantas inoculadas con PGRP's, *R. intraradices* y *P. capsici*. En ambos experimentos, se estableció un diseño experimental completamente al azar, tomando como unidad experimental una caja Petri en el primer caso y una maceta de 400 cm³, en el segundo. El sustrato consistió en peat moss, agrolita y vermicomposta a una proporción de 4:4:2. Posteriormente se sembró un estolón de fresa por contenedor, previamente desinfectado con agua



de la llave estéril y cloro, se muestrearon al azar tres estolones, a los cuales se les realizó un corte de corona para descartar daño en estos. Se fertilizó cada 15 días con la solución nutritiva Long anstong. Las variables a evaluar fueron: el porcentaje de inhibición de las PGRP's, la presencia o ausencia de colonización micorrízica y severidad de *P. capsici* en fresa. La severidad de la enfermedad se evaluó a los 0,3,5, 10 y 15 días, después de la inoculación del patógeno, usando la escala de 1 a 5, basándose en el grado de marchitez de la planta, donde: 1=0% de hojas marchitas; 2= 1-25% de hojas marchitas; 3= 25-50% de hojas marchitas; 4=51-70% de hojas marchitas, 5=71-100% de hojas marchitas o muerte de la plantas. La severidad de la enfermedad (SE) se expresó como una proporción (porcentaje) de acuerdo con la fórmula de Adorada *et al.* (2000).

$$SE (\%) = \frac{\text{Suma de los valores de la enfermedad}}{(\text{número total de valores})(\text{valor máxmo de la enfermedad})} \times 100$$

Resultados y discusión

Las PGPR's producen sustancias que incrementan el crecimiento de las plantas y las protegen contra patógenos de la raíz (Glick, 1995). Estos resultados sugieren que las tres cepas bacterianas tuvieron un efecto antagónico *in vitro* contra este patógeno (Cuadro 1). Pérez (2012), indica que posiblemente estén produciendo antibióticos que se difunden a través del medio de cultivo, los cuales son causantes de la inhibición del crecimiento del micelio de este hongo. Landa *et al.* (1997) mencionan que algunas cepas de *Pseudomonas* producen metabolitos secundarios que se difunden en el agar causando la inhibición de *Fusarium* sp.

Cuadro 1. Inhibición del crecimiento del micelio de *Phytophthora capsici in vitro* causada por tres cepas de rizobacterias, después de cinco días.

Cepa	Inhibición fúngica
<i>Paenibacillus</i> sp.	54.930 ^a
<i>Pseudomonas tolaasii</i>	54.125 ^a
<i>Bacillus pumilus</i>	43.108 ^a

*Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$), n=4

La confirmación de la presencia de *Rhizophagus intraradices* se realizó siguiendo el método de Phillips y Hayman (1970). Observándose la presencia de hifas y vesículas 40 días después de la inoculación.

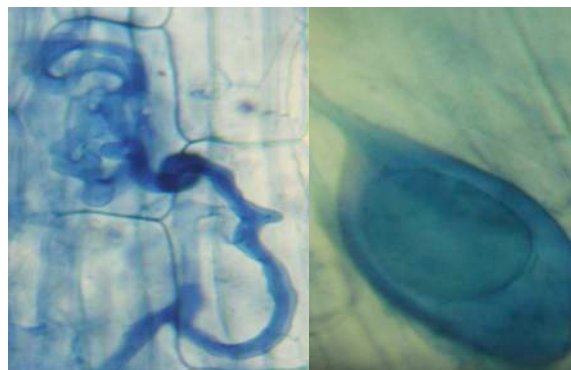


Figura 1. Presencia de hifas y vesículas en plantas de fresa micorrizadas con *R. intrarradices*

Avis (2008), señala que debido al aumento en los problemas asociados con el uso de agroquímicos, se ha incrementado el uso de microorganismos benéficos para mejorar la salud de las plantas y la productividad al tiempo que garantiza la seguridad para el consumo humano y la protección del medio ambiente. En este contexto, muchos microorganismos presentes en el suelo han demostrado ser benéficos y están integrados en una amplia variedad de sistemas de cultivo como parte de las prácticas de manejo integrado de plagas (Antoun y Prevost, 2005), sin embargo este enfoque requiere más investigación para ser implementado efectivamente en los sistemas de producción de frutillas (Gigot *et al.* 2013). Al final del experimento se registró 25% de marchitez en plantas premicorrizadas con *R. intrarradices* e inoculadas PGPR's, difiriendo con Vosatka *et al.* (1992) que encontraron un efecto sinérgico sobre el crecimiento de fresa después de la co-inoculación con HMA y *P. putida*, en un estudio posterior Vosatka *et al.* (2000) observaron que *Agrobacterium radiobacter* estimula la colonización de HMA en fresa, sin embargo, no hay muchos estudios con PGPR's en combinación con HMA para el cultivo de frutillas (Vestberg, 2004). Las plantas inoculadas únicamente con *G. intrarradices* presentaron un 0% de severidad de la enfermedad en comparación con el testigo positivo que presentó un 75% de marchitez. Van Volpin *et al.* (1994) y Dixon y Paiva (1995) indicaron que la "inmunización" (acumulación de enzimas hidrolíticas y compuestos fenólicos) de plantas contra patógenos debida a la pre-micorrización, puede explicar la reducción de la severidad de la enfermedad. Norman y Hooker, (2000) observaron que los lixiviados y exudados de la raíz en plantas de fresa colonizadas con HMA resultaron en la reducción de la esporulación de *Phytophthora* comparada con plantas no premicorrizadas, reportaron que hay una reducción de un 64-89% en el número de esporangios producidos. Las plantas inoculadas con PGPR's presentaron un 67.5% de severidad de la enfermedad. Benavides *et al.* (2004), mencionan que la interacción planta-bacteria, en ocasiones es impredecible, esto hace difícil contar con cepas o agentes de control biológico que sean aplicables a todos los cultivos, una posible explicación a la falta de respuesta de las plantas frente a las bacterias aplicadas, puede consistir en la variabilidad en la respuesta de los agentes de control biológico al ambiente, lo cual se manifiesta en resultados inconsistentes.



Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento para realizar la presente investigación.

Literatura citada

- Adorada, D.L., C.L. Biles, C.M. Liddell, S. Pavia-Fervandez K.O, Waugh y M.E.Waugh. 2000. Susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. *Plant Pathology* 49:719-726.
- Antoun H, Prevost D. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, pp. 1–38.
- Argelys K., D. 2012. Revisión bibliográfica. Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa Duch.*) a través de métodos biotecnológicos. *Cultivos Tropicales*. Volumen 33(3): 34-41.
- Avis T. J, Gravel V, Antoun H, Tweddell R. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 1733–1740
- Benavides M. A., Ramirez H., Robledo T. V., Dávila H. J. 2004. El efecto de tres fumigantes de suelos y dos cepas de bacterias sobre la productividad de fresa (*Fragaria x annassa*). *Revista Internacional de Botánica Experimental*. 53:91-102
- Dixon, R. A., and N. L. Paiva. 1995. Stress-induced phen-ylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7:1085-1097
- Dorantes G., N. Abud C., Y. y Pavia F., P. 2008. Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici* Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum L.*) *Biológicas*, No 10: 100-108.
- Espinosa V., D. González M., D. Placencia P. y García E., R. 2004. Reducción de la incidencia de *Phytophthora capsici* Leo en el sistema radical de plántulas de chile premicorrizadas con *Glomus intraradices*. *Terra Latinoamericana*: 317-326
- Espinosa V., D. González M., D. Placencia P. y García E., R. 2004. Reducción de la incidencia de *Phytophthora capsici* Leo en el sistema radical de plántulas de chile pre-micorrizadas con *Glomus intraradices*. *Terra Latinoamericana*: 317-326
- Gigot J.A., Zasada I.A., Walters T.W. 2013. Integration of brassicaceous seed meals into red raspberry production systems. *Applied Soil Ecology* 64: 23–31
- Glick B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41, 109–117.
- Landa, B., A. Hervás, W, W. Bettiol and R. Jiménez-Díaz. 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. *Phytoparasitica* 25: 305-318.
- Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. *Nov. Phytopathology*. 12: 401-408.
- Mora L., F. 1988. Guía de producción para chile picante. Laboratorios Griffith. San José, Costa Rica.
- Norman J.E y Hooker. 2000. Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by micorrhizal strawberry roots. *Mycology Reserch*. 104 (9) : 1069-1073
- Pérez E.R. 2012. Inoculación de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en Pepino (*Cucumis sativus L.*). Presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Phillips, J.M. y D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Sánchez R., G. 2008. La red de valor fresa: Sistema de inteligencia de mercados. Fundación Produce Michoacán. 145 p.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) disponible en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=197 consultado el 05 de marzo del 2013.
- Tlapal, B.B., Osaka, K.S., Gonzáles, C.F y Mendoza, Z.C. 1995. Comportamiento fisiológico de 30 aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13:41-51
- Van Volpin, H., J. Elkind, Y. Ocón y Y. Kapulnik. 1994. A vesicular arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradix*) induces defense response in alfalfa roots. *Plant Physiol.* 104:683-689.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Vestberg M., Parikka P., Kukkonen S., Huttenen J., Tainio L., Devos N., Weekers F., Kevers T.P., Lemoine M.C., Cordier C, Alabouvette C, Gininazzi S. 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology* 27: 243–258
- Vosatka M., Gryndler M., Jansa J., Vohnik M. 2000. *Post vitro* mycorrhization and bacterization of micropropagated strawberry, potato and azalea. *Acta Hort.* 530: 313–324.
- Vosatka M., Gryndler M., Prikryl Z. 1992. Effect of rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry. *Agronomie* 12: 859–863.



IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *B. thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) CON ACTIVIDAD NEMATICIDA

Luis A. Verduzco-Rosas y Jorge E. Ibarra. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV)
Unidad Irapuato, Apartado postal 629, 36500, Irapuato, Gto, México. jibarra@ira.cinvestav.mx

Resumen. *Bacillus thuringiensis* (Bt) es una bacteria usada globalmente en agricultura como agente de control biológico contra plagas de insectos y recientemente se le han adjudicado novedosas actividades contra diversos organismos, una de ellas como agente antihelmíntico, el cual está en intensa investigación y su uso como agente de control biológico de nemátodos se encuentra en desarrollo. En la presente investigación, se analizó la actividad nematocida de 310 cepas nativas de Bt contra el nemátodo de vida libre *Caenorhabditis elegans*. Sólo las cepas LBIT-596 y la cepa LBIT-107 mostraron importante nivel de mortalidad. La CL_{50} del complejo espora-cristal fue de 37.18 y 31.89 $\mu\text{g/ml}$ para las cepas LBIT-596 y BIT-107, respectivamente, mientras que los cristales puros mostraron una CL_{50} de 23.76 y 21.25 $\mu\text{g/ml}$ de LBIT-596 y LBIT-107, respectivamente. El análisis proteico en SDS-PAGE mostró que los cristales parasporales de LBIT-596 contienen proteínas de 35 y 130 kDa, que activadas con tripsina se reducen a 28 y 55 kDa, respectivamente. LBIT-107 contiene proteínas de 28 y 70 kDa y la mayor se degrada a 65 kDa después de la activación con tripsina. Amplicones de genes *cry* de tres dominios y del grupo *cyt1* fueron clonados y secuenciados. Los SDS-PAGE y el análisis de secuencias indican que LBIT-596 contiene las proteínas Cry5B y Cyt1A, mientras que LBIT-107 contiene las proteínas Cry14A y Cyt1A. Interesantemente un amplicón de LBIT-107 muestra solo el 88% de identidad con la secuencia del gen *cry14A*. Como parte de la caracterización de las cepas nematocidas, se obtuvo el patrón de plásmidos y la secuencia del gen de la flagelina, y finalmente se realizó una reconstrucción filogenética incluyendo las cepas nematocidas. Estos resultados indican un potencial uso de estas toxinas contra nemátodos parásitos de importancia económica.

Palabras clave: *B. thuringiensis*, genes *cry*, cepas nativas, *C. elegans*.

Agradecimientos. Los autores agradecen el excelente apoyo técnico de la M.C. Elia Regina Basurto Ríos y del Ing. Javier Luévano Borreol. El autor principal (LAVR) recibe beca de posgrado del CONACYT.



EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Equisetum hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani* (Ell y G. Martin)

Gerardo Arias Robledo²; María Sol Robledo y Monterrubio¹; Eduardo García Miguel³; Higinio Francisco Arias Velázquez¹. ¹Laboratorio de Histología y Citología General. Invernadero de Especies Tropicales. Área de Biología. Departamento de Preparatoria Agrícola. Centro de Investigación de Agricultura Orgánica y Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo. Kilómetro 38.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. mrobledoym@yahoo.com.mx. ²Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Arias.g@live.com.mx. ³Departamento de Suelos, Recursos Naturales. Universidad Autónoma Chapingo.

Resumen. El tizón temprano, ocasionado por el patógeno *Alternaria solani* es una de las principales enfermedades que afectan el rendimiento del jitomate, se han reportado pérdidas en el rendimiento del cultivo de hasta 79%. De manera tradicional, su control se basa en el uso de fungicidas sintéticos en su mayoría. El uso de extractos de plantas del género *Equisetum* podría ser una alternativa para controlar el daño ocasionado por hongos fitopatógenos y ser un éxito en la agricultura orgánica. En este trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos para el crecimiento de *A. solani* con extracto acuoso de *Equisetum hyemale* spp. *Affine* x *myriochaetum* como una opción de método de control biorracional y así disminuir el uso de agroquímicos. Estos resultados indican que el uso de extractos acuosos de *E. hyemale affine myriochaetum* pueden ser utilizados como una herramienta alternativa para el control de *A. solani* en poscosecha. El aprovechamiento de este extracto en conjunto con otras prácticas de manejo, podrían disminuir los efectos desfavorables para la salud humana, así como también al impacto ambiental y la aparición de cepas de hongos más resistentes.

Palabras Clave. *Equisetum hyemale*, extractos vegetales, *Alternaria solani*, fitopatógenos, jitomate

Introducción

A nivel mundial los hongos fitopatógenos ocasionan pérdidas que ascienden a miles de millones de dólares al año (National Academy of Sciences, 1980). Se sabe que más de 8,000 especies de hongos pueden causar enfermedades en las plantas. Muchos hongos fitopatógenos son capaces de infectar a más de una especie de plantas, y a su vez una planta puede ser infectada por diferentes especies de fitopatógenos. Algunos géneros y especies presentan una gran capacidad de adaptación y se encuentran ampliamente distribuidos. (National Academy of Sciences, 1980).

El tizón temprano, ocasionado por el patógeno *Alternaria solani* (Ell y G. Martin) es una de las principales enfermedades que afectan el rendimiento del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Su control es difícil y la opción del empleo de variedades resistentes es uno de los objetivos a lograr en breve plazo, para lo cual se requiere del conocimiento de los mecanismos básicos que rigen la interacción. Se han reportado pérdidas en el rendimiento del cultivo de hasta 79% provocadas por el tizón temprano en Canadá, India, Estados Unidos y Nigeria (Basu 1974a; Datar & Mayee 1981; Sherf & MacNab 1986; Gwary & Nahunnaro 1998). De manera tradicional, su control se basa en el uso de fungicidas sintéticos en su mayoría, se ha reportado que suele ser recomendable utilizar productos a base de clorotalonil, oxiclورو de cobre y



Mancozeb (Barreto *et al.*, 2002; ICA, 1970), sin embargo la demanda por parte de los consumidores de productos libres de residuos químicos y la aparición de hongos resistentes a estos compuestos ha dificultado el control de estos patógenos.

El uso de extractos de plantas del género *Equisetum* (conocidas comúnmente como “cola de caballo”) podría ser una alternativa para controlar el daño ocasionado por hongos fitopatógenos (Martínez-Villordo, 2007) y ser un éxito en la agricultura orgánica. En este trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos para el crecimiento de *A. solani* con extracto acuoso de *Equisetum hyemale* Linnaeus spp. *affine* (Engelmann) Calder & R. L. Taylor x *myriochaetum* Schlechtendal y Chamisso como una opción de método de control biorracional y así disminuir el uso de agroquímicos. El aprovechamiento de este extracto en conjunto con otras prácticas de manejo, podrían disminuir los efectos desfavorables para la salud humana, así como también al impacto ambiental y la aparición de cepas de hongos más resistentes.

En años anteriores se probaron diferentes extractos orgánicos de *E. hyemale* sobre *Fusarium solani* (Arias-Robledo *et al.*, 2009 y 2010), utilizando hexano, metanol y cloruro de metileno; por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un extracto acuoso de *Equisetum hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* sobre el crecimiento micelial de *A. solani*. La ventaja del extracto acuoso es su fácil obtención a comparación de los solventes anteriores. Los resultados obtenidos indican que el uso de extractos acuosos de *Equisetum hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* pueden ser utilizados como una herramienta alternativa para el control de *A. solani* en poscosecha.

Materiales y métodos

Se utilizó una cepa de *Alternaria solani* aislada a partir de tejido infectado de un fruto de almacén Jitomate (*Solanum lycopersicum*) dicha cepa se encuentra en la colección de hongos microscópicos del Laboratorio de Histología y Citología General del Área de Biología de la UACH.

La técnica de aislamiento consistió en realizar pequeños cortes (10 x 10 mm) alejados 5mm de la zona infectada del fruto, estos trozos se colocaron en el centro de cajas de Petri con medio de cultivo APD (Agar, Papa Dextrosa; marca Bioxon) bajo condiciones de asepsia, haciendo 3 repeticiones por cepa. Estos se dejaron crecer en una incubadora a 30°C. Se revisaron los cultivos diariamente para cuando fuera necesario realizar los reaislamientos tomando con una gasa, previamente esterilizada con fuego, las colonias del hongo, sembrando por el método de rayado en cajas de Petri con APD colocándolas después en una incubadora a 30°C. Este proceso se repitió hasta obtener la cepa pura del hongo. Una vez purificada la cepa, se resembró en tubos de agar inclinado y se conservó en refrigeración

Se realizaron colectas de de *Equisetum hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* dentro del invernadero de especies tropicales de la Universidad Autónoma Chapingo, dicha especie de cola de caballo proviene del Río Alseseca, Municipio de Tlapacoyan, Veracruz, los ejemplares fueron



determinados con base en la obra de Tejero-Díez *et al.* (1998) y fueron depositados en el Herbario Jorge Salas del Departamento de Preparatoria Agrícola. Otros fueron secados a condiciones ambientales en el Laboratorio de Histología y Citología General. Una vez seco, se cortaron 100g en finos trozos y se colocaron en 900 L de agua. Posteriormente se dejó hervir a 100 °C por un periodo de 5 minutos. Obteniendo una solución madre a una concentración del 10%. Se elaboraron los medios de cultivo a concentraciones de 0 (Agua Agar), 0 (PDA), 0.5, 1, 5 y 10% respectivamente. Para la elaboración del medio a 0.5% se diluyeron 7.8g de PDA en 190mL de agua destilada, posteriormente se le colocaron 10mL de la solución madre de extracto acuoso, se mezcló bien y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos, obteniendo 200mL de medio a una concentración de 0.5%. Dentro de una campana de flujo laminar se sirvió el medio en 9 cajas de Petri. Se dejaron solidificar y se trazaron dos ejes (A y B) en la parte inferior de la caja. Las diferentes concentraciones de los medios de cultivo fueron preparadas por el método anterior.

Con un sacabocados se tomaron discos de micelio de 6mm de diámetro de la cepa vigorizada y se colocaron en el centro de cada caja con medio de cultivo haciendo un total de 3 repeticiones para cada concentración. Una vez inoculadas las cajas, se trasladaron a la incubadora a temperatura constante de 30 °C, estas se dejaron ahí hasta alcanzar el crecimiento total del micelio en la caja de Petri (80 mm). La medición consistió en medir el crecimiento radial del micelio a contraluz con los dos ejes trazados en la parte inferior en la caja obteniendo dos diferentes mediciones, el valor en el eje **A** y el valor en el eje **B**. Las mediciones se realizaron cada 24 horas, registrando todos los resultados obtenidos.

Los datos registrados del diámetro de la colonia y la velocidad de crecimiento a las 168h después de haber montado el experimento fueron sujetos a análisis de varianza (ANOVA), y comparación de medias con prueba de Tukey ($p < 0.05$) utilizando el software estadístico SPSS.

Resultados y discusión

El extracto acuoso de de *E. hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* aplicado a diferentes concentraciones, demuestra tener efecto sobre el radio de la colonia de *A. solani* (Fig 1.; $F_{5,30}=89.726$, $P < 0.001$) y sobre la velocidad de crecimiento del hongo (Fig 1.; $F_{5,12}=73.256$, $P < 0.001$). Los resultados obtenidos por día se encuentran en la Figura 1. Al realizar la medición durante 216h se observa que el hongo durante las primeras 48h no mostró diferencias significativas con respecto a control, no obstante, partir de las 120h los experimentales de 5 y 10% mostraron disminución en su crecimiento de manera significativa con respecto al testigo y a las 168h ocurrió lo mismo en 1%

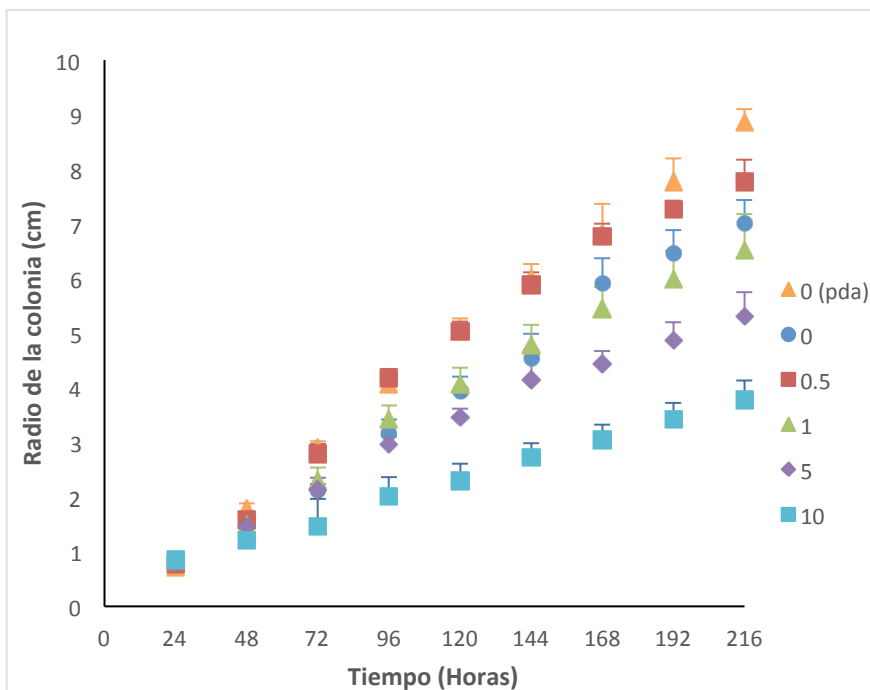


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones (%) del extracto acuoso de *E. hyemale* ssp. *affine* x *myriochoetum* en el crecimiento micelial (cm) de *A. solani*. a través del tiempo (216 h). Promedio de tres repeticiones con seis lecturas.

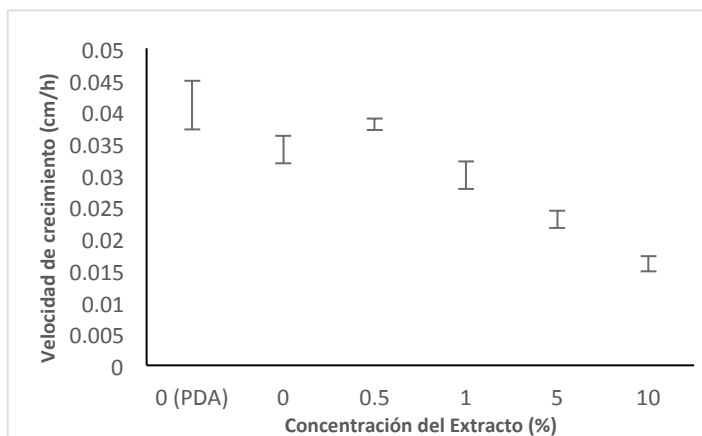


Figura 2. Efecto del extracto acuoso de *E. hyemale* ssp. *affine* x *myriochoetum* en la velocidad de crecimiento radial del micelio (cm/h) de *A. solani* Promedio de tres repeticiones con seis lecturas.

En la Figura 2 y Cuadro 1, se observa la velocidad de crecimiento (cm/h) ante las diferentes concentraciones del extracto, en ellas se aprecia que disminuye de manera significativa conforme se incrementa la concentración, esto es más evidente en 5 y 10 %. La reducción en la V.C. (velocidad de crecimiento) en comparación con el control en la concentración de 1% fue de 24%, en la de 5% ppm fue de 39.5% y en la de 10% fue de 66%. La prueba de Tukey demostró que



entre las concentraciones de 0 (PDA) y 0.5% no se presentaron diferencias significativas, así mismo entre las concentraciones de 0 y 1% no se presenta diferencia significativa. En lo referente al R.C. (radio de la colonia) el comportamiento que presentó fue muy similar a la V.C. ya que mostró una disminución del 20%, 35% y 55% con respecto al control en las concentraciones de 1, 5 y 10% respectivamente, al final del experimento. El extracto acuoso de *E. hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* es candidato para el control de *A. solani*.

Cuadro 1. Radio de la colonia (R.C. cm) y Velocidad de Crecimiento (V.C. cm/h) de *A. solani* ante diferentes concentraciones del extracto acuoso de *E. hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* a las 168 h.

Concentración del Extracto	Control (0%)	1%	5%	10%
R.C. (cm)	6.82±0.55 a	5.45 ± 0.39 b	4.43 ± 0.24 c	3.05 ± 0.27 d
V.C. (cm/h)	0.043 ± 0.003 a	0.033 ± 0.002 b	0.026 ± 0.001 c	0.015 ± 0.001 d

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$, Tukey).

Conclusiones

1. El extracto acuoso de *Equisetum hyemale* ssp. *affine* x *myriochaetum* redujo proporcionalmente la velocidad de crecimiento radial del micelio de *A. solani* según el incremento en la concentración del extracto en los medios de cultivo, disminuyendo hasta 55% en la concentración de 10% con respecto al control, por lo que es un buen candidato como control de la enfermedad postcosecha.
2. A pesar de demostrar efectos sobre el crecimiento de *A. solani* a concentraciones relativamente altas, la facilidad de elaborar y obtener el extracto acuoso pueden hacer una opción redituable y accesible para su control, debido a que la especie se encuentra ya domesticada y a su fácil propagación.
3. Es necesario realizar pruebas en almacenes de jitomate y evaluar si el extracto presenta efectos preventivos y/o curativos sobre la enfermedad, de esta forma se complementaría en su totalidad la investigación y se procedería a la adaptación de la técnica para comenzar a realizar aplicaciones del extracto.

Literatura citada

- Arias-Robledo G.; García-Miguel E.; Godínez-Vargas S.; Guerra-Ramírez D.; Reyes-Trejo B. y M. Robledo y Monterrubio. 2009. Efecto fungicida de extracto hexánico de *Equisetum giganteum* en *Fusarium solani*. Memorias: las XX Jornadas de Investigación Difusión de la Ciencia y las Humanidades. 16°. Encuentro de Investigadores del Departamento de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. La Trinidad, Tlaxcala. Pag. 16-30.
- Arias-Robledo G.; Robledo y Monterrubio M.; García-Miguel E.; Godínez-Vargas S.; Guerra-Ramírez D. y B. Reyes-Trejo. 2010. Efecto fungicida de los extractos metanólico y de cloruro de metileno de *Equisetum hyemale* L. en *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Memorias: las XXI Jornadas de Investigación Difusión de la Ciencia y las Humanidades. 17°. Encuentro de Investigadores del Departamento de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Oaxtepec, Mor.
- Barreto J.D, M.C. Aguirre, A.M. Caicedo, D. Miranda, L.A Echeverri y Y.Y. Campos. 2002. Manual: El cultivo del tomate tipo milano, pimentón, maíz dulce y Fríjol en el sistema de siembra de camas plásticas bajo las condiciones agroecológicas de la meseta de Ibagué. Editorial El Poira, Ibagué.
- Basu PK (1974a) Existence of chlamydospores of *Alternaria porri* f. sp. *solani* as overwintering propagules in soil. *Phytopathology* 61:1347-1350



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Datar VV, Mayee CD (1981) Assessment of losses in tomato yield due to early blight. *Indian Phytopath* 34:191–195
- Gwary DM, Nahunnaro H (1998) Epiphytotics of early blight of tomatoes in Northeastern Nigeria. *Crop Protection* 17:619–624
- ICA Programa Nacional de Fitopatología. 1966, 1967, 1968, 1969 y 1970. Informe Anual de Labores. Bogotá.
- Martínez-Villordo, Y. 2007. Actividad fungicida de extractos de tres especies del género *Equisetum* sobre *Pythium aphanidermatum*. *Tesis Profesional* para obtener el título de Ingeniero en Agroecología. Departamento de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo. 48 pp.
- National Academy of Sciences. 1980. Desarrollo y control de las enfermedades de las plantas. Control de plagas de plantas y animales. 1: 223.
- Sherf AF, MacNab AA (1986) *Vegetable diseases and their control*. Wiley, New York
- Tejero-Diez D.; Aguilar-Rodríguez S. y S. Flores-Maya. 1998. El género *Equisetum* L. en el Occidente del Estado de México. *Acta Botánica* 44:7-23



PROCESO DEL CONTROL BIOLÓGICO DEL LIRIO ACUÁTICO (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) CON NEOQUETINOS (*Neochetina eichhorniae* (Warner) Y *N. bruchi* (Hustache)).

Ovidio Camarena-Medrano⁽¹⁾, José Ángel Aguilar-Zepeda⁽²⁾, Ramiro Vega- Nevárez⁽³⁾ y Germán Bojórquez-Bojórquez⁽⁴⁾.^{1,2,3} Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). Paseo Cuauhnáhuac 8532, Jiutepec, Morelos. C. P. 62550. ovidio@tlaloc.imta.mx; jaguilar@tlaloc.imta.mx; ramiro@tlaloc.imta.mx. ⁴Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). germanbojorquez@yahoo.com

Resumen: El Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) ha tenido éxito en el objetivo de la reducción y control del lirio acuático empleando agentes biológicos, neoquetinos (*Neochetina eichhorniae* y *N. bruchi*) en distritos de riego en México. Esto se da en una interacción muy interesante entre las especies. Por un lado los insectos que se introducen como agentes de control tienen un crecimiento explosivo de su población hasta alcanzar una densidad que permite afectar y reducir la población del lirio. Posteriormente alcanzan un frágil equilibrio entre la población del lirio y del insecto que impide el crecimiento explosivo del lirio. La revisión y observación durante varios años de esta interacción obtenidas permiten presentar un panorama de todo este proceso.

Palabras claves: Maleza, control biológico, Insectos benéficos

Introducción

El IMTA ha validado el uso de neoquetinos (*Neochetina bruchi* y *N. eichorniae*) como agentes de control biológico del lirio desde la década de 1990. A pesar de ello en la mayoría de los distritos del país continúan sufriendo las recurrentes infestaciones de lirio con sus efectos negativos de su presencia durante parte del año y aplicando los altos costos de los métodos tradicionales de control, particularmente el mecánico.

Mientras no exista una concepción clara de las autoridades de la CONAGUA y de los propios productores de que el problema del lirio es factible y redituable de solucionarlo van a seguir conviviendo con dicha maleza.

Los estudios, investigaciones y validaciones que ha realizado el instituto por varios años en los distritos de riego y en particular en el DR 010 Culiacán Humaya, Sinaloa ha permitido tener una mayor comprensión del proceso de control biológico del lirio empleando los neoquetinos.

Con la finalidad de hacer conciencia de la importancia de lograr la reducción y control del lirio en todos los distritos del país que presentan el problema se presenta una descripción de los resultados del seguimiento de varios años tanto de la población de lirio como de los neoquetinos. El objetivo es explicar y revisar la interacción que se da entre el lirio acuático y los neoquetinos el el proceso de control



Materiales y Métodos

Se realizó el seguimiento en los diferentes cuerpos de agua del DR 010 Culiacán Humaya donde se liberaron los insectos pero en forma especial se realizó en el dique Batamote.

De acuerdo a la superficie del espejo de agua se determina la superficie infestada, es decir la cobertura y posteriormente mediante muestreos (con una estructura metálica de 1 m²) la densidad de lirio es decir número de plantas y kg/m².

En el dique se liberaron 994 neoquetinos adultos de 1994 a 1995 y desde entonces se realizaron muestreos de la población de lirio y de insectos para conocer su evolución

Se registraron las densidades con el m² y una vez que se conocía el número de plantas por /m² se tomaron al azar 15 plantas de diferentes muestreos realizado en el dique para registrar parámetros de la planta como largo y ancho de la hoja, altura del peciolo de la tercera hoja, el número total de hojas por planta, presencia de floración e incluso el largo de la raíz (Figura 1).

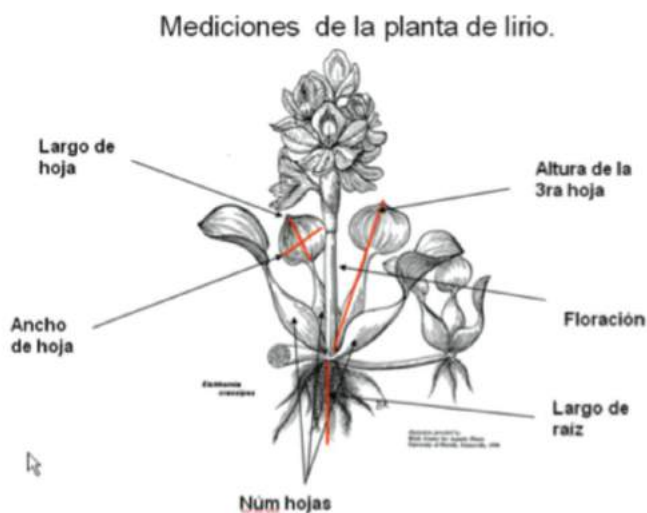
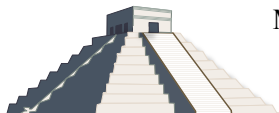


Figura 1 Parámetros evaluados para el estudio del lirio.

Respecto al insecto, se revisaron minuciosamente las 15 plantas para detectar neoquetinos en sus fases de adulto, larva y pupa por lirio (Fotografía 1), y finalmente, determinar la cantidad de mordedura (huellas que los neoquetinos le producen al lirio en su tercera hoja).

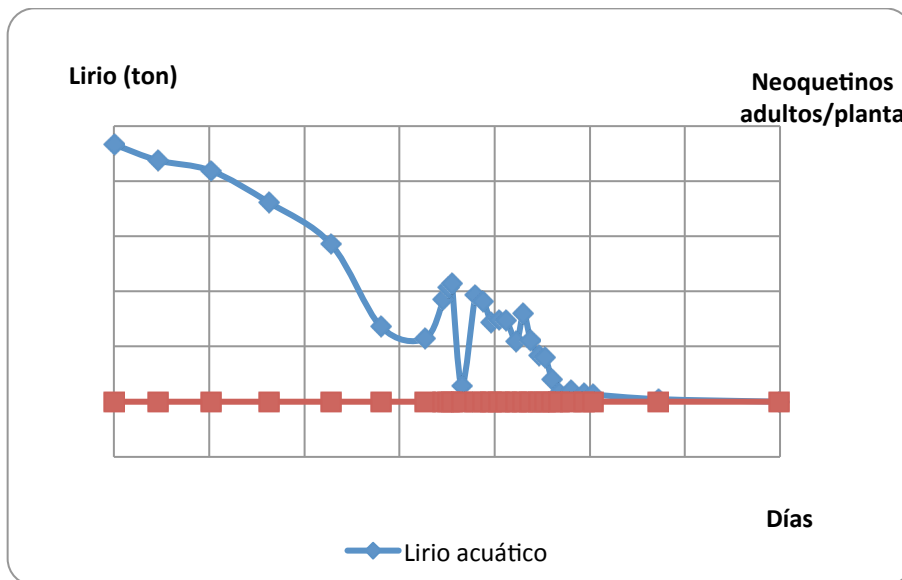
De esta manera dando seguimiento a la cobertura y densidad del lirio así como a diferentes parámetros de la planta y del insecto es como se entiende mejor el proceso de control biológico que se observa a lo largo de los años.



Fotografía 1 Estadios del insecto (larva, pupa y adulto)

Resultados y Discusión

En 1994, la superficie del espejo de agua era de 120 ha con una infestación de lirio del 95% (114 ha). Al inicio de la liberación de los neoquetinos, se tenía una densidad promedio de 0.0000016 insectos/planta de lirio, lo que lo ponía en condiciones muy desventajosas para fungir como agente de control de 46,603 toneladas de lirio que existían en el dique. (Gráfica 1)



Gráfica 1. Control biológico del lirio en el dique Batmote

Por la gran extensión de lirio que existía durante el primer año no fue notorio el crecimiento de los insectos, sin embargo, a los 456 días, la densidad promedio se incrementó a 0.75 insectos adultos, 0.8 larvas y 0.04 pupas por lirio (los tres estadios del insecto), con lo cual la cobertura del lirio se redujo del 90 al 80%, y su efecto de control ya era importante. El peso promedio del lirio se había reducido de 1.4 kg a 0.65 kg; una reducción del 53%. Considerando la biomasa total del embalse, se redujo de 46,603 a 28,554 toneladas.



En el segundo año, a los 731 días, la densidad del insecto se incrementó a 7.3 adultos, 1.7 larvas y 1.4 pupas/planta. En ese momento se tenía una población de 293,825,000 neoquetinos adultos; su efecto era notorio al haberse eliminado 26.5 ha de lirio. La planta redujo de 10 a 6.3 hojas/planta y, si bien aumentó de 29.2 a 48 plantas/m², disminuyó su peso de 40.8 a 31.2 kg/m². El peso promedio se redujo a 0.70 kg/planta, que representa el 50% de la planta inicial. El deterioro de la planta era ya muy evidente; las marcas de las mordeduras de los insectos en el haz de la hoja eran de 169.6 marcas/hoja. Los tallos estaban afectados por la larva y la planta en general presentaba un proceso de decaimiento, ya que de las 46,603 toneladas iniciales, quedaban 28,140; es decir, se redujo un 40% la biomasa total del lirio.

A los 846 días de liberación abierta, la superficie del cuerpo de agua mantenía una infestación del 50%, y su impacto de control era ya irreversible. El peso promedio de cada lirio se había reducido 82%, respecto a su peso inicial (de 1.4 a 0.24 kg/ lirio). La biomasa total del lirio en todo el cuerpo de agua era de sólo 11,001 toneladas, y ya se habían eliminado 35,602 toneladas.

En ese momento, la población de lirio había tenido un incremento sustancial al pasar de 29.2 a 76.3 planta/m², seguramente como una defensa del propio lirio ante el embate de los insectos. A los 936 días la infestación de lirio había sido reducida al 5% del cuerpo de agua, y al día 1,144, último registro formal a sólo el 2% (2.44 ha), con una biomasa de 472 toneladas y una población de 1 millón de plantas de lirio.

Así, en tres años y un mes, los neoquetinos eliminaron 111 ha de lirio (32 millones de lirios con un peso 46,000 toneladas), y el lirio, que al inicio ocupaba el 95% del espejo de agua, se redujo a sólo 2%, (Fotografía 2).



Fotografía 2 Control biológico del lirio acuático. Dique Batamote

Este proceso de control observado en el dique Batamote ha tenido variantes en los diferentes cuerpos de agua atendidos del DR 010 Culiacán–Humaya . En algunos ha sido un proceso más acelerado o más lentos, con mayores o menores fluctuaciones de las poblaciones tanto de lirio como de neoquetinos, pero por lo general el comportamiento del proceso ha sido muy similar con



el resultado final de un excelente control. De igual manera este proceso se obtuvo en diques del DR 018 Colonias Yaquis en Sonora.

En ocasiones este proceso se interrumpe, por un manejo inadecuado de redes de contención o por sequía o por una excesiva variación de tirantes del agua que pueden provocar reinfestaciones de lirio por semilla como ha sucedido en algunos diques, por ello es de fundamental importancia el seguimiento y continuidad de los programas de control biológico.

A pesar de que en general no se ha dado un adecuado seguimiento desde el 2000, en el caso de este dique Batamote la presencia del insecto ha permitido mantenerlo libre del problema de lirio en forma continua por más de 17 años (desde 1997 a la fecha 2014).

Conclusiones.

1.- Cuando se libera por primera vez al neoquetino como agente de control biológico del lirio se da un proceso de crecimiento explosivo del insecto que permite su rápida propagación pero que es imperceptible durante el primer año.

2.- Al segundo año cuando llega a dos neoquetinos por planta considerando los tres estadios (adulto, larva y pupa), se inicia la afectación de la población de lirio, lo que se torna más evidente a partir de los tres insectos/planta.

3.- Se alcanza una densidad máxima promedio de 10.4 insectos/planta (7.3adultos/ planta) y, posteriormente, desciende provocando una especie de equilibrio y fluctuando entre los 2 y 8 neoquetinos/planta, considerando su tres estadios de desarrollo. De esta manera, se logra un control definitivo con una cobertura de sólo el 2% en el último registro formal.

4.- Es factible en un cuerpo de agua mantener bajo control biológico al lirio acuático, sin que cause ningún problema por más de 17 años continuos.

Recomendaciones.

Para lograr el control biológico mediante agentes de control biológico es indispensable que se lleve un estudio y registro permanente. Realizar nuevas liberaciones de insectos en sitios estratégicos de los diferentes cuerpos de agua cuando se requiera, para asegurar que este proceso que se describe, se logre y se mantenga. .

Es indispensable que los productores se apropien de la tecnología para que se logre obtener el control del lirio en todos los distritos de riego del país.

Bibliografía

Aguilar Zepeda, J. A. "et al" (2003). Biological control of water hyacinth in Sinaloa, Mexico with the weevils *Neochetina eichorniae* and *N. bruchi*. En: *Biocontrol* 48: 595, 2003. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Camarena Medrano, O. y Aguilar Zepeda J. A. (2012). El IMTA y el control biológico de maleza acuática en distritos de riego del país (experiencias desde 1990). Jiutepec, Mor. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. (libro digital)
- Camarena Medrano, O. y Aguilar Zepeda J. A. (2013). Control biológico del lirio acuático en México: Primera experiencia exitosa con neoquetinos en distritos de riego. Volumen I. Jiutepec, Mor. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. (libro digital).



EFEECTO DE EXTRACTOS CRUDOS DE METABOLITOS DE *Trichoderma* spp. (HYPOCREALES: ASCOMYCOTA) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE TECA (*Tectona grandis* L.f.) EN CONDICIONES DE VIVERO EN COSTA RICA

Luis F. Solano-Jiménez¹, Xiomara V. Mata-Granados¹, Marlen Camacho-Calvo², Olman Murillo-Gamboa².
¹Escuela de Ingeniería en Agronomía. Tecnológico de Costa Rica, Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. ²Escuela de Ingeniería Forestal. Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica. luisfdo.solano@gmail.com

Resumen: El estudio fue desarrollado con el objetivo de estimar el efecto de la aplicación de extractos crudos de metabolitos y biomasa de dos aislados nativos de *Trichoderma* spp, sobre el crecimiento de plántulas de teca. Los aislados evaluados fueron seleccionados de la micoteca del Laboratorio de Fitopatología y Biocontroladores del Instituto Tecnológico de Costa Rica, bajo los códigos MOTrh y LaBioTD₃₇, por su potencial antagonista y fungistático *in vitro* ante patógenos asociados con el Síndrome del Decaimiento Lento de la Teca (SDLT). Bajo condiciones de invernadero, se estableció el ensayo siguiendo un diseño en parcelas divididas con arreglo en bloques (cuatro repeticiones) A la primera parcela se aplicó fertilizante 10-30-10 (9 g/planta) dirigido a la siembra, mientras que la segunda no recibió fertilizante. A nivel de subparcelas, los tratamientos consistieron en dos aplicaciones de extractos más biomasa (25 ml/planta) del aislado correspondiente: MOTrh, LaBioTD₃₇, MOTrh+LaBioTD₃₇ y un testigo absoluto (agua). De acuerdo con el análisis estadístico no se determinó diferencias significativas (Bonferroni $p > 0,05$), en la interacción entre la fertilización y los aislados evaluados, siendo la respuesta de la fertilización significativamente superior para todas las variables evaluadas. En la parcela fertilizada los resultados evidencian incrementos en la altura a partir de los 49 días de evaluación por parte del aislado MOTrh, tendencia que prevaleció en la evaluación final a los 77 días, en la que se registraron incrementos altamente significativos ($p < 0,001$) en la altura de un 27%, y 47% peso seco radical, así como mayor número de hojas en comparación con el testigo. Para las variables de diámetro basal del tallo y biomasa fresca aérea, no se registraron diferencias significativas, por parte de ninguno de los tratamientos. En la parcela sin fertilizante, estadísticamente se evidenció que los tratamientos con MOTrh y MOTrh+LaBioTD₃₇, incrementaron en un 36% la altura, 25% de diámetro basal así como mayor número de hojas. De forma individual el aislado MOTrh difirió del testigo en términos de biomasa aérea, en un 80% en peso fresco y 78% en peso seco, así como la biomasa radical entre un 70% en fresco y un 55% en peso seco. Se concluye que el aislado codificado como MOTrh constituye una alternativa promisoriosa para el manejo preventivo de enfermedades así como promotor de crecimiento vegetal de plántulas de teca.

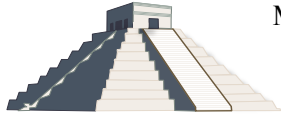


BIOCONTROL *IN VITRO* DE ROYA TRANSVERSAL (*Uromyces transversalis*) DEL GLADIOLO CON HONGOS ANTAGONISTAS NATIVOS

Edith Sonia Romero-Orán¹, **Jesús Gaudencio Aquino-Martínez**², José Francisco Ramírez-Dávila³, Ana Tarín Gutiérrez-Ibáñez³ y Jesús Ricardo Sánchez-Pale³. ¹Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la UAEMex; ²Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), Conjunto Sedagro s/n, Metepec, edo. de México, C.P. 52140, Jg_aquino@hotmail.com; ³Centro de Investigación en Fitomejoramiento de la UAEMex.

Resumen. La roya transversal [*Uromyces transversalis* (Thümen) G. Winter] (Basidiomycota: Pucciniomycetes), es una enfermedad que afecta el rendimiento y calidad de la flor de gladiolo (*Gladiolus* sp.) en el Estado de México; se combate comúnmente con fungicidas de síntesis química. Con el propósito de ofrecer otra alternativa de control de la enfermedad que no contamine el ambiente y afecte la salud humana, se hizo un estudio de biocontrol de *U. transversalis* en el laboratorio de fitopatología de ICAMEX, Metepec, México. Se evaluó la eficiencia de biocontrol *in vitro* del patógeno con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de la entidad. Se hicieron dos concentraciones de conidios (300 y 600 mL de UFC) de seis cepas de *Cladosporium* sp. (ClGI), *Alternaria* sp. (AltGI), *Aspergillus* sp. (AspGI) y *Trichoderma* sp. (TrFCA, TrJi y TrPi), se asperjaron sobre hojas de gladiolo con pústulas de roya procedentes de Villa Guerrero, Zumpahuacán, Malinalco, Jocotitlán e Ixtlahuaca, bajo un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Las cajas Petri con las confrontaciones se incubaron por cinco días a 25 ± 2 °C. Luego se contaron las pústulas colonizadas por los antagonistas y se determinó el % de colonización dividiendo el número de pústulas colonizadas sobre el número total de pústulas por hoja. Los aislamientos TrPi (608.0×10^6 ml⁻¹ UFC), TrFCA (371.2×10^6 ml⁻¹ UFC) y AltGI (470.4×10^6 ml⁻¹ UFC) presentaron mayor colonización de las pústulas de *U. transversalis* con 67.62, 62.67 y 60.20%, respectivamente. Por la forma en que los antagonistas colonizaron las pústulas del patógeno se deduce que su modo de acción fue por micoparasitismo mediante hinchamiento, degradación y deformación de las uredias y urediosporas. Los aislamientos sobresalientes serán evaluados en invernadero y campo para emplearse en un programa de manejo integrado de la roya transversal.

Palabras clave: Biocontrol, antagonismo, *Uromyces transversalis*, *Trichoderma* sp., *Alternaria* sp.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



EVALUACIÓN



EFICIENCIA DEL PARASITOIDE *Fopius ceratitivorus* (Wharton) EN EL CONTROL DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO *Ceratitis capitata* (Wied.) EN EL PARCELAMIENTO LAS VICTORIAS, EL SALTO, RETALHULEU, GUATEMALA.

Honder Anibal Martínez¹, Pedro Rendón², **Edwin Ramírez-Santos**^{3,1}, Desarrollo de Métodos, Laboratorio San Miguel Petapa, Calle Real 3-60, Zona 9, San Miguel Petapa, Guatemala, ²USDA-APHIS-PPQ/CPHST, c/o American Embassy- Guatemala City, APO AA 340-24-3319, Guatemala, ³Programa Moscamed, Laboratorio El Pino, Km. 47.5 Carretera a El Salvador, Barberena, Santa Rosa, Guatemala, esantos@ecosur.edu.mx

Resumen. Como un complemento a las actividades de control de *Ceratitis capitata* (Wiedemann), usando la técnica del insecto estéril (TIE), se presenta el control biológico, empleando parasitoides como, *Fopius ceratitivorus* (Wharton). Evaluaciones en áreas cafetaleras de Guatemala, liberando en forma combinada machos estériles de mosca del Mediterráneo y parasitoides en jaulas de campo, demostraron que la población de *C. capitata* puede reducirse considerablemente. El presente estudio tuvo como finalidad evaluar la capacidad *F. ceratitivorus* en campo abierto. En una extensión de nueve hectáreas se seleccionaron sitios para la colocación de manzana (*Malus doméstica* L.) pre-infestada con huevos de *C. capitata*, colocada en unidades experimentales compuestas por cinco manzanas, que fueron expuestas a hembras de *F. ceratitivorus* (T1) copuladas y en edad de oviposición. Se tuvo como control a unidades experimentales en donde a las hembras del parasitoide se les impidió el contacto con las manzanas (T2). El porcentaje de control de la mosca del Mediterráneo en base a pupa colectada fue 21.66 %, en base a moscas emergidas fue 34 %, y el parasitismo fue 15 %. Al comparar los resultados de pupa obtenida y posterior emergencia de adultos de la misma pupa, hubo un incremento de 12.34 % de control.

Palabras clave. Control biológico, *Ceratitis capitata*, *Fopius ceratitivorus*, Técnica del insecto estéril.

Introducción

La mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) es una de las moscas de la fruta considerada de gran importancia económica, debido a su potencial para causar daño en frutas y restringir los mercados internacionales de estos productos (Gutiérrez, 1976). El programa MOSCAMED tiene como misión prevenir, controlar y erradicar los brotes de la mosca del Mediterráneo en el territorio mexicano y guatemalteco, formando una barrera de contención de la plaga en las fronteras de México y Guatemala que impide el desplazamiento de la plaga hacia áreas libres de la región, y apoya el plan gradual de avance de la barrera de contención hacia el interior de Guatemala (MOSCAMED, 2013). Para el control de la plaga cuenta con una serie de técnicas, dentro de ellas el control biológico. Por ese motivo se han desarrollado e implementado métodos de cría para diferentes especies de parasitoides de mosca de la fruta. *Fopius ceratitivorus* Wharton (Hymenoptera: Braconidae) es un parasitoide de huevos y larvas recién eclosionadas de *C. capitata* (Bokonon-Ganta *et al.* 2005), con alto potencial como agente de control biológico por haber sido colectado originalmente de mosca del Mediterráneo en su supuesta región de origen, Ruiru (1,609 msnm) y Ruirima (1,228 msnm) al este de África (López



et al. 2003). A la fecha, la capacidad de control de esta especie, ha sido evaluada en condiciones de jaulas de campo en áreas cafetaleras de Antigua Guatemala, Sacatepéquez; así como su dispersión y longevidad en el área cafetalera de Villa Canales, Guatemala; en donde, se han aplicado metodologías experimentales empleadas en estudios similares con otras especies de parasitoides (Rendón *et al.* 2006). El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia del parasitoide *F. ceratitivorus* en campo abierto, en el departamento de Retalhuleu, que cuenta con extensiones ecológicamente aptas para el cultivo de frutas tropicales.

Materiales y Métodos

La presente evaluación se realizó durante 14 semanas, comprendidas entre los meses de octubre y febrero, en el parcelamiento Las Victorias, El Salto, Retalhuleu, Guatemala, ubicado en latitud Norte 14° 13' 0.5" y longitud Oeste 91° 45' 24.6", a una altitud promedio de 20 msnm, con un relieve plano o ligeramente inclinado, situado dentro de la planicie costera del pacífico. La zona de vida es seco subtropical cálido (Cruz, 1982). Temperatura entre 25°C y 32°C, patrón de lluvias entre 1200 y 2000 mm anuales, y evapotranspiración promedio 0.95. La zona ecológica corresponde al bosque Húmedo Sub-tropical (INAFOR, 1983). La primera fase, o fase de laboratorio, se realizó en la planta de producción de mosca del Mediterráneo y parasitoides del programa MOSCAMED (SMP), ubicada en el municipio de San Miguel Petapa, Guatemala, y consistió en exponer frutos de manzana a una colonia de adultos de *C. capitata*. Aproximadamente, 75000 adultos de esta especie, en proporción 1:1 (1 hembra: 1 macho), fueron confinados dentro de una jaula de malla sintética (diámetro 0.5 m, longitud 2.20 m) en donde se les proveyó alimento (azúcar + proteína hidrolizada) durante el período de cópula, que duró tres días. Posteriormente, se colocaron las manzanas sobre la tela sintética, para propiciar que las hembras ovipositaran en dos heridas artificiales de 1 mm de profundidad que contenía cada manzana. Ensayos previos fueron necesarios para determinar que durante 15 minutos de exposición se obtenían 35 huevos por fruto, para un estimado de 3150 huevos ovipositados en 90 manzanas por semana. Los parasitoides fueron criados en el laboratorio SMP siguiendo los procedimientos generales sugeridos por López *et al.* (2003). La manipulación y traslado de parasitoides y frutos infestados hacia el campo se hizo bajo condiciones de temperatura controlada, 13°C y 20°C, respectivamente. En el campo, cinco frutos infestados se colocaron dentro de un cilindro de malla metálica (0.1 m diámetro x 0.3 m altura; malla calibre 3/16 de pulgada), cada uno constituyó una unidad de exposición (UE). Se usaron dos modalidades de UE, con frutos con acceso a parasitoides (T1) y con frutos sin acceso a parasitoides (T2); la manera de limitar el acceso de las hembras parasitoides al fruto infestado en T2, fue por la introducción del cilindro metálico dentro de un forro de tela antiviral. Ambas UE representaron una repetición (dos muestras relacionadas). Se eligieron nueve hectáreas como sitios de exposición, en la parte central de cada hectárea se colocaron dos UE, una T1 y una T2. Durante las 14 semanas se hicieron 126 repeticiones (9 sitios x 14 semanas) de T1 y T2. Las UE se colocaron en árboles frutales a una altura de 3 m. Se liberaron 24000 parasitoides (proporción 1:1) por hectárea, distribuidos en cuatro puntos de liberación, a 50 m del centro del sitio de colocación de las UE. La estimación del número de parasitoides liberados se hizo por peso de adulto frío (1 gr = 500 adultos, con relación 1:1), requiriendo 12 gr por bolsa de papel tipo "Kraft" (9.5 cm x 16 cm x



19.5 cm) para cada sitio. Setenta y dos horas después de expuestos los frutos se recolectaron en contenedores de incubación, identificándolos según fecha, sitio y UE correspondiente. Se trasladaron a SMP en donde permanecieron en ambientes controlados ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $HR = 65\%$). Se colectaron larvas y pupas a los 12 y 18 días, colocándolas en aserrín húmedo en el mismo contenedor, hasta el momento de la emergencia de los adultos, parasitoide y moscas en T1, y solamente moscas en T2. Se contabilizaron las larvas, pupas y adultos emergidos. Se calculó el control que ejerce *F. ceratitivorus* sobre *C. capitata*, en base al número de pupas recuperadas y al número de adultos de *C. capitata* emergidos, en T1 respecto a T2, expresándolo en porcentaje. Con los datos de T1 se calculó el porcentaje de parasitismo relacionando: parasitoides emergidos respecto al total de pupas colectadas. La estrategia que se propuso para el análisis de las variables que provienen de dos muestras pareadas con 126 repeticiones, fue la de Prueba no paramétrica de rango con signo de Wilcoxon para dos muestras relacionadas (Díaz, 1999), la cual permitió probar la significancia de la diferencia entre T1 y T2.

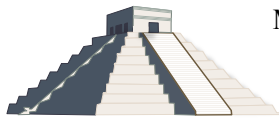
Resultados y Discusión

Los datos de número total de pupas y adultos emergidos de *F. ceratitivorus* y *C. capitata*, obtenidos por tratamiento (T1 y T2), durante las 14 semanas, en los nueve sitios (Cuadro 1), sugieren que la hembra del parasitoide fue capaz de buscar y parasitar a los huevos de la mosca del Mediterráneo, lo que provocó que en T1 fuera menor el porcentaje de emergencia de moscas adultas (77.7 %) respecto a T2 (93.5 %), la diferencia del porcentaje de emergencia de moscas entre ambos tratamientos (15.8 %) es muy similar al porcentaje de emergencia de parasitoides en T1 (15.4 %). La cantidad de larva y pupas muertas en ambos tratamientos fue similar (T1 = 6.7 %, T2 = 6.4 %), sin diferencia significativa ($Z_{\text{aproximación}} = 1.466$, $p = 0.1426$), lo que sugiere que el manejo del experimento, muerte natural u otras causas fue igual para ambos casos.

Cuadro 1.- Material biológico colectado por tratamiento, durante 14 semanas, en los nueve sitios (hectáreas).

Tratamiento	Adultos emergidos		No emergidos	Total de pupas
	Moscas <i>C. capitata</i>	Parasitoide <i>F. Ceratitivorus</i>	Larvas y pupas muertas	
T1	3898	774	340	5012
T2	5984	0	414	6398

El análisis comparativo con base a pupas colectadas en ambos tratamientos indicó que hay diferencia significativa ($Z_{\text{aproximación}} = 2.816$, $p = 0.0049$), por el mayor número de pupas recuperadas en el tratamiento (T2) en donde, los parasitoides no tuvieron acceso a los frutos infestados con huevos de moscas *C. capitata*. Mismas diferencias existieron al comparar el número moscas adultas de mosca emergidas ($Z_{\text{aproximación}} = 4.004$, $p = 0.0001$). El control que ejerció *F. ceratitivorus* sobre *C. capitata*, estimado en base a cantidad de pupa, fue 21.66 %; muy similar al obtenido por otros parasitoides de *C. capitata*, en jaulas de campo, en áreas cafetaleras (19 %), en donde se llegó a alcanzar hasta un 98 % de control de la plaga cuando se combinó con la TIE (Rendón *et al.* 2006), situación similar se esperaría sí se utilizara *F. ceratitivorus*. Tomando en cuenta el número total de moscas adultas emergidas (Figura 1), el control que



ejerció *F. ceratitivorus* sobre *C. capitata* fue de un 34 %, es decir la población de moscas adultas se redujo en esa proporción en T1 respecto a T2, por efecto del parasitoide.

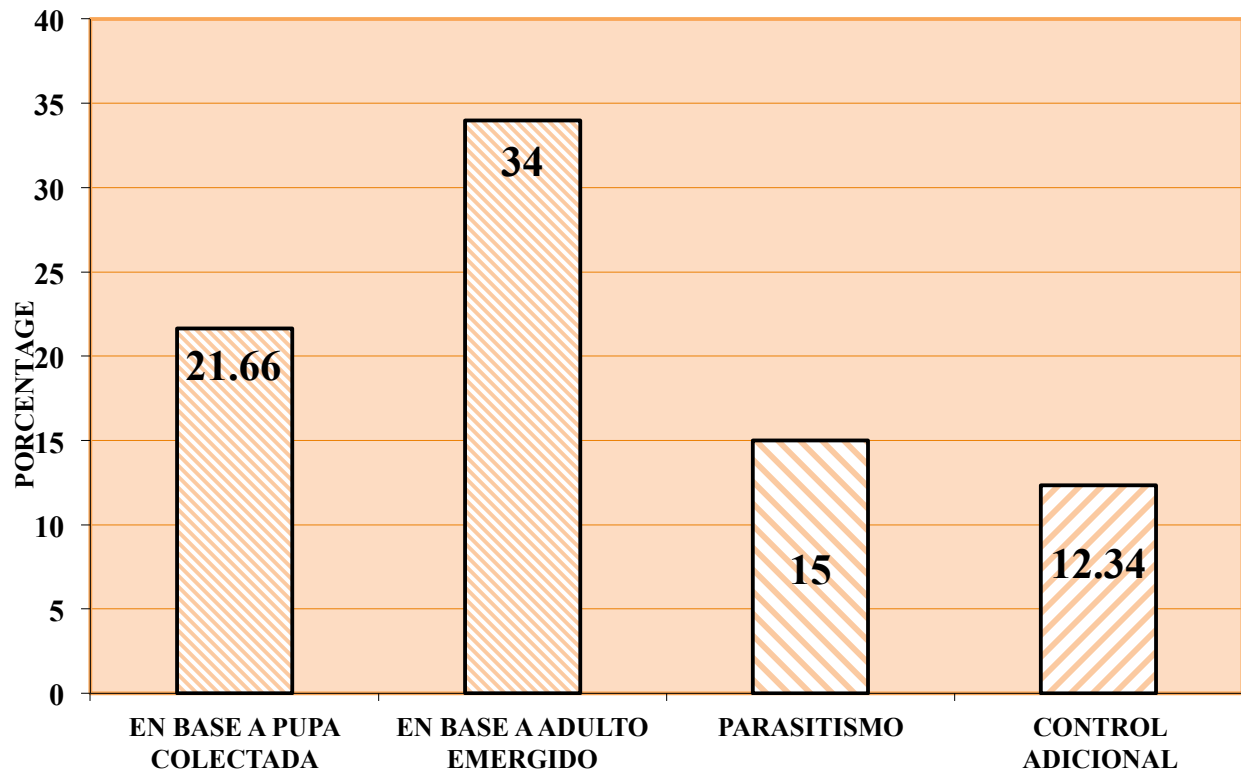
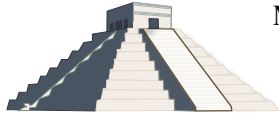


Figura 1.- Porcentaje de control inducido por el parasitoide *F. ceratitivorus* sobre mosca del Mediterráneo. Porcentaje calculado, iniciando con un número de huevecillos conocido.

Al comparar el grado de control ejercido por *F. ceratitivorus* en función de pupas o adultos (21.66 % vs 34 %) existe una diferencia de aproximadamente 12 %, debido a la emergencia de parasitoides en T1 (774 parasitoides), que correspondió a un 15.5 % de parasitismo. Esto significa, que la hembra de *F. ceratitivorus* tuvo la capacidad de parasitar a su huésped en campo abierto, y por consiguiente se esperaría una reproducción generacional en el campo de esta especie.

Agradecimientos

Al programa MOSCAMED/Guatemala por el soporte institucional para realizar la investigación. A la estación de Métodos del USDA-APHIS-PPQ/CPHST Departamento de Agricultura de los Estados Unidos en Guatemala por el apoyo financiero, logística y de asesoría para cada etapa del estudio.



Literatura citada

- Bokonon-Ganta, A. H., Ramadan, M. M., Wang, X., Messing, R. H. 2005. Biological performance and potential of *Fopius ceratitivorus* (Hymenoptera: Braconidae), an egg-larval parasitoid of tephritid fruit flies newly imported to Hawaii. Elsevier. V. 33. pp. 238-247.
- Cruz, S. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, INAFOR. 112 p.
- Díaz, JF. 1999. Introducción a los métodos no paramétricos. México, Universidad Veracruzana, Facultad de Estadística e Informática, Especialización en Métodos Estadísticos. 134 p.
- Gutiérrez, S. J. 1976. La mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) y los factores ecológicos que favorecerían su establecimiento y propagación en México. México, Secretaría de Agricultura y Ganadería, Dirección general de Sanidad Vegetal. p. 235.
- INAFOR (Instituto Nacional Forestal, GT). 1983. Mapa de zonificación ecológica de Guatemala. Guatemala, Instituto Geográfico Nacional. Esc. 1:600,000.
- López, M., Sivinski, J., Rendón, P., Holler, T., Bloem, K., Copeland, R., Trostle, M. and Aluja, M. 2003. Colonization of *Fopius ceratitivorus*, a newly discovered African egg-pupal parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist, 86(1): 53-60.
- MOSCAMED (Programa para el control de la mosca del Mediterráneo, GT). 2008. Memoria de Labores 2008. Disponible en: <http://www.moscamed-guatemala.org.gt/>. Consultado el 11 noviembre de 2013.
- Rendón, P., Sivinski, J., Holler, T., Bloem, K., López, M., Martínez, A., Aluja, M. 2006. The effects of sterile males and two braconid parasitoids, *Fopius arisanus* (Sonan) and *Diachasmimorpha krausii* (Fullaway) (Hymenoptera), on caged populations of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) at various sites in Guatemala. Biological Control 36 (2006). pp. 224-231.



BIOINSECTICIDAS PARA EL CONTROL DEL GUSANO TELARAÑERO *Amorbia* sp. (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) DEL AGUACATE EN MICHOACÁN

Braulio Alberto Lemus-Soriano¹, Marco Antonio Mariano-Salvador¹, Luis Eduardo Morales-Felipe¹. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Col. Viveros, Uruapan, Michoacán, CP 60170, México. lemus9@yahoo.com.mx

Resumen. El experimento se realizó en un huerto comercial de aguacate var. Hass, en la comunidad de Zicuicho, municipio de Los Reyes, Michoacán. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 7 tratamientos y 5 repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: *Beauveria bassiana* 2.0 L, *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki 2.0 L, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* 2.0 L, spinoteram 0.4 L, spinosad 0.5 L, un testigo químico regional, en 2000 L de agua respectivamente; además de un testigo sin aplicación. Los tratamientos que presentaron las menores poblaciones de larvas de *Amorbia* sp. y los mayores porcentajes de efectividad biológica hasta los 21 días fueron: *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki y la mezcla de los entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*.

Palabras clave: bioinsecticidas, efectividad, aguacate, lepidópteros.

Introducción

Durante los últimos años, los productores de aguacate en Michoacán, México han reportado cada vez más frecuente, la presencia de frutos con madurez para corte, pero que presentan índices de daño por insectos en la epidermis y parte de la pulpa, lo que ocasiona pérdida total de ese producto, de acuerdo a Coria *et al.* (2013), estos daños se asocian a la presencia de varias especies de lepidópteros. Sin embargo, a pesar de sus daños, para el control de esta plaga que ataca al fruto del aguacate, no existen a la fecha reportes del uso de ninguna alternativa en el control biológico para disminuir la población plaga que ataca a este cultivo (Mireles, 2006). Lo cual conlleva a buscar estrategias para el manejo, diferentes al manejo convencional con insecticidas químicos y mantener las poblaciones a densidades mediante insecticidas de bajo impacto ambiental; por lo cual se planteó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la efectividad de varios insecticidas biológicos para el control del gusano telarañero en el cultivo del aguacate.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en la huerta llamada “Tiripo”, ubicada en la comunidad de Zicuicho, municipio de Los Reyes, Michoacán. Se encuentra ubicada a 2257 msnm, en las coordenadas GPS 19°64’ 24” de Latitud Norte y los meridianos 102°34’68” de Longitud Oeste. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 7 tratamientos y 5 repeticiones. La unidad experimental fue de un árbol de aguacate por tratamiento, utilizando un total de 35 árboles. La variable utilizada fue el número de larvas por brote vegetativo, para lo cual



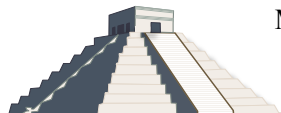
se seleccionaron y contaron el número de larvas totales en 5 brotes vegetativos por árbol, distribuidos en los cuatro puntos cardinales. Las observaciones se realizaron antes de la aplicación y a los 5, 10, 15 y 21 días después de esta. Se utilizaron 6 productos comerciales, 5 bioinsecticidas y un químico, en un volumen de agua por hectárea de 2000 L (Cuadro 1). Para la aplicación del experimento se utilizó una aspersora de motor marca EST[®] 767 con capacidad para 25 litros. Las aplicaciones se realizaron por la mañana para evitar la deriva ocasionada por el viento.

Cuadro 1. Tratamientos a dosis comerciales utilizados para el control de *Amorbia* sp. en aguacate.

Tratamientos	Dosis en 2000 L de agua/ha
1. <i>Bacillus thuringiensis</i> var. kurstaki	2.0 L
2. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> , <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>	2.0 L
3. <i>Beauveria bassiana</i>	2.0 L
4. Spinoteram	0.4 L
5. Spinosad	0.5 L
6. Cipermetrina	0.8 L
7. Testigo absoluto	

Resultados y Discusión

Los datos resultantes fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$ mediante el programa estadístico SAS v. 9.0. Mientras que la efectividad biológica se calculó con la fórmula de Abbott (1925) (Cuadro 2). Al analizar todos los resultados obtenidos de los análisis estadísticos de los tratamientos del número de larvas por brote vegetativo se puede observar que desde los 5 días de haber realizado la aplicación se fueron presentando diferencias significativas; y posteriormente altamente significativas entre los tratamientos evaluados. Continuando de la misma manera durante todas las demás evaluaciones, pero siempre destacando los insecticidas *Beauveria bassiana* y la mezcla *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Spectrum[®] Mix MB) y *Bacillus thuringiensis* (Probac[®] Bt), aunque el tratamiento *Bacillus thuringiensis* fue el que tuvo el mayor éxito en el control de la plaga siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos desde los 10 después de la aplicación. El efecto de insecticidas microbiales sobre larvas de gusano telarañero del aguacate ha sido documentado por Coria-Ávalos *et al.* (2008) quienes evaluaron cepas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, con buenos resultados de control, y en cuanto los resultados con *Bacillus thuringiensis*, estos son consistentes a lo reportado por la FUNICA (2004) en Nicaragua, donde se evaluaron insecticidas botánicos y biológicos (Neem, *Beuveria bassiana* y *Bacillus thuringiensis*) para el control de las poblaciones de *Amorbia essigana* a nivel de campo y laboratorio. El mejor tratamiento fue *Bacillus thuringiensis* con una efectividad del 100%. En cuanto la efectividad biológica es importante recalcar que los bioinsecticidas *Beauveria bassiana* y la mezcla *Paecilomyces fumosoroseus*,



Beauveria bassiana y *Metarhizium anisopliae* y *Bacillus thuringiensis* tuvieron los mayores porcentajes de efectividad biológica, superando inclusive al insecticida químico de uso regional.

Cuadro 2. Prueba de Tukey y efectividad biológica de Abbott.

Tratamientos	Dosis/ha	Medias Tukey $\alpha=0.05$.				% eficacia de Abbott (media)
		5 DDA	10 DDA	15 DDA	21 DDA	
1. <i>Bacillus thuringiensis</i> var. kurstaki	2.0 L	0.52BA	0.08C	0D	0D	87.85
2. <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> , <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>	3.0 L	0.28B	0.08C	0.08CD	0.04D	90.91
3. <i>Beauveria bassiana</i>	4.0 L	0.64BA	0.24CB	0.24CBD	0.16CD	76.34
4. Spinoteram	---	0.64BA	0.6CB	0.64B	0.6B	57.27
5. Spinosad		0.4 B	0.48CB	0.44	0.48CB	69.36
6. Cipermetrina		0.76BA	0.76B	0.6B	0.6B	60.39
7. Testigo absoluto		1.2 A*	1.52A*	1.48A*	1.72A*	

DDA= Días después de la aplicación.

*Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ Entomol. 18: 265-267.
- Coria-Ávalos, V.M., H.J. Muñoz-Flores y M.B. Nájera-Rincón. 2008. Evaluación de *Trichogramma* sp y hongos entomopatógenos en campo para el manejo del gusano telarañero o enrollador de la hoja del aguacate *Argyrotaenia* sp (Lepidoptera: Tortricidae). pp. 177-180. En: Lozano, G.J., España, L.M.P., González, G.J. y Ibarra, R.J.E. (Eds.). Memoria XXXI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Zacatecas, Zacatecas, México.
- Coria-Avalos V.M., Muñoz-Flores H.J., Nájera-Rincón M.B., Tapia-Vargas L.M. y A. Pulido-Herrera. 2013. Caracterización del daño ocasionado al fruto de aguacate 'Hass' por insectos lepidópteros presentes en huertos de Michoacán, México. Resúmenes. IV Congreso Latinoamericano del Aguacate, San José, Costa Rica
- FUNICA. 2014. Investigación en el manejo no químico de gusano telarañero (*Amorbia essigana* Busck). Fundación para el desarrollo tecnológico agropecuario y forestal de Nicaragua. Informe de investigación. Disponible en: http://www.funica.org.ni/docs/man_inte_plags_11.pdf
- Mireles, M.M. 2006. Análisis genético de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* aisladas de zonas aguacateras y su evaluación tóxica contra *Argyrotaenia* sp. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Biotecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional. Cd. Reynosa, Tamaulipas. México. 81 p.



APLICACIÓN DE *Bacillus thuringiensis* Y *Metarhizium anisopliae* EN XOCHITEPEC, MORELOS

Alejandra Isabel Buenosaires-Álvarez¹; Guadalupe Peña-Chora²; Luis Ángel Rodríguez-Del Bosque³ y Víctor Manuel Hernández-Velázquez⁴. ¹Facultad de Ciencias Agropecuarias ²Centro de Investigaciones Biológicas ⁴ Centro de Investigaciones en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. CP. 62209. ³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Progreso, Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán México, D.F. C.P. 04010. hubble_halley@hotmail.com

Resumen

La caña de azúcar *Saccharum officinarum* (Poaceae) es uno de los cultivos más importantes en México; sin embargo, su producción se ve disminuida por las plagas que la atacan, principalmente *Diatraea magnifactella*. En busca de métodos alternativos para el control de barrenadores se han encontrado bacterias y hongos entomopatógenos, como *B. thuringiensis* y *M. anisopliae*. El experimento se realizó en el campo la Cruz del municipio de Xochitepec, Morelos, durante el ciclo 2013, la evaluación se realizó bajo un diseño de bloques completamente al azar, donde se tuvieron 4 tratamientos y se realizaron dos aplicaciones de cada uno de los tratamientos, la primera a los 60 días y la segunda a los 90 días después del corte.

Las plantas de caña de azúcar con signos de daño por barrenador fueron contadas y examinadas en busca de larvas de *D. magnifactella*, también se midió la altura de la caña de azúcar en cada tratamiento. Los análisis estadísticos indican que el tratamiento uno (1×10^{12} conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae*), dos (20 mg/litro de proteína total de proteína total de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis* y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae*) y tres (20 mg/litro de proteína total de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis* y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae*) son iguales entre si y diferentes al tratamiento cuatro (H₂O).

Palabras clave: Interacción, Caña de azúcar, *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* y *Diatraea magnifactella*

Introducción

La caña de azúcar *Saccharum officinarum* (Poaceae) es uno de los cultivos más importantes en México con cerca de 700 mil hectáreas cultivadas y con 58 ingenios azucareros; sin embargo, su producción se ve disminuida por las plagas que la atacan, siendo el complejo de barrenadores los que más daño ocasionan. Las principales especies pertenecen al orden Lepidóptera, particularmente a la familia Crambidae, subfamilia Crambinae, que incluye los géneros *Eoreuma* y *Diatraea*; su presencia provoca grandes pérdidas económicas al año. En Morelos se reportan 21 municipios donde se cultiva *S. officinarum* con presencia de gusanos barrenadores, principalmente *Diatraea magnifactella* (Campos y Lugo; 2012). Los daños directos que causa *D.*



magnifactella son: muerte del punto de crecimiento del tallo y perforación del tallo formando galerías longitudinales, las cuales pueden atravesar varios nudos del tallo; de manera indirecta causan la muerte de la planta y el acame de los tallos, la reducción del tamaño del tallo y del rendimiento, así mismo facilita la entrada de otros organismos a la galería, reduciendo el contenido de sacarosa del tallo (Rodríguez del Bosque y Vejar; 2008. Campos y Lugo; 2012).

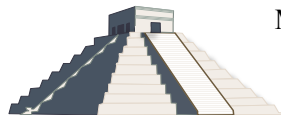
Se ha reportado la cepa B-148 de *B. thuringiensis*, nativa del estado de Morelos, produce una mortalidad mayor al 50%, sobre *D. magnifactella* (Fonseca, 2011). Por otra parte se han realizado bioensayos con la cepa Ma 156 de *Metarhizium anisopliae* sobre *D. magnifactella* (Silva; 2010 Buenosaires-Alvarez *et al.*, 2013). Así mismo se han llevado a cabo estudios de interacción entre estas dos cepas, sin embargo estos estudios se han llevado a cabo en condiciones de laboratorio por lo cual es necesario evaluar su efecto en campo.

Materiales y metodos

La aplicación en campo se realizó en el campo la Cruz, ejido El puente, del municipio de Xochitepec, Morelos, en conjunto con la comisión de sanidad vegetal. La evaluación se realizó bajo un diseño de bloques completamente al azar, donde se tuvieron 4 tratamientos: Tratamiento uno: 1×10^{12} conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae* por hectárea. Tratamiento dos: 20 mg/litro de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis* y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae* por hectárea. Tratamiento tres: 40 mg/litro de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis* por hectárea y Tratamiento cuatro (control): H₂O. Por cada tratamiento tuvimos 4 repeticiones y como unidad experimental evaluamos 3 metros lineales al azar, determinando el número de cañas dañadas. Se realizaron dos aplicaciones, la primera a los 60 días y la segunda a los 90 días después del corte, cabe mencionar que las aplicaciones se realizaron por las tardes.

Para la producción masiva de *Bacillus thuringiensis* se inoculó la cepa B-148 en un litro de medio líquido HCT, e incubó a temperatura ambiente y durante 72 h, en matraces *Feral Batch* con capacidad de tres litros, los cuales se agitaron periódicamente de manera manual. Posteriormente se colocó en botellas de plástico y se congeló hasta su aplicación en campo.

***Metarhizium anisopliae* se produjo usando** cinco kilos de arroz (India de Morelos[®]), el cual se lavó con H₂O potable, posteriormente se dejó reposar en H₂O a $75^{\circ}\text{C} \pm$ durante 30 min, se escurrió y se empaco en bolsas de polipapel con 300gr de arroz, las cuales se esterilizaron en autoclave durante 20 minutos a 120°C . Una vez concluida la esterilización se removió el arroz de las bolsas y se dejó enfriar 24 horas. En campana de flujo laminar, se inocularon las bolsas de arroz con 5ml de la cepa Ma156 a una concentración de 1×10^8 conidios/ml, se agitó cada una de las bolsas para homogeneizar y se colocaron en una caja evitando los rayos UV, removiendo las bolsas de arroz cada tercer día durante 15 días. Una vez que la cepa Ma156 de *M. anisopliae* colonizó por completo los granos de arroz, se eliminó el exceso de humedad abriendo las bolsas en un cuarto completamente cerrado durante 48 horas, con la ayuda de un deshumificador. Posteriormente, se realizó la extracción de los conidios con la ayuda de un extractor conidial



(MycoHarvesters, MH5), Los conidios se mantuvieron en un recipiente obscuro hasta la aplicación en campo.

Resultados

Las plantas de caña de azúcar con signos de daño por barrenador fueron contadas y examinadas en busca de las larvas, sin embargo, se encontró un individuo de *D. magnifactella* antes de la aplicación, esto puede deberse a que al inicio de la aplicación el insecto no estaba en etapa de larva. Después de la primera aplicación ya no se observaron daños causados por *D. magnifactella* en los tallos, lo que nos indicó la ausencia de *D. magnifactella*, sin embargo si había huellas de la presencia de *D. magnifactella*, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos en cuanto al daño (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio del daño de las plantas de caña de azúcar, en los tres muestreos. Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.01$).

Tratamientos	Muestreo		
	1 ^{er}	2 ^{do}	3 ^{er}
4 (H ₂ O)	4.2a	3.2a	3.2a
3 (40 mg/litro de proteína total de B-148 de <i>B. thuringiensis</i>)	5a	2.2a	2.7a
2 (20 mg/litro de proteína total de B-148 de <i>B. thuringiensis</i> y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de <i>M. anisopliae</i>)	2.5a	2.2a	3.2a
1 (1×10^{12} conidios/litro de Ma156 de <i>M. anisopliae</i>)	7a	1.2a	2.5a
Pr \geq F	0.194	0.490	0.8951

En la primera evaluación de los tratamientos se observó una diferencia en cuanto a la altura de las caña de azúcar por tratamiento, por lo tanto se procedió a medir la altura de las caña de azúcar en cada tratamiento (15 caña de azúcar al azar por repetición), en contraste los análisis estadísticos indican que el tratamiento uno (1×10^{12} conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae*), dos (20 mg/litro de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis* y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de *M. anisopliae*) y tres (40 mg/litro de proteína total de B-148 de *B. thuringiensis*) son iguales entre si y diferentes al tratamiento control (H₂O), los resultados sugieren que el productor puede usar tanto la bacteria o en combinación con el hongo (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio de la altura de la planta de caña de azúcar. Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.01$).

Tratamientos	Altura en cm
2 (20 mg/litro de proteína total de B-148 de <i>B. thuringiensis</i> y 1×10^7 conidios/litro de Ma156 de <i>M. anisopliae</i>)	159 ^a
1 (1×10^{12} conidios/litro de Ma156 de <i>M. anisopliae</i>)	158 ^a
3 (40 mg/litro de proteína total de B-148 de <i>B. thuringiensis</i>)	150 ^a
4 (H ₂ O)	131 ^b



Discusion

Los hongos en la rizosfera, actúan como antagonistas de patógenos, facilitan la absorción de nutrientes del suelo, aumentan la eficiencia en el uso del nitrógeno, alivian tensiones fisiológicas, aumenta la eficacia fotosintética y la actividad respiratoria (Fang *et al.*, 2010 y Shores *et al.*, 2010). Sasan y Bidochka en 2012, reportan a *M. robertsii* como endófito, observaron que las raíces de las plantas tratadas con *M. robertsii* tuvieron un crecimiento más rápido y la densidad de pelos radiculares aumento, por lo que además de medir la altura de las plantas tratadas con entomopatógenos, donde si se observa un mayor crecimiento que las no tratadas sería conveniente observar el sistema radicular de la caña de azúcar en campo. Otra de las ventajas que hay al utilizar hongos entomopatógenos es que existe una triple interacción entre plantas, insecto y hongo. Por una parte los insectos son una fuente rica en nitrógeno, que al ser atacados por *M. robertsii*, se convierten en sustrato para la planta, el cual tiene la capacidad de trasladar nitrógeno derivado de insectos a las plantas, estimulando su desarrollo (Behie, *et al.*, 2012). En nuestro caso, el desarrollo de las plantas puede deberse a esta interacción, el barrenador fue una fuente de nitrógeno para las caña de azúcar lo que se vio reflejado en el aumento de la altura de la caña de azúcar.

B. thuringiensis tiene la capacidad de colonizar todas las partes las plantas como un endófito, entrado en las raíces y migrado a través del xilema, en plantas de algodón, col y maíz, además de que puede causar mortalidades a insectos Lepidópteros como *S. frugiperda* y *Plutella xylostella* que se alimentan de las hojas de las plantas (Monnerat *et al.*, 2009), por lo que también podría haber translocación en la caña de azúcar y podría causar mortalidad a larvas de *D. magnifactella*, siendo una alternativa de control biológico en Morelos.

Literatura citada

- Behie, S. W., Zelisko, P. M. y Bidochka, M. J. 2012. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. *Science*. 336: 6088. 1576-1577.
- Bidochka, M. J. Kasperski, J. E. and Wild, G. A. M. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats; *Can. J. Bot.* 76: 1198–1204.
- Campos, H. A. y Lugo, A. A. 2012. MANUAL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES EN CAÑA DE AZUCAR PARA EL ESTADO DE MORELOS. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Primera edición. 3-7.
- Fang, W. y Leger, R. J. 2010. Mrt, a Gene Unique to Fungi, Encodes an Oligosaccharide Transporter and Facilitates Rhizosphere Competency in *Metarhizium robertsii*. *Plant Physiology*. 154. 1549–1557.
- Gonzales-Fonseca, A. 2011. Aislamiento y virulencia de *Bacillus thuringiensis* sobre *Diatraea magnifactella*. Tesis de Maestría en Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. UAEM. 45 p.
- Monnerat, R. G., Soares, C. M., Capdeville, G., Jones, G., Martins, E. S. Praça, L., Cordeiro, B. A., Braz, S. V., dos Santos, R. C., y Berry, C. 2009. Translocation and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* living inside of plants. *Microb Biotechnol.* 2(4):512-20
- Sasan, R. K. y Bidochka, M. J. 2012. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *Am J Bot.* 99(1):101-7.
- Shores, M., Harman, E., A. y Mastouri, F. 2010. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48:21-43.
- Silva, T. I. 2010. VIRULENCIA DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarhizium anisopliae* Y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) EN LARVAS DE *Diatraea magnifactella* (Lepidoptera: Pyralidae) EN



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



LABORATORIO. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Colima.



CAPACIDAD DE *Bombus impatiens* (HYMENOPTERA: APIDAE) EN DISPERSAR CONIDIOS DE *Beauveria bassiana* (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) EN PRUEBAS DE SEMICAMPO EN CULTIVO DE CHILE *Capsicum annuum* (SOLANALES: SOLANACEA).

Julio César Velázquez-González¹, Jimena Lima-Espínola², Alfonso Torres-Ruiz¹. KOPERT MEXICO¹ S.A. DE C.V. CIRCUITO EL MARQUÉS NORTE NO. 82. C.P. 76246. EL MARQUÉS QUERÉTARO, MÉXICO. COLEGIO DE POSTGRADUADOS². CARRETERA MÉXICO TEXCOCO KM. 36.5, CP. 56230 MONTECILLO TEXCOCO EDO. DE MÉXICO, MÉXICO. jvelazquez@koppert.com.mx; jimenalimae@hotmail.com, atorres@koppert.com.mx

Resumen. Se evaluó el potencial de *Bombus terrestris* para dispersar conidios de *Beauveria bassiana* en tres módulos de 90 m² cada uno comparados contra tres módulos control durante ocho semanas experimentales. Se evaluó el número de conidios transportados por cada abeja, así como la presencia de conidios en estructuras de la planta como flores y botones. Se encontró que los abejorros fueron capaces en dispersar el inoculo en los dos dispositivos evaluados, sin embargo se encontraron diferencias en el gasto de inoculo entre estos, siendo el modelo artesanal con el que se liberó mayor cantidad con un promedio de 1.66±0.31 gr y con el automático 0.29±0.20 gr de inoculo P=0.001; T-value=9.56, gl=6. Se logró recuperar los conidios determinados como UFC en flores a una concentración promedio de 196 000±7 200 UFC, en abejorros 356 500±1180 UFC, *Catolaccus* 3 430±480 UFC y picudo 140±84 UFC. La viabilidad de los conidios se mantuvo entre el 50 y 62%. Los resultados indican que no existió un efecto en el peso final de las colmenas por la presencia del hongo F=0.07; P=0.79, gl=1. Sin embargo las colmenas del tratamiento alcanzaron un peso promedio más alto que las del control de 369±95.7 y 352.8±82.4 gr respectivamente pero sin llegar a ser diferentes. No se observó efecto en el número de obreras entre las colmenas en las que se colocó el dispensador con el hongo y las colmenas control F=1.25; P=0.28; gl=1. Esto a pesar de que numéricamente en el control se obtuvieron un promedio de 113.33 y en el tratamiento de 96.66 obreras después de tres semanas de exposición. Estos resultados indican que el abeja puede ser usado como un nuevo vector de *B. bassiana* y contribuir no solo a la polinización, sino también al manejo de plagas en este cultivo como picudo del chile, áfidos y psílido. Sin embargo, aún hace falta determinar si la dosis de UFC encontrada sobre picudos es suficiente para controlar esta plaga, así como también mejorar la formulación del hongo.

Palabras clave: Abejorro, Beauveria, Pimiento, Anthonomus, Colmena.



EFFECTIVIDAD DE PRODUCTOS NATURALES EN EL CONTROL DE CHICHARRITA *Dikrella cockerelli* GILLETE (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)

Felipe Tafoya¹, Ernesto González Gaona², Julio Cesar Rodríguez¹. ¹Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad#940, Cd. Universitaria, Aguascalientes, Aguascalientes. C.P 20131; ²INIFAP, Campo Experimental Pabellón, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes. C. P. 20671. ftafoya@correo.uaa.mx

Resumen. El Estado de Aguascalientes tiene una larga tradición vinícola, ocupando el cuarto lugar como estado productor en México con alrededor de 850 ha. Es un sector de importancia social al requerir mano de obra especializada a lo largo del ciclo de producción. Sin embargo, los rendimientos y condición fitosanitaria de los viñedos se han visto disminuidos por diversos factores, entre los que se ubica el manejo inadecuado de las plagas. El objetivo del estudio fue evaluar tanto productos de naturaleza química como biológica hacia poblaciones adultas de la chicharrita de la vid *Dikrella cockerelli*, bajo condiciones comerciales de producción en un huerto de producción de *Vitis vinifera* variedad “Globo Rojo” en Luis Moya, Zacatecas. Los productos evaluados fueron: Azadiractina (emulsión de Neem), Pyganic (piretrinas), Xentari (*Bacillus thuringiensis*), Confidor (imidacloprid), Karate (piretroide) y Agua como control. Los resultados indicaron al imidacloprid como el producto con mayor efecto sobre las poblaciones de chicharrita seguido de las piretrinas y los piretroides. El producto a base de *Bacillus thuringiensis* y la emulsión de Neem no tuvieron efectos estadísticos significativos distintos al tratamiento control. Se plantea se continúen utilizando productos compatibles con el ambiente natural en conjunto con el efecto de enemigos naturales registrados para el manejo de la chicharrita de la vid en la zona de estudio.

Palabras clave. Cicadélido, *Dikrella cockerelli*, viticultura, Aguascalientes.

Introducción

Según el servicio de información agropecuaria y pesquera (SAGARPA, 2013) durante el año 2013 el Estado de Aguascalientes tuvo una superficie comercial del cultivo de la vid de 853 ha con un valor de producción cercano a los 45 millones de pesos y una producción de 14, 120 Ton y un registro de 244 productores en la entidad (CESVA, 2013).

Las plagas principales que están reportadas en el Estado de Aguascalientes son trips (*Frankliniella occidentalis*), pulgón (*Phylloxera vastatrix*), chicharrita de la vid (*Dikrella cockerelli*), descarnador de la hoja (*Harrisina brillians*) y barrenador de la madera (*Sinoxylon sexdentatum*). Los productos reportados para su control son el Paratión, Paratión metílico, Plictrán y una mezcla de Azodrín+Sevín (INIFAP, 2009); varios de ellos organofosforados y calificados como extremadamente tóxicos (SAGARPA, 2013b).

Hasta el momento en Aguascalientes prevalecen los estudios fitopatológicos en el cultivo de la vid con los trabajos de Gallegos (1988) y Sandoval (1985) para el control de la cenicilla. El estudio de



enfermedades parasitarias de la vid (Valle, 1981). De forma tal, que este trabajo representa la primera referencia de estrategia de control biológico para la chicharrita de la vid, una de las principales plagas que aparece frecuentemente en los viñedos de Aguascalientes y Zacatecas.

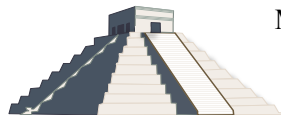
Materiales y Métodos

Área de trabajo: El experimento se llevó a cabo en el rancho “La Loma”, ubicado en el Municipio de Luis Moya, del Estado de Zacatecas, con coordenadas 22°24'48.6" N y 102°14'19.4" W; a una altura de 1980 m sobre el nivel del mar. El viñedo cuenta con una edad de 7 años y la plantación fue de la variedad “globo rojo”.

Para las aplicaciones se dejaron las tres líneas consecutivas, a las cuales no se les había aplicado ningún tipo de producto. Antes de la primera aplicación se perforaron de 10 a 15 hojas por parra, procurando que estuvieran sanas y sin ninguna señal de daño, esto para que al final de las aplicaciones evaluar el daño producido por chicharrita en áreas conocidas (hojas perforadas) de cada tratamiento. Los productos aplicados fueron Azadiractina (emulsión de Neem), Pyganic (piretrinas), Xentari (*Bacillus thuringiensis*), Confidor (imidacloprid), Karate (piretroide) y el Blanco (agua). Se prepararon soluciones de 4L, con concentraciones de 2 gr/L para los productos en polvo y de 2cc/L para los productos líquidos. Además se agregó 0.2cc/L de adherente. En cada línea donde se aplicó el producto se dejó la primera parra sin tratar y a partir de la segunda se hicieron las aplicaciones que incluyeron cuatro parras cada uno, dejando una parra sin tratar. En caso de coincidir con parras pequeñas, no se incluyeron en la aplicación. Antes de aplicar los productos se muestrearon tres parras desprendiendo tres de las hojas más dañadas de cada parra e introducir las en bolsas marcadas con el número de tratamiento. Esto sirvió para cuantificar el porcentaje de daño causado por chicharrita en ese momento y buscar huevecillos para establecer las épocas del ciclo del cultivo con presencia de esta plaga. Se emplearon bombas de 1 galón (una para cada producto), centrándose especialmente en el follaje. Para el análisis se promedió el porcentaje de daño sobre el follaje y se realizó una prueba estadística de Diferencia Mínima Significativa para establecer las diferencias entre los tratamientos aplicados.

Resultados y Discusión

Los tratamientos implementados para el manejo de la chicharrita tuvieron diferencias estadísticas significativas ($F=22.32$; $gl=5,444$; $P=0.00000$) (Cuadro 1). El tratamiento que logró un mayor efecto sobre las poblaciones de chicharrita durante el tiempo de observación fue el Imidacloprid; este efecto fue seguido por las piretrinas y los piretroides (Figura 1). Estos tres compuestos tuvieron efectos mayores con respecto al tratamiento control. El resto de los compuestos evaluados (emulsión de Neem y el *Bacillus thuringiensis*) tuvieron el mismo efecto que el control (Figura 1), que dicho en otros términos no fueron efectivos en el control de la chicharrita de la vid para la época y condiciones evaluadas.



Cuadro 1.- Prueba de Diferencia Mínima Significativa de los compuestos aplicados para manejo de la chicharrita *D. cockerelli* en viñedos de Zacatecas, México.

Producto aplicado	Promedio de daño
Confidor	0.57 a
Pyganic	3.66 b
Karate	4.47 bc
Control (Agua)	6.62 d
Azaradactina	7.13 de
Xentari	10.56 f

Aunque nuestra intención no es promover el uso de productos de síntesis química el Imidacloprid que es un tipo de insecticidas neuroactivo diseñado a partir de la nicotina tuvo mayor efecto en los adultos de chicharrita. Esto lo atribuimos a que en las épocas de aplicación fueron especialmente secas y calurosas, dando menos rango de acción para el bioinsecticida a base de bacterias (Xentari). Es así, que la recomendación para un producto de menor residualidad y con buen nivel de respuesta serían las piretrinas y sus derivados químicos los piretroides.

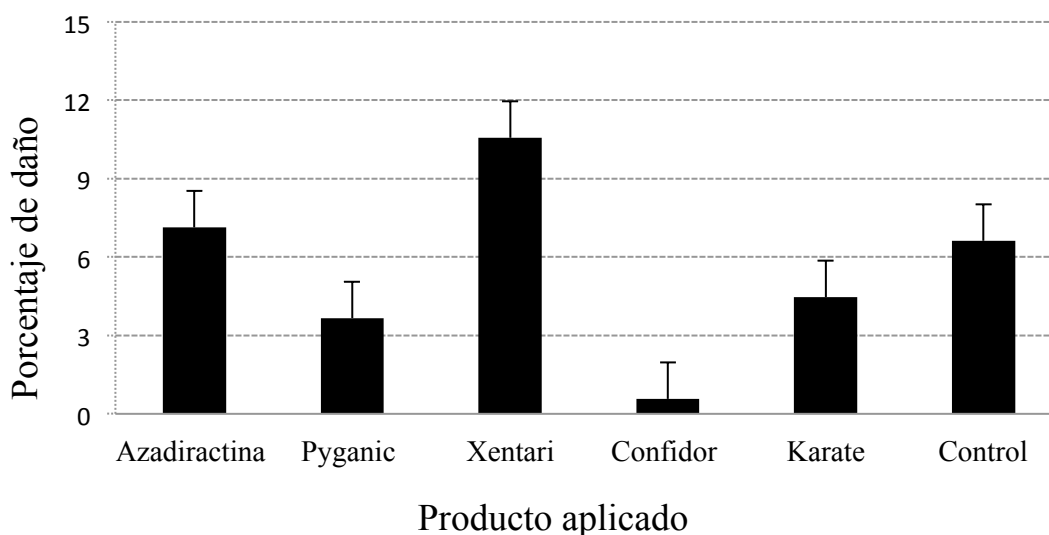


Figura 1.- Porcentaje de daño registrado luego de la aplicación de productos químicos y biológicos para control de la chicharrita *D. cockerelli* en viñedos de Luis Moya, Zacatecas.

Considerando los datos proporcionados por el Comité de Sanidad Vegetal de Aguascalientes (CESVA) donde reportan que no todos los años se reportan altas poblaciones de chicharrita (CESVA, 2013), lo más conveniente para optimizar el manejo de las poblaciones de chicharritas en la región de Aguascalientes y Zacatecas es mantener una actividad de muestreo, de preferencia siguiendo un pronóstico de unidades calor (UC), antes de aplicar cualquier medida de control (González *et al.*, 2014). Sobre los eventuales enemigos naturales que podrán tener efecto en las poblaciones de chicharrita, según nuestros muestreos, están los arácnidos, los crisópidos, y los coccinélidos. Por último, hasta el momento todas las pruebas para la detección de *Xylella*



fastidiosa, agente causal de la enfermedad de Pierce, han resultado negativas en los coccinélidos colectados en los viñedos del Estado de Aguascalientes.

Agradecimientos. Al Fondo Mixto CONACYT – Gobierno del Estado de Aguascalientes (proyecto AGS-2011-02-178827) por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

Literatura citada

- Comité de Sanidad Vegetal de Aguascalientes. 2013. Campaña de Manejo Fitosanitario de la Vid. Documento en línea. <http://www.cesva.org.mx/vid11.html> [consultado 1 Septiembre 2014].
- Gallegos, R. J. 1988. Evaluación de tres formulaciones a base de azufre para el control de la cenicilla de la vid (*Uncinula necator*). Tesis de Licenciatura. UAA. 50 p.
- González, G. E., Borga Bravo, M., Reyes Muro, L., Galindo Reyes, M. A., Velásquez Valle, R., Sánchez Lucio, R. y Tafoya-Rangel, F. 2014. Principales insectos plaga de los viñedos en el mundo, México y Aguascalientes. Folleto Técnico No. 55. INIFAP. Campo experimental Pabellón. 45 p.
- SAGARPA. 2013. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Documento en línea: <http://www.senasica.gob.mx> [consultado 20 Agosto 2014].
- SAGARPA. 2013b. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Documento en línea: <http://www.senasica.gob.mx> [consultado 20 Julio 2014]
- Sandoval, G. O. 1985. Determinación de daños por cenicilla de la vid (*Uncinula necator*) a diferentes grados de intensidad de la enfermedad en la variedad carignane. Tesis de Licenciatura. UAA. 61 p.
- Valle, G. P. 1981, Principales enfermedades parasitarias de la vid en Aguascalientes. Folleto Técnico No. 4. INIFAP. Campo experimental Pabellón. 21 p.



EVALUACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE DOS ESPECIES DE PARASITOIDES PARA EL CONTROL DE *Anastrepha obliqua* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EN FRUTOS DEL GÉNERO *Spondias*.

Jorge Cancino y Patrica López. Programa Moscafrut SAGARPA-IICA, Tapachula, Chiapas, México.
jorge.cancino@iica-moscafrut.org.mx

Resumen. La liberación de *D. longicaudata* y *U. anastrephae* fue evaluada sobre poblaciones de *A. obliqua* en frutos de *S. mombin*. La liberación combinada y única de *U. anastrephae* permitieron alcanzar un nivel de parasitismo significativamente mayor al obtenido en puntos de sin liberación o con la liberación única de *D. longicaudata*. Aunque el efecto de *D. longicaudata* incrementó el parasitismo no fue estadísticamente mayor que el parasitismo natural. La alta relación tritrofica entre *U. anastrephae*, larvas de *A. obliqua* infestando fruto de *S. mombin*, puede ser la razón del incremento en el parasitismo. Lo cual no se presenta en *D. longicaudata* que es un parasitoide introducido. Las especies no liberadas, *D. aerolatus* y *A. pelleranoi* se mantuvieron aún con la presencia a altos niveles de las dos especies liberadas. El uso de *U. anastrephae* para incrementar el parasitismo en *Spondias* infestados con *A. obliqua* representa una opción muy importante para el control de esta especie plaga en sus frutos nativos, lo cual puede proteger la infestación en las huertos comerciales de mango.

Palabras claves: liberación aumentativa, parasitismo complementario, *Spondias*, *A. obliqua*.

Introducción

Los frutos del género *Spondias* son hospederos nativos de *Anastrepha obliqua* McQuart (Diptera: Tephritidae), una especie de gran importancia económica debido a ser considerada la principal plaga de moscas de la fruta en la producción de mango (Hernández Ortiz y Aluja 1993). La presencia de *A. obliqua* es muy constante durante la producción de mango en las zonas tropicales (Aluja, 1994), posteriormente parasita frutos nativos, en donde toman alta relevancia los frutos de *Spondias*.

La morfología de estos frutos (frutos pequeños, con poca pulpa, semilla grande y cáscara delgada), los hace propicios para obtener los niveles altos de parasitismo natural que generalmente presentan (López *et al.* 1999; Aguilar-Meneses y Meneses 2002). Esto puede ser favorable para incrementar el parasitismo por medio de liberaciones aumentativas de parasitoides (Sivinski *et al.* 2001, Serra *et al.* 2011), para el control de las poblaciones de *A. obliqua* y reducir su capacidad de daño hacia las zonas comerciales productoras de mango.

Se dispone de dos especies de parasitoides para llevar a cabo las liberaciones masivas, uno es *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), un parasitoide introducido, usado eficientemente en el control de poblaciones de moscas *Anastrepha* en el país (Montoya *et al.* 2000) y el otro es *Utetes anastrephae* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) una especie nativa, muy asociado con *A. obliqua* y con alta presencia natural en frutos pequeños



(López *et al.* 1999, Sivinski *et al.* 1997), que además mantiene una presencia natural desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Ovruski *et al.* 2000). Ambas especies se encuentran disponibles para criarlas a nivel masivo y se pueden manejar eficientemente para su liberación, sin embargo es conveniente conocer el efecto de cada especie o su acción conjunta para proponer una estrategia de manejo de *A. obliqua* hospedadas en frutos de *Spondias*. En este trabajo se evaluó el parasitismo obtenido por medio de la liberación masiva de estos parasitoides sobre una población de *A. obliqua* hospedada en *Spondias* en el municipio de Tuzantán Chiapas. Los resultados pueden ser indicativos para el mejor uso de estos parasitoides en el control biológico de *A. obliqua*.

Material y métodos.

Se evaluó el efecto de la liberación de *D. longicaudata* y *U. anastrephae* sobre poblaciones de *A. obliqua* hospedadas en frutos de *Spondias monbin* L. en el Municipio de Tuzantán, Chis., las cuales se ubican cerca de la zona productora de mango del Municipio de Huehuetán, Chis. El período de evaluación comprendió dos períodos anuales del 2012 a 2013.

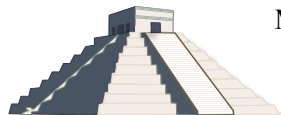
La liberación de parasitoides consistió en la aplicación de *D. longicaudata* y *U. anastrepha* por separado y combinando ambas especies, como referencia se mantuvieron árboles sin aplicaciones como testigo. Se realizaron liberaciones semanales de 1,500 parasitoides (Aprox. 2♀: 1♂) por árbol durante el período de fructificación de los árboles de *S. monbin* (de mayo a octubre). Cada árbol seleccionado para liberación se encontraba al menos a 500 m de distancia del árbol más cercano en donde se aplicó otro tratamiento.

La evaluación de las liberaciones se llevaron a cabo con el muestreo de frutos infestados, los cuales fueron trasladados al laboratorio para su disección y se tomaron las larvas de 2do. y 3er. estadio. Estas fueron mantenidas en contenedores con vermiculita a 26°C hasta la emergencia de los adultos. Se contabilizó el número de moscas y parasitoides emergidos con lo cual se obtuvieron los porcentajes de emergencia y parasitismo.

Una repetición consistió en las liberaciones sobre un árbol (punto de liberación) durante todo su período de infestación. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Los porcentajes de emergencia de adultos, de moscas y de parasitismo fueron comparados por medio de un ANOVA, para diferencias las medias se aplicó un análisis de Tuckey.

Resultados

Se colectaron entre 6663 y 9968 frutos por tratamiento, obteniendo entre 1642 y 2499 larvas. Los adultos emergidos fueron moscas exclusivamente de *A. obliqua* y cuatro especies de parasitoides. El parasitismo natural estuvo dominado por *U. anastrephae*, seguido por *Doryctobracon aerolatus* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae), *Aganaspis pelleranoi* Brèthes (Hymenoptera: Figitidae) y *D. longicaduata* (Fig. 1). Los porcentajes de parasitismo se incrementaron después de las liberaciones masivas, obteniéndose el valor significativamente más alto con la liberación



conjunta de *D. longicaudata* y *U. anastrephae*; el parasitismo ejercido por la liberación de *U. anastrephae* también fue significativamente mayor que en el testigo ($F_{3,12}= 18.169$, $P<0.0001$). La emergencia total no fue afectada por la liberaciones de parasitoides ($F_{3,12}= 1.216$, $P=0.346$), mientras que la emergencia de moscas disminuyó de forma significativa cuando se liberó *U. anastrephae* y cuando se liberaron ambos parasitoides ($F_{3,12}=18.169$, $P<0.0001$) (Cuadro 2).

La presencia de las especies *D. aerolatus* y *A. pelleranoi* se mantuvo aun cuando los porcentajes de parasitismo alcanzado por las especies liberadas fueron altos (Fig. 1).

Discusiones

El parasitismo se incrementó de manera significativa con la liberación de *D. longicaudata* y *U. anastrephae*, al parecer se presentó una acción complementaria entre las dos especies. La acción de un gremio de parasitoides puede ser más eficiente y reforzada través de liberaciones masivas, como fue en este trabajo donde a pesar del parasitismo dominante de las especies liberadas, *D. aerolatus* y *A. pelleranoi* se mantuvieron presentes. La particularidad de este trabajo es el empleo de *D. longicaudata* una especie no nativa que tiene amplias ventajas por considerarlo con relativamente pocos factores antagónicos y que se ha establecido favorablemente sobre poblaciones de *Anastrepha* (Ovruski *et al.* 2000). Sin embargo fue más dominante *U. anastrephae*, incluso considerando que *D. longicaudata* es un parasitoide que gana la competencia interespecífica tipo intrínseca (Paranhos *et al.* 2013). Otro tipo de factores más intrínsecos y resultados de la coevolución propia de una interacción tritrofica, pueden justificar la dominancia de *U. anastrepha* con liberaciones. De acuerdo a este trabajo *U. anastrephae* puede tener mayores ventajas para aplicarse en el caso particular de frutos de *Spondias* infestados con *A. obliqua*.

Cuadro 1. Porcentajes de emergencia de adultos y porcentaje de parasitismo (promedios \pm E.S.) obtenido en frutos de *S. monbin* colectados después de la liberación de los parasitoides *D. longicaudata* y *U. anastrephae*, durante los periodos de fructificación de mayo a octubre en los años 2012 y 2013.

Parasitoides liberados	Porcentaje de parasitismo total	Porcentaje de emergencia de moscas	Porcentaje de emergencia total (parasitoides + moscas)
<i>D.longicaudata</i>	55.36 \pm 4.4 BC	44.64 \pm 8.8 AB	72.63 \pm 4.9 A
<i>U.anastrephae</i>	68.88 \pm 3.5 AB	31.12 \pm 3.5 BC	65.5 \pm 12.3 A
<i>D. longicaudata</i> / <i>U. anastrephae</i>	75.81 \pm 3.6 A	24.19 \pm 3.6 C	83.2 \pm 6.6 A
Testigo	40.01 \pm 3.2 C	59.9 \pm 3.2 A	82.1 \pm 3.4 A

Las letras junto a los números indican diferencia significativa entre filas. ANOVA y prueba de Rango Múltiple de Tukey ($\alpha=0.05$)

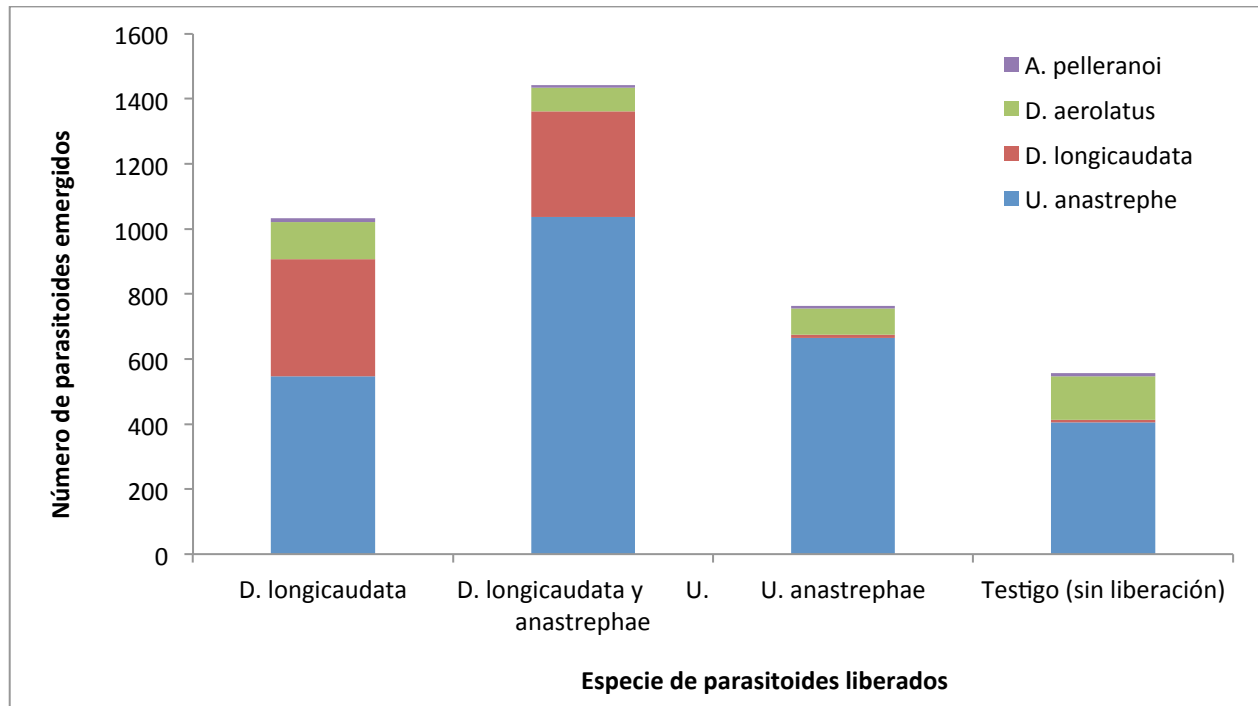
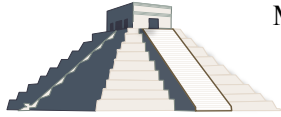


Fig. 1. Proporción de parasitoides emergidos en las diferentes árboles evaluados, después de la liberación de *D. longicaudata* y *U. anastrephae* y en una zona sin liberación, durante los periodos de fructificación de los meses de mayo a octubre en los años 2012 y 2013.

Bibliografía

- Aluja, M. 1994. Manejo Integrado de la Mosca de la Fruta. Editorial Trillas Mexico D. F. 251 p.
- Hernández-Ortiz, Vicente y M. Aluja. 1993. Listado de especies del género neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) con notas sobre su distribución y plantas hospederas. 33: 88-105. Folia Entomologica Mexicana.
- López, M., M. Aluja, and J. Sivinski. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera:Tephritidae) in Mexico. Biol. Control 15: 119-129.
- Menezes, L. Aguilar y E. B. Menezes. 2002. Effect of Time of Permanence of Host Fruits in the Field on Natural Parasitism of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology* 31(4):589-595.
- Montoya, P., P. Liedo, B. Benrey, J. Cancino, J. F. Barrera, J. Sivinski y M. Aluja. 2000. Biological Control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Mango Orchards through Augmentative Releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 18, 216-224.
- Ovruski, S., M. Aluja, J. Sivinski, and R. Wharton. 2000. Hymenopteran parasitoids on fruit: infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruity biological control. *Int. Pest Manag. Rev.* 5: 81-107.
- Paranhos B. J. J. Sivinski, C. Stuhl, T. Holler y M. Aluja. 2013. Intrinsic Competition and Competitor-Free-Space Influence the Coexistence of Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of Neotropical Tephritidae (Diptera). *Environ. Entomol.* 42(4): 717-723.
- Serra, A. C., M. Ferreira, S. García, L. Santana, M. Castillo, C. Nolasco, P. Morales, T. Holler, A. Roda, M. Aluja y J. Sivinski. 2011. Establishment of the West Indian Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) in the Dominican Republic. *Florida Entomologist*, 94(4):809-816. 2011.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Sivinski, J., M. Aluja y M. López. 1997. The Spatial and Temporal Distributions of Parasitoids of Mexican *Anastrepha species* (Diptera: Tephritidae) Within the Canopies of Fruit Trees. *Annals of the Entomological Society of America*. 90: 604-618.
- Sivinski, J. y M. Aluja. 2001. The evolution of ovipositor length in the parasitic hymenoptera and the search for predictability in biological control. *Florida Entomologist*. 86(2): 143-150.



SEGUIMIENTO DE LAS LIBERACIONES DE *Tamarixia radiata* (WATERSTON) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) DENTRO DEL PROGRAMA ARCO's DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

Gabriel Moreno-Carrillo, Jorge A. Sánchez-González y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV-CNRF. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28110, Tecomán, Colima, México. j_asg2@hotmail.com

Resumen. El programa ARCO's (Áreas Regionales de Control) es una estrategia implementada por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria que surge de la necesidad de implementar las acciones de control del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos de forma regional, coordinada y efectiva. Dentro de dichas acciones se contempla la liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston en áreas urbanas y huertos abandonados. En este trabajo se da a conocer un avance del grado de efectividad de las liberaciones de este parasitoide en seis estados del país que reciben parasitoides del Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB. De forma general se observa que en zonas urbanas incluidas dentro de un área regional de control el nivel de parasitismo sobre *D. citri* incrementa comparado con zonas donde no se realiza liberación del parasitoide.

Palabras clave: áreas regionales de control, liberación, parasitoide, evaluación

Introducción

El Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri* (Kuwayama), representa la plaga de los cítricos más importante del mundo ya que es el principal vector del agente causal de la enfermedad denominada Huanglongbing de los cítricos (Halbert & Manjunath 2004). En México esta enfermedad se encuentra presente en 16 estados (SENASICA, 2014). Para manejar el problema del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), implementó el programa Áreas Regionales de Control (ARCO's) como estrategia de control regional organizado; esta estrategia implica realizar diferentes acciones enfocadas al control del psílido asiático de manera coordinada, en áreas citrícolas definidas, en periodos cortos de cobertura regional y en épocas biológicamente justificadas, bajo un esquema de rotación de grupos toxicológicos de insecticidas, y de ser posible, haciendo uso de control biológico, en un esquema de manejo que utiliza el monitoreo del vector y el control de focos de infestación (SENASICA, 2012). En apoyo a este programa, el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) reproduce y libera al parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) en áreas urbanas dentro de las ARCO's en 13 estados del país (Figura 1) con la intención de reducir el nivel de población del vector de forma efectiva y amigable con el ambiente y la salud pública.

Este trabajo tiene como objetivo dar a conocer un avance de la efectividad de las liberaciones de este parasitoide en áreas urbanas de tres estados del país que integran como estrategia de manejo de *D. citri* la liberación del parasitoide *T. radiata* dentro de su programa de actividades de



ARCO's. (Colima, Nayarit, Jalisco), así como el parasitismo natural previo a las liberaciones en otros tres estados que también implementan dicha estrategia (Michoacán, Baja California Sur y San Luis Potosí).



Figura 1. Estados en los que se libera el parasitoide *Tamarixia radiata* reproducido en laboratorios oficiales del SENASICA. En los estados del sur, sureste y centro del país (amarillo): Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco, Chiapas, Oaxaca e Hidalgo atendidos por el Laboratorio de Reproducción Masiva de *T. radiata* del Sureste, ubicado en Mérida, Yuc. Y en la región pacífico y centro (azul): Colima, Jalisco, Michoacán, Nayarit, San Luis Potosí y Baja California Sur atendidos por el Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB en Tecomán, Col.

Materiales y Métodos

Se trabajó en seis estados de Colima, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Baja California Sur y San Luis Potosí, durante los años 2013 y 2014. En cada estado mencionado se asignaron áreas urbanas de muestreo dentro de un ARCO determinado; la selección de las áreas urbanas de muestreo fue basada en el tamaño y densidad de hospederos presentes (*Murraya paniculata* L. y *Citrus* spp.). Las áreas urbanas evaluadas dentro de cada ARCO fueron seleccionadas con las mismas condiciones (altura sobre el nivel del mar, clima, manejo del ARCO, localización geográfica). En tres estados (Colima, Nayarit y Jalisco) se liberó el parasitoide *T. radiata* de forma cotidiana, cada tres o cuatro meses en el mismo punto, a una dosis de liberación de 100 parasitoides cada 100 metros lineales, de esta manera se conformaron las localidades tratamiento; para contrastar los resultados de las liberaciones del parasitoide se utilizaron localidades testigo (sin liberación); El listado de localidades, tratamientos, fecha de muestreo y ubicación se describen en el cuadro 1. Se realizaron dos muestreos por cada localidad tratamiento y testigo para observar el comportamiento del parasitismo a través del tiempo, la muestra se formó por tres brotes de 10 cm de largo con ninfas de tercer a quinto instar de *D. citri* de 10 plantas Hospederas seleccionadas al azar por localidad, es decir 30 brotes por localidad. La muestra fue llevada al Laboratorio del Departamento de Insectos Entomófagos del CNRCB para determinar el nivel de parasitismo.



En los estados de Michoacán, Baja California Sur y San Luis Potosí sólo se determinó el nivel de parasitismo inicial, considerando que en dichos estados ha transcurrido poco tiempo a partir de la última liberación. El listado de localidades, fecha de muestreo y ubicación se describen en el cuadro 2.

Resultados

De acuerdo al análisis de las muestras de las localidades con liberaciones de *T. radiata* se observó que estas presentan mayor porcentaje de parasitismo comparada con las localidades en las que no se realizan liberaciones; como se muestra en las localidades del estado de Colima en el ARCO de Armería, en la localidad de Coalatilla (con liberación) presentó un nivel de parasitismo en el año 2013 de 79.61% y 53.38% en el año 2014 comparado con la localidad de los Reyes (sin liberación) que arrojó un nivel de parasitismo en el año 2013 de 11.40% y de 13.40% en el año 2014 (Fig. 2). En el ARCO de Manzanillo, en la localidad de San Buenaventura (con liberación) se encontró 65.80% de parasitismo en el año 2013 y 55.26% en el año 2014 contrastando con 19.44% en el año 2013 y un 10.27% de parasitismo en año 2014 en la localidad de Venustiano Carranza (sin liberación) (Fig. 3).

En el Estado de Nayarit en el ARCO, en la localidad Xalisco, se obtuvo un parasitismo de 56.45% en el año 2013 y 57.44% en el año 2014, en Aquiles Serdán 38.59% en el año 2013 y un 36.95% en el año 2014; las dos localidades con liberación, comparado con El Carrizal (sin liberación) que se encontró un parasitismo de 3.95% en el año 2013 y un 8.42% en el año 2014 (Fig. 4), En el Arco 1b en el municipio de Compostela, se determinó 59.67% de parasitismo en la localidad de Librado Rivera, 54.16% en Milpillitas, municipio de San Pedro Lagunillas, ambas localidades con liberaciones de parasitoides, mientras que en Juan Escutia, municipio de Compostela, localidad sin liberación, se encontró 9.94% de parasitismo en el año 2013 (Fig. 5). En la localidad de el Ahuacate, se observó un parasitismo de 55.50% y en Jalcocotan se obtuvo un parasitismo de 64.70%, ambas localidades con liberación del parasitoide, comparado con Miramar (sin liberación), donde se encontró un parasitismo de 13.54% en el 2014 (Fig. 6).

Para el estado de Jalisco, en el ARCO Atotonilco se determinó 41.20% de parasitismo en la localidad del Maguey, 64.28% de en la localidad de Atotonilco, ambas localidades con liberaciones, comparado con 9.45% de parasitismo de Ayotlán en el año 2013 (Fig. 7). En el año 2014 en la localidad de Tototlán se encontró un 56.66% y en la localidad de Atotonilco un 40.00%, ambas con liberación del parasitoide comparada con Arandas donde se encontró un 0% de parasitismo (Fig. 8), Para el ARCO de San Martín Hidalgo en la localidad de Santa Cruz, se encontró 23.22% de parasitismo, en la localidad del Ahualulco se observó un parasitismo de 27.69%, ambas con liberación, comparado con el municipio de Villa Corona donde se encontró 2.39% de parasitismo (área sin liberación) en el año 2013 (Fig. 9) y en el año 2014 se observó un parasitismo de 27.35% en la localidad de San Martín Hidalgo y un 57.55% en la localidad de Ameca, localidades con liberaciones programadas, comparado con 7.27% en la localidad de San Antonio, sin liberación (Fig. 10). En el ARCO de Casimiro Castillo se encontró un parasitismo de 21.08% en el año 2013 y 38.00% en el año 2014 en la localidad de El Grullo, 19.07% en el 2013



y 52.67% de parasitismo en el año 2014 en la localidad de Autlan de Navarro, ambas localidades con liberación, en contraste con un 6.60% en el año 2013 y un 13.79% en el año 2014 en la localidad del Limón, sin liberación (Fig. 11).

Para el Estado de Michoacán en el ARCO 1 se encontró en la localidad de Apatzingán un parasitismo de 23.75%; en Buenavista 29.68% y en la localidad de Tepalcatepec se encontró un parasitismo de 18.08%, todos estos parasitismos reportados son iniciales antes del programa de liberaciones en el 2013 (Fig. 12).

En el Estado de Baja California Sur en el ARCO 1 en el predio de INIFAP se obtuvo un parasitismo de 4.65%; para la localidad de Nueva California se reporta un parasitismo de 10.41%, así como en la localidad de Fernando de la Toba un parasitismo de 10.63% y en la localidad de Cuitláhuac un parasitismo de 11.29%, todas localidades del Municipio de Comondú; los parasitismos reportados son iniciales al programa de liberación del parasitoide en el 2014 (Fig. 13).

En el estado de San Luis Potosí en el ARCO 1 se observó un parasitismo en la localidad de Tanquian de 24.81%; en la localidad de Buenavista se encontró un parasitismo de 24.52% y en la localidad de la Sagrada Familia, el parasitismo fue de 23.33% (todas localidades del municipio de Tanquia), los porcentajes de parasitismo mencionados son iniciales al programa de liberación en el 2014 (Fig. 14).

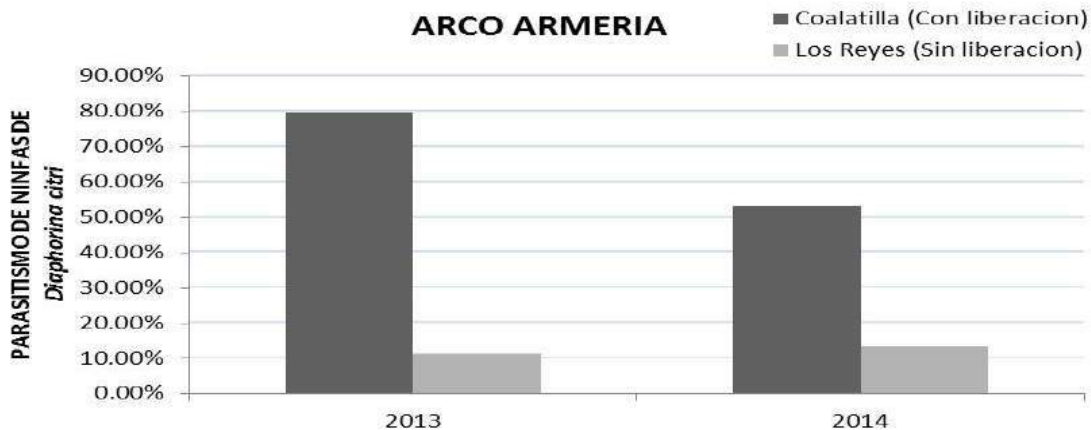
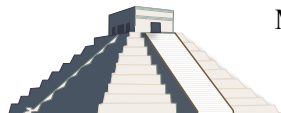


Figura 2.- Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en dos localidades dentro del ARCO Armería, Colima en los años 2013 y 2014.



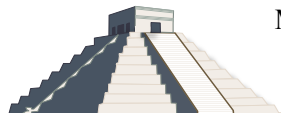
MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
 Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Cuadro 1.- Relación de localidades Urbanas muestreadas, ubicación, tratamientos y fechas de muestreo para dar seguimiento a las liberaciones de *T. radiata* en estados dentro del programa ARCO's

Colima, ARCO's Armería y Manzanillo							
Localidades tratamiento, CON liberación de parasitoides. Fechas de muestreo: Abril 2013 y Agosto 2014							
2013				2014			
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Armería	Coalatilla	19.01127 N	104.00138 O	Armería	Coalatilla	19.01127 N	104.00138 O
Manzanillo	San Buenaventura	19.00745 N	104.09546 O	Manzanillo	San Buenaventura	19.00745 N	104.09546 O
Localidades testigo, SIN liberación de parasitoides. Fecha de muestreo: Abril 2013 y Agosto 2014							
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Armería	Los Reyes	18.58920 N	104.03851 O	Armería	Los Reyes	18.58920 N	104.03851 O
Manzanillo	Venustiano Carranza	19.00786 N	104.06427 O	Manzanillo	Venustiano Carranza	19.00786 N	104.06427 O
Nayarit, ARCO 1							
Localidades tratamiento, CON liberación de parasitoides. Fecha de muestreo: Junio 2013 y Agosto 2014							
2013				2014			
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Compostela	Librado Rivera	21.23217 N	104.91114 O	Tepic	El Ahuacate	21.51652 N	104.94183 O
San Pedro Lagunillas	Milpillas	21.21878 N	104.75139 O	San Blas	Jalcocotan	21.48222 N	105.09052 O
Xalisco	Xalisco	21.45145 N	104.88855 O	Xalisco	Xalisco	21.45145 N	104.88855 O
Xalisco	Aquiles Serdán	21.38210 N	104.88855 O	Xalisco	Aquiles Serdán	21.38210 N	104.88855 O
Localidades testigo, SIN liberación de parasitoides. Fecha de muestreo: Junio 2013 y Agosto 2014							
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Compostela	Juan Escutia	21.47297 N	104.88888 O	Miramar	Santa Cruz	21.43452 N	105.19488 O
Xalisco	El Carrizal	22.63571 N	104.58828 O	Xalisco	El Carrizal	22.63571 N	104.58828 O

Continúa siguiente página...

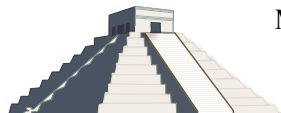


MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
 Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



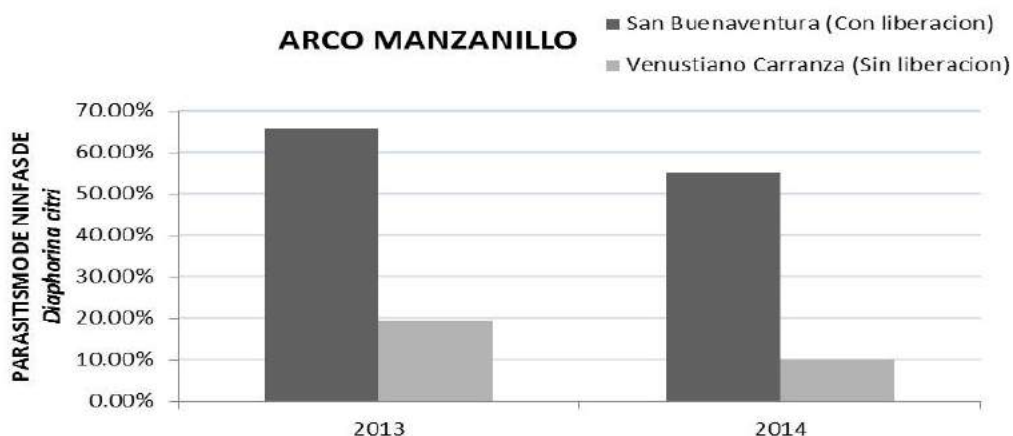
Cuadro 1 (continuación).- Relación de localidades Urbanas muestreadas, ubicación, tratamientos y fechas de muestreo para dar seguimiento a las liberaciones de *T. radiata* en estados dentro del programa ARCO's

Jalisco, ARCO's Atotonilco, San Martín Hidalgo y Casimiro Castillo							
Localidades tratamiento, CON liberación de parasitoides. Fecha de muestreo: Agosto 2013 y Junio 2014							
2013				2014			
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Atotonilco el alto	El Maguey	20.52608 N	102.52032 O	Tototlan	Tototlan	20.54644 N	102.78488 O
Atotonilco el alto	Atotonilco el Alto	20.54572 N	102.51968 O	Atotonilco el Alto	Atotonilco el alto	20.54802 N	102.51363 O
Tlajomulco de Z.	Santa cruz	20.48601 N	103.49945 O	San Martín Hidalgo	San Martín Hidalgo	20.43397 N	103.91566 O
Ahualulco	Ahualulco	20.69966 N	103.97691 O	Ameca	Ameca	20.55930 N	104.05977 O
El Grullo	El Grullo	19.79999 N	104.22267 O	El Grullo	El Grullo	19.80047 N	104.21209 O
Autlán de Navarro	Autlan de Navarro	19.76866 N	104.35833 O	El Limón	El Limón	19.76363 N	104.35482 O
Localidades testigo, SIN liberación de parasitoides. Fecha de muestreo: Agosto 2013 y Junio 2014							
Municipio	Localidad	Coordenadas		Municipio	Localidad	Coordenadas	
Villa Corona	Villa Corona	20.41664 N	103.66449 O	Arandas	Arandas	20.69153 N	103.28727 O
San Martín Hidalgo	El Limón	19.86067 N	104.08241 O	Ameca	San Antonio	20.55561 N	103.95372 O
Ayotlan	Ayotlan	20.53292 N	102.32547 O	El Limón	El Limón	19.83177 N	104.81686 O



Cuadro 2.- Relación de localidades muestreadas incluidas en el programa ARCO's para determinar el porcentaje de parasitismo natural previo al inicio de liberaciones de *T. radiata*.

MICHOACAN ARCO 1			
Muestreo inicial Noviembre 2013			
Municipio	Localidad	Coordenadas	
Apatzingán	Apatzingán	19.08373 N	102.35367 O
Buenavista	Buenavista de Tomatlan	19.20809 N	102.58703 O
Tepalcatepec	Tepalcatepec	19.18333 N	102.85000 O
BAJA CALIFORNIA SUR ARCO 1			
Muestreo inicial Marzo 2014			
Municipio	Localidad	Coordenadas	
Comondú	Fernando de la Toba	25.23296 N	111.76149 O
Comondú	Nueva California	25.15616 N	111.76440 O
Comondú	Cuitláhuac	25.05535 N	111.70654 O
La Paz	La Paz (INIFAP)	25.00842 N	111.66658 O
SAN LUIS POTOSI ARCO 1			
Muestreo inicial junio 2014			
Municipio	Localidad	Coordenadas	
Tanquián	Tanquian	21.61221 N	98.66474 O
Tanquián	La Sagrada Familia	21.65676 N	98.66024 O
Tanquián	Buenavista	21.65217 N	98.64136 O



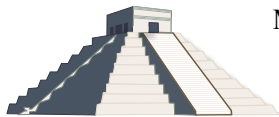


Figura 3.- Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en dos localidades dentro del ARCO Manzanillo, Colima en los años 2013 y 2014.

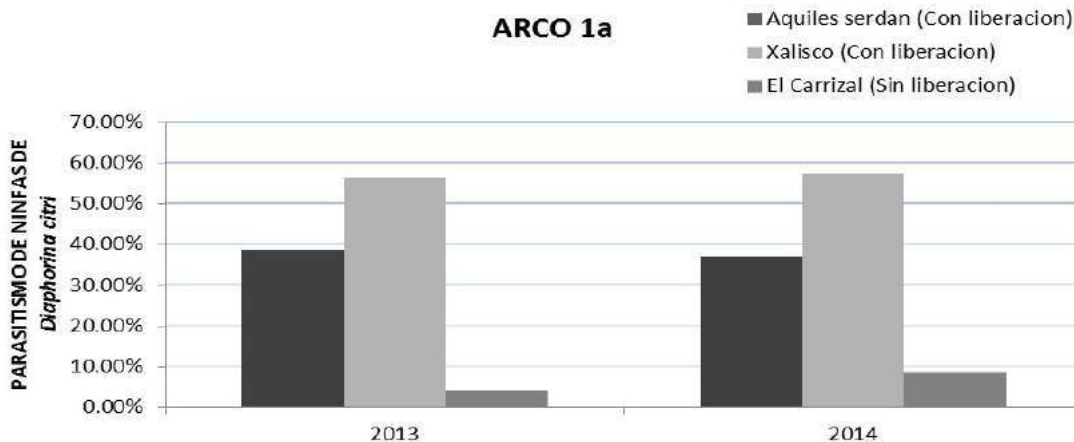


Figura 4.- Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en tres localidades dentro del ARCO 1a, Nayarit en los años 2013 y 2014

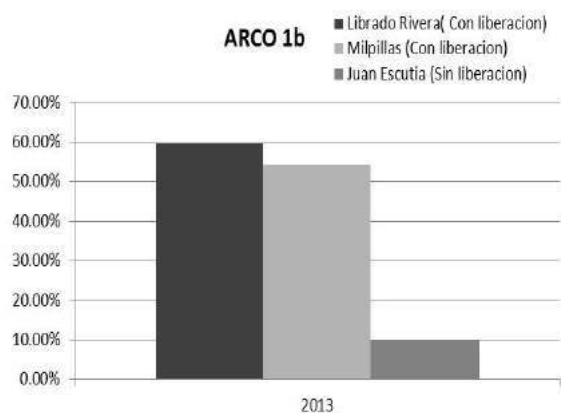


Figura 5. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en dos localidades del ARCO 1b, Nayarit 2013.

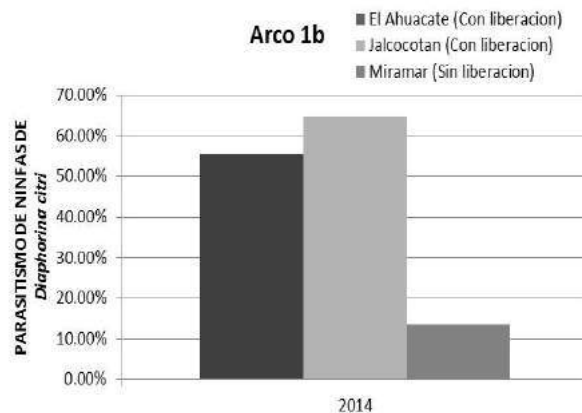


Figura 6. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en dos localidades del ARCO 1b, Nayarit 2014.

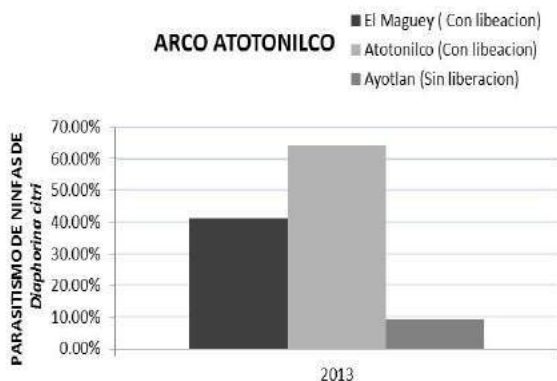


Figura 7. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en tres localidades del ARCO

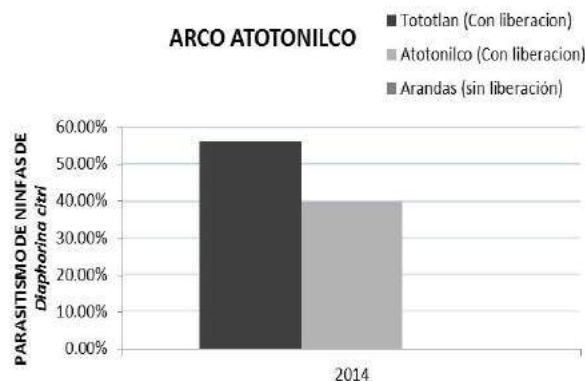
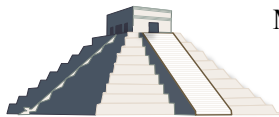


Figura 8. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en dos localidades del ARCO



Atotonilco el alto, Jalisco 2013.

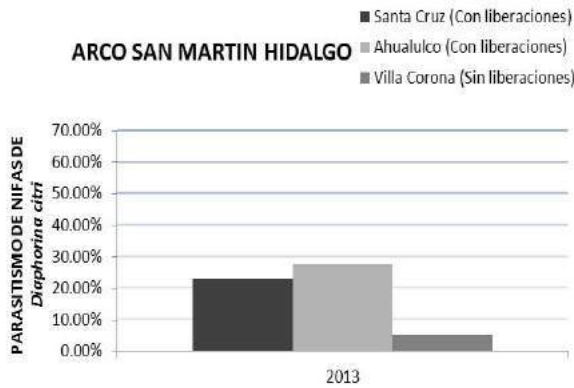


Figura 9. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en tres localidades del ARCO San Martin Hidalgo, Jalisco 2013.

Atotonilco el Alto, Jalisco 2014.

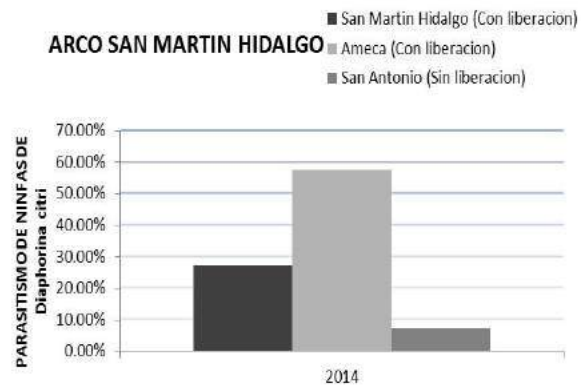


Figura 10. Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en tres localidades del ARCO San Martin Hidalgo, Jalisco 2014

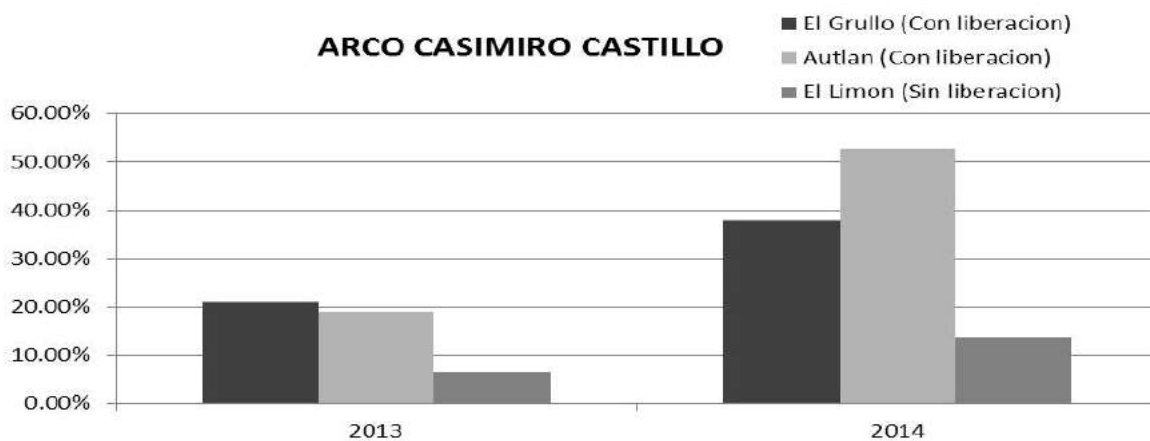


Fig. 11.- Comparación del porcentaje de parasitismo de ninfas de *D. citri* en tres localidades dentro del ARCO Casimiro Castillo, Jalisco en los años 2013 y 2014

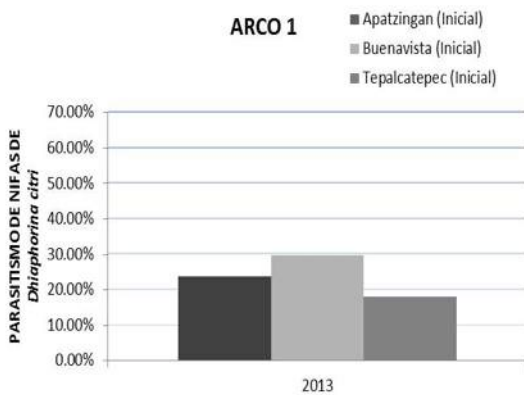


Figura 12. Parasitismo inicial de *D. citri* en el ARCO uno en tres localidades en Michoacán 2013.

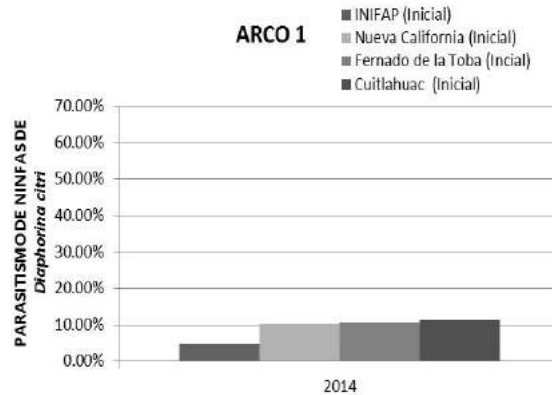


Figura 13. Parasitismo Inicial de *D. citri* en ARCO uno cuatro localidades en Baja California Sur 2014.

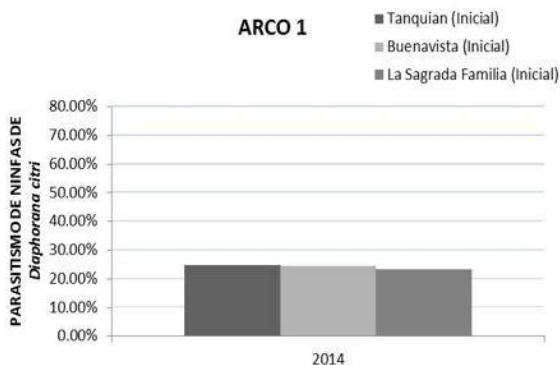


Figura 14. Parasitismo inicial de *D. citri* en el ARCO uno en tres localidades en San Luis potosí 2013.

Los resultados del muestreo 2014 coinciden con reportes anteriores (Moreno *et al* 2013) en relación a un parasitismo mayor en localidades con liberaciones del parasitoide. Los niveles de parasitismo natural en las localidades sin liberaciones del parasitoide coinciden con los que reporta Robles (2010) cercanos al 10% y con los obtenidos por Sánchez (2010) de un 30%. Se pretende continuar con este seguimiento y comparativo en el resto de los estados con la intención de contar con elementos que justifiquen el programa de liberaciones del parasitoide.

Conclusiones

Con los resultados obtenidos se concluye que las liberaciones del parasitoide *Tamarixia radiata* dentro del programa ARCO's coadyuvan en el control de *Diaphorina citri* en áreas urbanas, ya que se comprueba que el nivel de parasitismo de ninfas incrementa y permanece durante el tiempo recomendado entra cada liberación comparado con zonas donde no se realizan liberaciones del parasitoide.

Agradecimientos. A los Comités Estatales de Sanidad Vegetal de cada estado involucrado por el apoyo en la realización de este seguimiento.

Literatura citada

- Halbert, S. E. & Manjunath, K. L. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha:Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87: 330- 353.
- López-Arroyo, J.I., Peña M.A., Rocha Peña M.A., Y Loera J. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), pp. C68. En: Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih., Méx.
- Moreno C. G., Sánchez G. J. A. y Arredondo B. H. C. 2013, Avances en la Evaluación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en Áreas Urbanas de la Región Pacífico Centro de México, XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México, pp 341-346.
- Robles, G., M.M., Velázquez M., J.J., Orozco S.M., Manzanilla R., M.A., Flores V., R., Arredondo B., H., Archila M., A.B., Núñez C., M. C., Barba R., M., Reyes M., J.G. y Rodríguez A., J.I. 2010. Bioecología del Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón mexicano en colima. Resúmenes del VI Simposio Internacional Citrícola Tecomán, Colima. pp. 31-37.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2012, Protocolo para Establecer Áreas Regionales de Control del Huanglongbing y el psílido Asiático de los Cítricos, <http://www.senasica.gob.mx/?doc=9364>, Consultado 08 de septiembre de 2014.
- Sánchez, B.M. 2010., Biología, ecología y control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo., Texcoco, Edo. De México. P 48.
- Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2014., Huanglongbing de los Cítricos, <http://www.senasica.gob.mx/?id=4512>, consultado el 11 de agosto de 2014.
- Varela Fuentes S, Ramos-Pérez MM, Silva-Aguirre G, Segura-Martínez MT, Ramírez-Valdez T, Jerónimo-Isauro D. 2010. Manejo de Poblaciones de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) con insecticidas convencionales en naranjo Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) de Hidalgo, Tamaulipas, México. En: Cruz-Miranda SG, Tello-Flores J, Mendoza-Estrada A. Morales-Moreno A. Entomología Mexicana. México; 9: 630-634.



EVALUACIÓN DE HAPLOTIPOS DE *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN INVERNADERO.

Alejandro González-Hernández¹, Maricarmen Sánchez-Borja², Kenzy Iveeth Peña-Carrillo³, Hugo Cesar Arredondo-Bernal⁴, José Isabel López-Arroyo³, Roberto Mercado-Hernández¹, Hernán Guillen-Solis². ¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad s/n, San Nicolás de los Garza N.L. C.P. 66451. ²Laboratorio Regional de Producción Masiva de *Tamarixia radiata* del Sureste. SENASICA-DGSV-CNRCB. Calle 19 No. 43 por 26 y 28. Col Cd. Industrial. Mérida Yucatán C.P. 97288. ³Campo Experimental General Terán-INIFAP. Carretera Montemorelos-China km 31, Nuevo León, México C.P. 67400. ⁴Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Tecomán, Colima C.P. 28110. alejandro.gonzalezhd@uanl.edu.mx

Resumen. Los objetivos del estudio fueron dirigidos a: 1) Comparar el ciclo de vida en laboratorio de los haplotipo 1 y haplotipo 2 de *T. radiata* durante varias generaciones; 2) Determinar el grado de parasitismo; 3) Determinar Proporción sexual; y 4) Número de generaciones y días de desarrollo. Se recolectaron adultos de *T. radiata* de cuatro localidades de la Península de Yucatán para mantener a través de varias generaciones, pequeñas poblaciones en cajas de acrílico conteniendo dos plantas de limonaria con ninfas de *D. citri* de 3er y 4to estadio a 26° C y 65% HR. Los resultados sobre el desarrollo de las poblaciones mostraron una tendencia en el haplotipo 1 a desarrollar las generaciones en menor tiempo (en promedio 12 días) en comparación a un mayor tiempo requerido por el haplotipo 2 (en promedio 17 días). En cuanto al parasitismo de los haplotipos a través de las generaciones, se observó que el haplotipo 2 es frecuentemente mayor que el parasitismo del haplotipo 1, sin embargo, no se encontró diferencia estadística significativa. Los hallazgos de la presente investigación requieren ser re-evaluados; las tendencias existentes sugieren la posibilidad de mejorar sustancialmente el aprovechamiento del parasitoide en el programa de control biológico del vector del Huanglongbing en México

Palabras clave: Parasitoides, Parasitismo, *Diaphorina citri*,

Introducción.

Recolectas de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en México, durante el período de junio de 2006 a junio de 2012 han registrado la presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en áreas citricolas del país; también, es común encontrarlo en el mismo huésped sobre limonaria en áreas urbanas y suburbanas (Baeza 2008; González *et al.* 2009).

T. radiata es la única especie parasitoide de *D. citri* hasta ahora registrado en México, conformada por poblaciones locales morfológicamente diferentes y reconocida su variabilidad genética en cuatro o cinco haplotipos (Barr *et al.* 2009; DeLeón y Setamou 2010; González-Hernández *et al.* 2010, 2011; Peña-Carrillo *et al.* 2013). *T. radiata* se ha adaptando rápidamente en México para dispersarse actualmente en diferentes áreas ecológicas, desde la Península de Yucatán en el sureste hasta la Península de Baja California en el noroeste. Por lo tanto es posible



encontrar variabilidad genética y biotipos, los cuales podrían estar adaptados a áreas específicas o presentar características bioecológicas diferentes.

Un conocimiento más específico sobre diferentes atributos biológicos, de cría y comportamiento de los haplotipos de *T. radiata* permitirá el manejo óptimo de las poblaciones tanto en condiciones de cría masiva en invernadero, laboratorio, y campo, así como su liberación en áreas o regiones específicas. Características bioecológicas consideradas de importancia para el desempeño efectivo de un parasitoide tanto en condiciones de laboratorio como de campo (Van Lentern 2003) ya han sido observadas en *T. radiata* (Sánchez-González *et al.* 2011), como el tamaño y longevidad del parasitoide, número de generaciones, porcentaje de parasitismo, hospedero, capacidad de dispersión, capacidad de búsqueda, hábitos alimenticios, proporción sexual, entre otras. Por lo que los objetivos del estudio fueron dirigidos a: 1) Comparar el ciclo de vida en laboratorio de los haplotipos H1 y H2 de *T. radiata* durante varias generaciones; 2) Determinar el grado de parasitismo; 3) Determinar Proporción sexual; y 4) Número de generaciones y días de desarrollo.

Materiales y Métodos.

Obtención de material biológico. Se realizaron recolectas directas de ninfas de *D. citri* y adultos de *T. radiata*, en las localidades o áreas cercanas en la Península de Yucatán, donde se registró previamente la presencia del haplotipo 1 y haplotipo 2 de *T. radiata* (según nomenclatura de Barr *et al.* 2009), sobre plantas de cítricos y limonaria (Cuadro 1).

Cuadro 1. Localidades de recolecta de *Tamarixia radiata* y hospedantes en la Península de Yucatán.

Haplotipo	Localidad	Coordenadas	Planta hospedante
H1	Campeche, Tinum	N20 ⁰ 53'02.6"-W90 ⁰ 10'40.4"	limonaria
H1	Yucatán, Maní	N20 ⁰ 23'17.5"-W89 ⁰ 24'26.5"	naranja dulce y limonaria
H2	Yucatán, Telchac Pueblo	N21 ⁰ 12'12"-W89 ⁰ 16'13"	limón persa y limonaria
H2	Yucatán, Halacho	N20 ⁰ 29'22.8"-W90 ⁰ 04'39.4"	limonaria

Condiciones de cría y conservación en laboratorio. Los especímenes de *T. radiata* recolectados (generación F1) se colocaron dentro de una caja acrílica de cría (30x50 y 30 por 60 cm) que contenía dos plantas de limonaria con ninfas de *D. citri* de 3er-4to estadio en número variable (40-310). Las cajas se mantuvieron en una sala de extracción a 26° C y 65% HR. Al inicio de cada generación, en cada caja de cría (considerada población independiente) se registraron los siguientes datos: número de caja, fecha de inicio y término de cada generación, número de adultos y sexo de *T. radiata*, el número de ninfas de *D. citri*, el número de *T. radiata* emergidas y el porcentaje de parasitismo. Se mantuvo una proporción mayor de hembras que machos del parasitoide (3:1). Después del período de parasitación (4-6 días), se retiraron los especímenes muertos y se preservaron en alcohol etílico al 96%, para posteriormente determinar el haplotipo al que pertenecían. Después se observó un período de emergencia (de 6-10 días) de parasitoides durante el cual se registro el porcentaje de parasitismo obtenido en cada caja de cría por cada



generación. Los días de duración de cada una de éstas fueron registrados desde el momento de iniciar el período de parasitación (t1), hasta el momento de obtener todos los parasitoides adultos de las ninfas parasitadas (t2). A cada población (en cajas independientes) se le observó continuamente hasta completar varias generaciones, en este proceso se verificó que se mantuvieran los mismos haplotipos para así evitar la contaminación de especímenes.

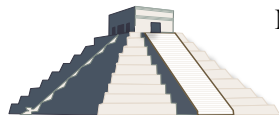
Análisis de datos. La determinación de los haplotipos de *T. radiata* fue obtenida con el marcador Citocromo Oxidasa I a través de la comparación de secuencias del ADNm de individuos en cada generación con respecto a secuencias registradas en el Genbank, además de realizar un análisis filogenético de individuos obtenidos en todas las generaciones, se determinaron sus relaciones con Neighbor Joining. El porcentaje de parasitismo fue determinado como:

% Parasitismo= número de individuos de *T. radiata* emergidos/número de ninfas de *D. citri* X 100).

Los días de desarrollo de una generación, fueron determinados del momento en que son liberados los individuos paternos en una caja de cría y el momento de emergencia completa de la progenie (t1 y t2). La proporción sexual es determinada por la proporción de machos en una muestra, donde PS= número de machos/(el número de machos + el número de hembras).

Resultados y Discusión.

De un total de 12 poblaciones observadas de *Tamarixia radiata* del haplotipo 1 se obtuvieron cinco generaciones durante el período del 30 de octubre del 2013 al 7 de febrero del 2014. En el haplotipo 2 se observaron 96 poblaciones y se obtuvieron 12 generaciones en el periodo 30 de octubre de 2013 al 8 de mayo de 2014. Para comparar las poblaciones del haplotipo 1 y haplotipo 2 se observó igual número de éstas que coincidieron con el mismo número de generaciones desarrolladas durante el mismo período de tiempo como se muestra en el cuadro 2. En relación al desarrollo de las poblaciones se observó una tendencia en el haplotipo 1 a desarrollar las generaciones en menor tiempo (en promedio 12 días) en comparación a un mayor tiempo requerido por el haplotipo 2 (en promedio 17 días).



Cuadro 2. Porcentajes de Parasitismo de los Haplotipo 1 y Haplotipo 2 de *T. radiata* criados en laboratorio sobre ninfas de *D. citri*, durante cinco generaciones en el período de septiembre 30 de 2013 a febrero 7 de 2014.

Cajas de cría (Generación: Haplotipo)		<i>T. radiata</i> Hembras	<i>T. radiata</i> Machos	Proporción sexual M/[M+H]		Ninfas de <i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i> emergidos	% Parasitismo					
Haplotipo													
		H1	H2	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H1	H2		
C5 (F1:H1)	C12 (F1:H2)	4	4	6	6	0.6	0.6	50	70	9	26	18	37.14
C8 (F1:H1)	C13 (F1:H2)	7	7	3	8	0.3	0.53	80	60	23	19	28.75	31.66
C16 (F2:H1)	C14 (F2:H2)	10	3	8	1	0.4	0.25	80	60	30	24	37.5	40
C29 (F3:H1)	C26 (F3:H2)	11	8	9	8	0.45	0.5	110	100	21	20	19.09	20
C34 (F3:H1)	C27 (F3:H2)	13	10	5	17	0.27	0.63	80	110	19	23	23.75	20.91
C36 (F3:H1)	C42 (F3:H2)	14	12	3	2	0.18	0.14	90	110	15	18	16.67	16.36
C38 (F3:H1)	C43 (F3:H2)	15	14	3	2	0.17	0.13	60	70	15	9	25	12.86
C53 (F3:H1)	C47 (F3:H2)	8	9	2	1	0.2	0.1	90	60	30	15	33.33	25
C61 (F5:H1)	C65 (F5:H2)	10	9	5	10	0.33	0.53	70	60	15	19	35.71	31.67
C70 (F5:H1)	C68 (F5:H2)	6	9	3	7	0.33	0.44	90	80	24	28	26.67	35
C73 (F6:H1)	C104 (F6:H2)	10	10	5	8	0.33	0.44	80	155	13	43	16	27.7
C102 (F6:H1)	C108 (F6:H2)	18	15	28	10	0.58	0.4	84	180	8	143	9.5	79.4

Al comparar el parasitismo de los haplotipos a través de las generaciones, se observó que el haplotipo 2 es frecuentemente mayor que el parasitismo del haplotipo 1, sin embargo, no se encontró diferencia estadística significativa, por lo que resulta necesario realizar la observación con un mayor número de poblaciones y generaciones. No obstante se observó que el parasitismo del H2 tiende a ser muy variable en el rango de niveles de 13% a 79% a diferencia del parasitismo del H1 el cual se mostró menor variación con el rango de parasitismo en niveles de 10% a 38%. Al parecer, los porcentajes de parasitismo observado en el haplotipo 1 son relativamente bajos en comparación al parasitismo alto registrado en el haplotipo 2, el cual se ha logrado obtener en condiciones de laboratorio hasta del 100 % (Sánchez-González *et al.* 2011). En el presente estudio se encontró estadísticamente significativa la relación del número de ninfas parasitadas por el haplotipo 2, tendencia explicada por el modelo lineal de la ecuación de regresión: Parasitismo = 31.73 + 0.041 (No. de hembras) (P<0.00001).

En el haplotipo 2 se logró el registro de 96 poblaciones con observaciones sobre el porcentaje de parasitismo en relación al número de hembras y su impacto sobre cada generación. Se aprecia en la figura 1 que las primeras dos generaciones mostraron un nivel de parasitismo aparentemente constante, para registrar en las siguientes tres generaciones una reducción en la variabilidad estadísticamente no significativa y posteriormente, a partir de la sexta generación, incrementar notablemente la variabilidad con niveles muy bajos de parasitismo y porcentajes altos que



alcanzaron 78%. Es de interés notar los parasitismos obtenidos en las primeras cinco generaciones, los cuales corresponden a poblaciones desarrolladas durante el período del 30 de octubre al 15 de diciembre de 2013; las siguientes siete generaciones se desarrollaron del 21 de enero al 8 de mayo del 2014. Posiblemente los cambios en la duración del fotoperíodo natural que ocurre en ese período del año entre otros factores influyeron en la obtención de estos resultados. Los hallazgos de la presente investigación requieren ser re-evaluados; las tendencias existentes sugieren la posibilidad de mejorar sustancialmente el aprovechamiento del parasitoide en el programa de control biológico del vector del Huanglongbing en México.

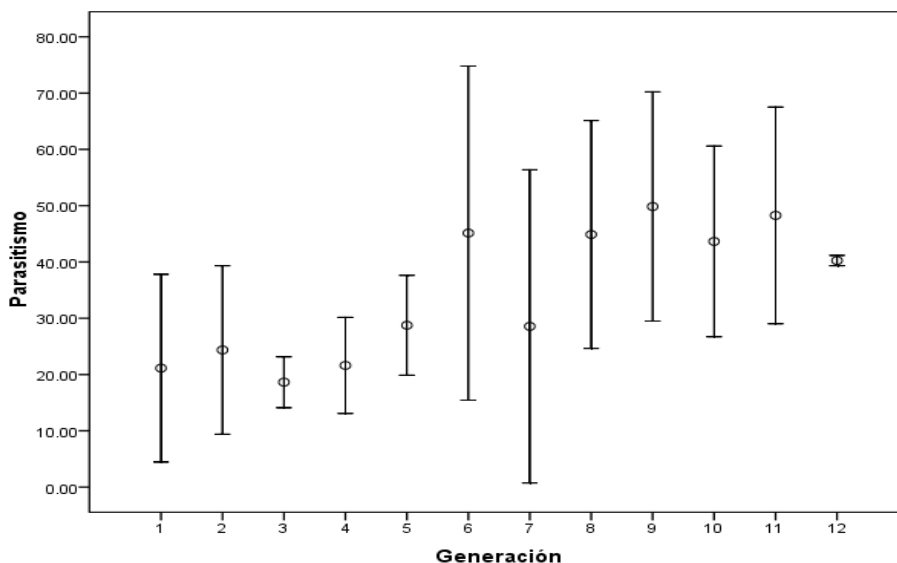


Figura 1. Porcentaje de parasitismo a través de 12 generaciones del haplotipo 2.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado en parte por los proyectos SEP-PROMEP 103.5/13/5260 y el proyecto FONSEC SAGARPA-CONACYT número 2009-108591 y al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria que a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal y del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, permitieron realizar este trabajo de investigación y a todo el personal que en el labora.

Literatura Citada

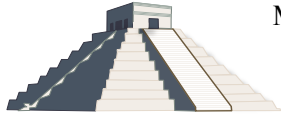
- Baeza-Nahed U. 2008. Parasitoides del minador de la hoja de los cítricos y del psílido asiático en la costa de Oaxaca., Instituto Politécnico Nacional, Tesis de Maestría, Oaxaca, México. Pp. 69.
- Barr, N.B., D.G. Hall, A.A. Weathersbee, R. Nguyen, P. Stansly, J.A. Qureshi, & D. Flores. 2009. Comparison of laboratory colonies and field population of *Tamarixia radiata*, an ectoparasitoid of the Asian citrus psyllid, using ITS and COI DNA sequences. J. Econ. Entomol. 102(6): 2325-2332.
- De León, J. H. & M. Setamou. 2010. Molecular evidence suggests that populations of the Asian citrus psyllid parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) from Texas, Florida, and Mexico represent a single species. Ann. Entomol. Soc. Am. 103(1):100-110.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- González-Hernández, A., H.C. Arredondo-Bernal, M. Robles-González, J.L. Martínez-Carrillo, J. Pérez y J.I. López-Arroyo. 2009. Determinación de especies de parasitoides del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en México. *Entomol. Mex.* 8:373-377.
- González-Hernández, A., J. Jasso-Argumedo, R. Cruz-García, M. Lozano-Contreras, J.I. López-Arroyo y O.K.Villanueva-Segura. 2010. Determinación de parasitoides y caracterización de haplotipos de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), en *Diaphorina citri* en la Península de Yucatán, México, pp. 259-267 En: López-Arroyo, J. I.; González-Lauck, V. W. (Comp.). *Memorias del 1er Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México.* Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 978-607-425-472-3.
- Lenteren, J.C. van. 2003. Need for Quality Control of Mass-produced Biological Control Agents. *In*: Lenteren, J.C. van (ed.). *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures.* CABI Publishing, Cambridge, UK, pp.1-18.,
- Peña-Carrillo, K.I., A. González-Hernández, J.I. López-Arroyo y S. Varela-Fuentes. 2014. Haplotipos del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en los cítricos del estado de Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(4): 661-672
- Sánchez-González, J.A., M. Sánchez-Borja, y H.C. Arredondo-Bernal. 2011. Cría Masiva, Liberación y Evaluación en Campo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), pp. 339-344. En: López Arroyo, J.I., González Lauck, V.W.(Comp.). *Memoria: 2º Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México.* Montecillo, Edo. de México, México del 5 y 6 de diciembre, 2011. Centro Regional de Investigación del Noreste (CIRNE), Campo Experimental General Terán. CD-ROM. Memoria Científica. ISBN 978-607-425-680-2. 424p.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



BIOLOGÍA MOLECULAR, BIOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA GENÉTICA



EFFECTO DEL MAIZ GENETICAMENTE MODIFICADO SOBRE LA CHINCHE PIRATA *Orius insidiosus* (HEMIPTERA: ANTHOCORIDAE)

Agustín Hernández-Juárez^{*2}, Luis A. Aguirre-Uribe¹, Gustavo A. Frías-Treviño¹, Mariano Flores-Dávila¹, Jerónimo Landeros-Flores¹, Ernesto Cerna-Chávez¹, Profesor-Investigador¹. Estudiante de doctorado². Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. *chinoahj14@hotmail.com.

Resumen. Se evaluó el efecto del maíz genéticamente modificado (GM) sobre *Orius insidiosus*, y se comparó con maíz convencional con la aplicación del insecticida y maíz convencional sin control de plagas. Se realizaron inspecciones visuales y se determinó la abundancia, frecuencia y curva de fluctuación poblacional de la chinche pirata. Se encontró una mayor abundancia de la chinche en el maíz GM; probablemente debido a que estas plantas presentan un menor daño por insectos plaga, mientras que se encontró un menor número de chinches en el maíz convencional sin control de plagas, la cual está influenciada por el daño foliar provocado por el gusano cogollero en este híbrido, así como también la población en el híbrido tratado con insecticida también fue menor, indicando que este control afecta la población de chinches. Este estudio sugiere que el maíz genéticamente modificado no tiene un efecto negativo en la población de *O. insidiosus*.

Palabras clave: Abundancia, *Bacillus thuringiensis*, depredador, no blanco, transgénico.

Introducción

Actualmente a nivel mundial el cultivo con mayor adopción biotecnológica es el maíz, con el mayor número de eventos GM aprobados para su siembra, en nuestro país desde el 2009 a la fecha, hay aprobados 45 eventos con resistencia a insectos para su liberación en fase de experimentación y/o piloto (ISAAA, 2014). Este maíz fue modificado genéticamente con la inserción de genes específicos para expresar continuamente la proteína Cry de *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae) (Bruck *et al.* 2006) con actividad insecticida para el control de insectos plaga de importancia económica, principalmente del Orden Lepidoptera y Coleoptera (Buntin *et al.* 2004a; Buntin *et al.* 2004b; Buntin, 2008; Duan *et al.* 2008; Hardke *et al.* 2011).

Estos cultivos, considerados como una alternativa de manejo de plagas en la agricultura moderna (Fernandes *et al.* 2007), en México han despertado mucho interés y controversia en el área científica, académica y en la sociedad en general, ya que la siembra generalizada de estos cultivos y el aumento en su aplicación, presentan un riesgo para la comunidad de enemigos naturales (Dively y Rose 2002) que frecuentemente juegan un rol importante en la regulación de plagas y se les considera de gran valor económico, como es el caso de los depredadores (Dutton *et al.* 2003), como *Orius insidiosus* Say, 1832 (Hemiptera: Anthocoridae) depredador importante de un amplio número de artrópodos presa, como trips, ninfas de mosca blanca, minadores, larvas pequeñas de lepidópteros, pulgones, ácaros y otros insectos pequeños (Bahena 2008).



La mayoría de ellos entran en contacto con la proteína Cry al consumir partes de la planta directa o indirectamente en las cadenas tróficas quedando expuestos a la acción tóxica, a pesar de que la proteína expresada posee una alta especificidad para algunos lepidópteros y coleópteros objetivo (Groot y Dicke 2002).

Ya se han discutido los impactos ecológicos no deseados de los cultivos Bt (Al-Deeb y Wilde 2003; Pilcher 2005; Bruck *et al.* 2006; Fernandes *et al.* 2007; Hussein *et al.* 2012) y aún existe preocupación con respecto a los efectos negativos sobre los componentes de la cadena trófica y deben de ser considerados durante la evaluación de riesgos futuros para garantizar que no causen perjuicios no deseados.

Bajo este contexto, esta investigación tuvo por objetivo evaluar el efecto del maíz GM que expresa las toxinas de *B. thuringiensis* sobre *Orius insidiosus* en Culiacán, Sinaloa; México.

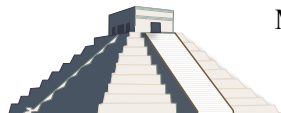
Materiales y métodos

La investigación fue conducida en suelos comerciales para la producción de maíz en la localidad de Oso Viejo, Culiacán, Sinaloa. Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó el híbrido de maíz GM con el evento Agrisure® Viptera™ 3111 que expresa las toxinas Cry1Ab de *B. thuringiensis* var. Kurstaki, la proteína insecticida vegetativa Vip3Aa20 (variante de VIP3Aa) de *B. thuringiensis* y la toxina mCry3A de *B. thuringiensis* subespecie *tenebrionis* que le confieren resistencia a insectos como *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1974 (Lepidoptera: Pyralidae), *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797; *Heliothis virescens* Fabricius, 1777; *Helicoverpa zea* Boddie 1850 (Lepidoptera: Noctuidae) y *Diabrotica spp.* Chevrolat in Dejean, 1836 (Coleoptera: Chrysomelidae) y su respectiva línea convencional sin contener la proteína de Bt (solíneas); materiales proporcionados por Syngenta Agro de México S.A. de C.V.

El estudio se realizó bajo un diseño en bloques completamente al azar con tres tratamientos y cuatro repeticiones, cada tratamiento con 10 surcos de 5 m lineales y un espacio entre surcos de 0.8 m, a una densidad de siembra de 34 plantas por surco. Los tratamientos consistieron del material Bt, su híbrido convencional sin control (testigo absoluto) y se complementaron con un híbrido convencional con control de insectos con Benzoato de emamectina (dirigido a *S. frugiperda*) bajo un umbral de infestación del 10 % en plantas menores a los 20 cm y 20 % en plantas mayores de 20 cm, basado en las solíneas, a razón de dos aplicaciones durante el ciclo del cultivo.

Muestreo de Insectos. Se realizaron inspecciones visuales quincenalmente, tomando al azar 10 plantas y examinándolas minuciosamente desde la base de la planta hasta la espiga. La especie identificada fue contabilizada y registrada para su análisis y determinar su abundancia, frecuencia y curva de fluctuación.

Análisis de Datos. Los datos del número (abundancia) de *O. insidiosus* en cada material evaluado se analizó mediante estadística no paramétrica con la prueba de Kruskal-Wallis, utilizando el



paquete estadístico SAS (SAS Institute 2002), con el objetivo de observar cambios en la poblacional del insecto.

Resultados y discusión

La evaluación de la población de *O. insidiosus* permitió contabilizar durante un ciclo de cultivo un total de 873 insectos entre los híbridos de maíz evaluados, de los cuales el maíz genéticamente modificado contabilizó 369 artrópodos representando el 42.3 %, el maíz convencional con manejo de insectos con insecticida presentó una abundancia de 218 artrópodos representando el 24.9 % y el híbrido convencional sin manejo de insectos (testigo absoluto) presentó una abundancia de 286 artrópodos (32.8 %), con una frecuencia del 80 % durante el desarrollo del cultivo en las parcelas de maíz Genéticamente modificado y en su convencional sin manejo de insectos y una frecuencia del 100 % en la parcela con tratamiento químico, con dos picos poblacionales, uno antes y otro después de la polinización, encontrando que las poblaciones de artrópodos no son estadísticamente diferentes entre materiales evaluados ($P \geq 0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Abundancia de *Orius insidiosus* en parcelas de maíz

Material Genético/Tratamiento	Abundancia	Media poblacional	gl	$P \geq 0.05$
Agrisure® Viptera™ 3111	369	73.8	2	
Convencional + CP	218	43.6	2	0.820
Convencional Absoluto	286	57.2	2	

CP= Control de plagas; gl=Grados de libertad

La fluctuación poblacional de *O. insidiosus* presentó una tendencia similar en los tres materiales de maíz evaluados, iniciando con una población base en función de la densidad de población de los fitófagos presa disponibles, que al inicio del cultivo generalmente también es baja, con un posterior incremento hasta llegar a un pico poblacional antes y otro después de la floración en función a su ciclo de vida, el cual generalmente está sincronizado con especies de fitófagos que sirven de alimento a esta especie y así hasta decrecer la población junto con el desarrollo del cultivo, hasta la etapa de rendimiento, próximo a ser cosechado (Fig. 1).

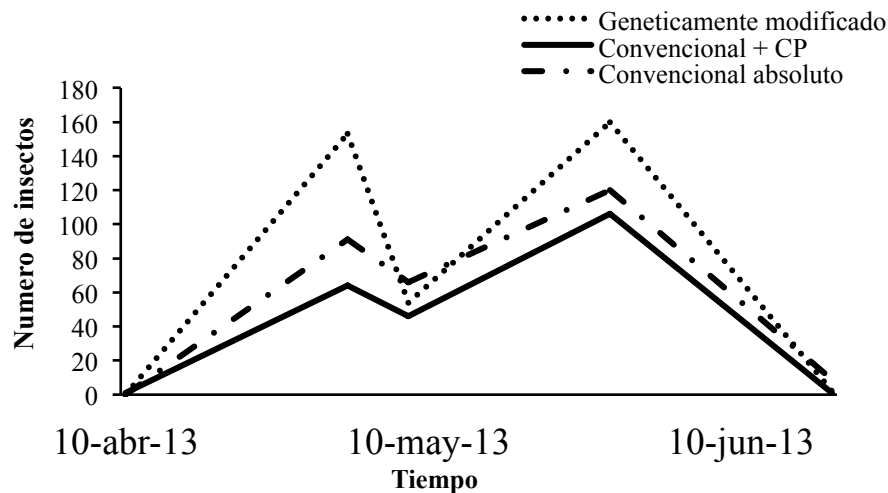


Fig.1. Fluctuación poblacional de *Orius insidiosus* en parcelas de maíz genéticamente modificado y su convencional con y sin control de plagas (CP) con insecticida.

De acuerdo a los datos observados en cada parcela, el maíz genéticamente modificado presentó el mayor número de insectos, híbrido que no presentó daño foliar por *S. frugiperda*, brindando una mayor disponibilidad de recursos alimenticios y de protección para otros fitófagos no blanco de la tecnología Bt, y atrayendo a sus enemigos naturales equilibrando la comunidad trófica; al respecto Rose y Dively (2007) mencionan que el aumento constante en el número de artrópodos que viven en las plantas se produce en función de la biomasa vegetal, y la diversidad estructural provee más nichos y recursos para su hábitat.

El híbrido convencional con control de insectos presenta la menor densidad poblacional respecto al maíz genéticamente modificado y el convencional sin manejo de insectos (cuadro 1, Fig.1), sugiriendo que el control químico con Benzoato de emamectina afectó gravemente la abundancia de la chinche pirata, no permitiéndole autorregularse adecuadamente, ocasionando una disrupción en el patrón natural de su población. Mientras que el híbrido convencional absoluto presentó un decrecimiento en la densidad poblacional, la cual está influenciada por el daño foliar provocado por el gusano cogollero en este híbrido, provocando una menor disponibilidad de recursos para otros fitófagos, y disminuyendo así la abundancia de presas para este depredador.

Los resultados encontrados reflejan que el maíz GM que expresa las toxinas de *Bacillus thuringiensis* no tiene un efecto negativo en la abundancia, ni en los cambios en la densidad de población de *Orius insidiosus*, los cuales son propios de su ciclo de vida y de la disponibilidad de alimento, concordando con lo obtenido por Al-Deeb y Wilde (2003), en un estudio realizado con maíz Bt (Cry3Bb1) en Kansas, donde no encontraron diferencias en el número de *O. insidiosus*, llegando a concluir que el maíz Bt no tiene efectos nocivos sobre los artrópodos benéficos.

De la Poza *et al.* (2005), en España, durante más de 3 años de evaluar el impacto del maíz que expresa la toxina Cry1Ac sobre la abundancia de depredadores, mediante trampas Pitfall y



observaciones visuales encontraron a Anthocoridae con mayor representación y dejaron en claro que no hay tendencia de un efecto negativo del maíz Bt, sugiriendo que este maíz es compatible con los depredadores naturales del agroecosistema. Pilcher *et al.* (2005) durante tres años en Iowa encontraron pocas diferencias en la abundancia de *O. insidiosus* entre maíz Bt que expresa la toxina Cry1Ab y convencional, concluyendo que los efectos del maíz Bt sobre este enemigo natural no fue inesperado, dado el comportamiento de forrajeo y búsqueda de diferentes presas. A su vez, Ahmad *et al.* (2006), mediante estudios de campo con maíz Bt que expresa la proteína Cry3Bb1 en Kansas en 2002 y 2003, no encontraron diferencias significativas en la abundancia de *O. insidiosus* entre el maíz Bt y convencional. Mientras tanto, en un estudio realizado por Fernandes *et al.* (2007) en Brasil, no encontraron un efecto negativo en poblaciones de depredadores en maíz Bt que expresa las proteínas Cry1Ab y VIP3A y sus híbridos convencionales, concluyendo que la tecnología Bt no causa una reducción en los principales depredadores asociados al maíz.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la compañía Syngenta Agro S.A de C.V. por haber proporcionado el material genético para la presente investigación.

Literatura Citada

- Ahmad, A., Wilde, G. E., Whitworth, R. J., and Zolnerowich, G. 2006. Effect of corn hybrids expressing the coleopteran-specific Cry3Bb1 protein for corn rootworm control on aboveground insect predators. *J. Econ. Entomol.* 99(4):1085-1095.
- Al-Deeb, M. A. and G. E. Wilde. 2003. Effect of Bt Corn Expressing the Cry3Bb1 Toxin for Corn Rootworm Control on Aboveground Nontarget Arthropods. *Environ. Entomol.* 32(5):1164-1170.
- Bahena, J. F. 2008. Enemigos Naturales de las Plagas Agrícolas. Del maíz y otros cultivos. Libro Técnico Núm. 5 SAGARPA-INIFAP. Uruapan, Michoacán, México. 180 Pág.
- Bruck, J. D., Lopez, M. D., Prasifka J. R. and R. D. Gunnarson. 2006. Effects of Transgenic *Bacillus thuringiensis* Corn and Permethrin on Nontarget Arthropods. *J. Agric. Urban Entomol.* 23(3): 111-124.
- Buntin, G. D. 2008. Corn expressing Cry1Ab or Cry1F endotoxin for fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) management in field corn for grain production. *Florida Entomologist* 91(4): 523-530.
- Buntin, G. D., J. N. All, R. D. Lee and D. M. Wilson. 2004a. Plant-Incorporated *Bacillus thuringiensis* resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Corn. *J. Econ. Entomol.* 97(5): 1603-1611.
- Buntin, G. D., K. L. Flanders and R. E. Lynch. 2004b. Assessment of Experimental Bt Events Against Fall Armyworm and Corn Earworm in Field Corn. *J. Econ. Entomol.* 97(2): 259-264.
- De la Poza, M., Pons, X., Farinós, G. P., López, C., Ortego, F., Eizaguirre, M., Castañera, P. and R. Albajes. Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Protection.* 24:677-684.
- Dively, G. P. and R. Rose. 2002. Effects of *Bt* transgenic and conventional insecticide control on the non-target natural enemy Community in sweet corn. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods. Forest Health Technology Enterprise Team. United States. 265-274 Pág.
- Duan, J. J., Teixeira, D., Huesing, J. E. and C. Jiang. 2008. Assessing the Risk to Nontarget Organisms from *Bt* Corn Resistant to Corn Rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae): Tier-I Testing with *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environ. Entomol.* 37(3): 838-844.
- Dutton, A., Romeis, J. and F. Bigler. 2003. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study. *BioControl.* 48:611-636.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Fernandes, O. A., Faria, M., Martinelli, S., Schmidt, F., Ferreira, C. V., e G. Moro. 2007. Short-term assessment of Bt maize on non-target arthropods in Brazil. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*. 64(3):249-255.
- Groot, A. T. and M. Dicke. 2002. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant Journal*. 31(4): 387-406
- Hardke, J. T., Leonard, B. R., Huang, F. and R. E. Jackson. 2011. Damage and survivorship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic field corn expressing *Bacillus thuringiensis* Cry proteins. *Crop Protection*. 30: 168-172.
- Hussein, M. H., Svobodová, Z., Habuštová, O., Půža, V. and F. Sehnal. 2012. Impact of genetically modified maize expressing Cry 3Bb1 on Some non-target arthropods. *Journal of Applied Sciences Research*. 8(10): 5124-5131.
- International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA). 2014. GM Approval Database. ISAAA: Ithaca, NY. In <http://www.isaaa.org>. Consulta 14 de Julio de 2014.
- Pilcher, C. D. Rice, M. E. and J. J. Obrycki. 2005. Impact of Transgenic *Bacillus thuringiensis* Corn and Crop Phenology on Five Nontarget Arthropods. *Environ. Entomol.* 34(5): 1302-1316.
- S.A.S. Institute. 2002. The SAS System for Windows, Release 9.0. SAS, Institute, Cary N. C. U.S.A.



EFFECTO DE LA INOCULACION DE *Trichoderma* CEPA ICA-4, EN LA PRODUCCION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y ENZIMAS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ALGODÓN TRANSGENICO EN EL VALLE DE MEXICALI, BC.

González-Soto Tania Elisa¹, Sánchez- Estrada A², Troncoso-Rojas R², García-Gerardo J¹, González-Mendoza D^{*1}. ¹Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California (ICA-UABC). Carretera a Delta s/n C.P. 21705, Ejido Nuevo León, Baja California, México. ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, Carretera a La Victoria km. 0.6, Hermosillo, Sonora 83000, Méxicodaniasaf@gmail.com

Resumen. El cultivo de algodón transgénico en el Valle de Mexicali se ha visto afectada por hongos patógenos como *Fusarium*, en los cuales se ha visto que los exudados de las raíces pueden promover la quimiotaxis del patógeno causando la enfermedad, por lo que se han buscado alternativas biotecnológicas para su control. Entre las alternativas biológicas se tiene el uso de biofungicidas a base de cepas nativas hongos benéficos como *Trichoderma*. Actualmente, en el valle de Mexicali no existen datos disponibles sobre el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* en la inducción de resistencia sistémica en plantas de algodón transgénico en condiciones de campo. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la actividad las enzimas peroxidasa y fenil amonia-liasa (PAL) y la producción de fenoles y flavonoides en algodón transgénico a los tres meses después de la siembra. Las muestras se obtuvieron de predios sembrados con semillas de algodón previamente inoculadas con 1×10^6 esporas de *Trichoderma* cepa ICA-4. Los resultados obtenidos se analizaron mediante pruebas de comparación de medias a un nivel de significancia de 0.05% en el paquete estadístico SAS. Los resultados mostraron diferencias significativas tanto en el contenido de fenoles con aproximadamente 10 mg de ácido gálico/g peso seco, y flavonoides con 355 mg de quercetina/gr de peso seco con respecto al testigo. Por otra parte la actividad de las enzimas peroxidasa y fenilalanina-amonia-liasa mostraron diferencias significativas de 6.83×10^{-5} mU/mg de proteína para peroxidasa, y de 0.018 mU/mg de proteína para PAL en comparación con las plantas testigo con 6.197×10^{-5} mU/mg de proteína para peroxidasa y 0.011 mU/mg de proteína para PAL. Finalmente estos resultados sugieren la inducción de una respuesta de resistencia sistémica inducida por la inoculación previa de las semillas con *Trichoderma* cepa ICA-4.

Palabras Claves: Ruta fenilpropanoide, Biocontrol, *Trichoderma*, enzimas de estrés oxidativo.



GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS RECOMBINANTES DE *Bacillus thuringiensis* QUE EXPRESEN LA PROTEÍNA Cry3A Y LA ENDOQUITINASA ChiA74Δsp

Celia Monserrat Luna-Castro, Arely Acevedo-Escamilla, Luz Edith Casados-Vázquez, J. Eleazar Barboza-Corona*. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. México. Ex Hacienda El Copal, Km. 9 Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500. Irapuato, Gto. monlu_46@hotmail.com, josebar@ugto.mx*

Resumen. *Bacillus thuringiensis* produce proteínas Cry y Cyt las cuales forman cristales con actividad tóxica contra insectos del orden de lepidópteros, coleópteros y dípteros. También produce otras proteínas como las quitinasas, que degradan la quitina presente en los insectos, particularmente aquella que conforma la membrana peritrófica, y pueden permitir el acceso directo de las δ -endotoxinas a los receptores presentes en las microvellosidades de las larvas. Dando como resultado que las quitinasas puedan actuar sinérgicamente con las proteínas Cry mejorando su actividad insecticida. Recientemente en nuestro laboratorio se obtuvo una quitinasa de *B. thuringiensis* sin el péptido señal (ChiA74Δsp), como resultado se obtuvo una proteína que forma cuerpos de inclusión con actividad de quitinasa en el interior de *B. thuringiensis* junto con los cristales Cry. Estos estudios han sido hechos en cepas tóxicas a lepidópteros, sin embargo hasta ahora no se han realizado en cepas tóxicas a coleópteros. Nuestro objetivo general está enfocado a estudiar el efecto potenciador de la quitinasa ChiA74Δsp sobre la proteína Cry3A de *B. thuringiensis*. Para realizar lo anterior, se realizaron 4 construcciones, las cuales fueron introducidas en una cepa acristalífera de *B. thuringiensis* 4Q7. La primera construcción contiene gen *chiA74* seguido de *cry3A*, ambos bajo el control de su promotor silvestre (4Q7/pEH*chiA74*Δsp-*cry3A*). La segunda construcción tiene el gen *chiA74* bajo el control del promotor silvestre seguido de *cry3A* bajo en control del sistema *pcyt*/STAB (4Q7/pEH*chiA74*Δsp-*cry3A*-*pcyt*/STAB). La tercer construcción contiene el gen *chiA74* bajo el control del sistema *pcyt*/STAB y el gen *cry3A* con su promotor nativo (4Q7/pEB*chiA74*Δsp-*cry3A*). La cuarta construcción contienen gen *chiA74* y el gen *cry3A*, ambos bajo en control del sistema *pcyt*/STAB (4Q7/pEB*chiA74*Δsp- *cry3A*-*pcyt*/STAB). En este trabajo mostraremos la caracterización de las cepas recombinantes. Se analizará el efecto de la expresión de la quitinasa sobre el tamaño de cristal, la esporulación y el efecto insecticida contra un coleóptero.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, coleópteros, quitinasas.



CARACTERIZACION MOLECULAR DEL HONGO *Trichoderma* spp EN LOS SISTEMAS AGROFORESTALES-CACAOTALES

¹Ursula del Carmen López-Ferrer, ¹David Morales-López, ¹Hortensia Brito-Vega, ¹Edmundo Gómez-Méndez, ¹Jose Manuel Salaya-Domínguez, ²Ignacio Eduardo Maldonado-Mendoza. ¹Division Académica de Ciencias Agropecuarias Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Km 25+2 de la carretera Villahermosa-Teapa, R/a La Huasteca 2ª. Sección del municipio del Centro, Tabasco, México. CP. 86000; 52+9933581500 ext 6004, ursulalopezferrer@hotmail.com. ²Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes, C. P. 81101, Guasave, Sinaloa, México. Tel/fax (+52) 6878729626 ext. 87618.

Resumen. Debido a la importancia económica que posee el hongo *Trichoderma* como biocontrolador y a las múltiples aplicaciones biotecnológicas, resulta fundamental conocer su diversidad genética y morfológica. El objetivo de esta investigación fue la identificación molecular de las especies del género *Trichoderma* spp. de los sistemas agroforestales-cacaotales del estado de Tabasco. Se tomaron cuatro muestras compuestas por municipio Cárdenas, Cunduacán y Comalcalco de estudio bajo sistemas agroforestales-cacaotales. Los aislamientos se realizaron en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) por el método de diluciones por triplicado y para la extracción del ácido desoxirribonucleico genómico (ADNg) se utilizó el método de DNazol; se amplificó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los primers *región espaciadora transcrita interna* (ITS-1 e ITS-4). Las amplificaciones fueron secuenciadas con ITS1 parcial 5.8S ribosomal y finalmente se realizó la construcción del árbol filogenético logrando la identificación molecular de cinco cepas de *Trichoderma* spp, las cuales fueron etiquetadas como 17T Comalcalco, 18T Comalcalco, 20T Comalcalco, 2T Cunduacán y 8T Cárdenas e identificadas como *T. harzianum* y *T. viridescens*, Todas obtenidas de la rizosfera de los sistemas agroforestales-cacaotales (*Theobroma cacao*).

Palabras claves: Filogenia, *T. harzianum*, *T. viridescens*, ADNg, ITS.

Introducción

El género *Trichoderma* spp., fue descrito por primera vez por Person (1974), quien clasificó dos especies (*Trichoderma viride* y *T. roseum*), la primera delimitación genética de *Trichoderma* spp., la realizó Hartz en 1871, quien enfatizó la importancia y las características microscópicas en la delimitación del género, especialmente por la presencia de fialides (Bisset, 1991). Actualmente para la identificación de las especies del género *Trichoderma* spp. Se han realizado técnicas de biología molecular. Tondje *et al.* (2007), identificaron *T. asperellum*, con los métodos moleculares RAPD (Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico) y UP-PCR (Primer Universal-Reacción en Cadena de la Polimerasa). Sánchez *et al.* (2012), reportaron la identificación de *Hypocrea crassa*/*T. crassum* mediante el análisis de la secuencia de *ITS1* (*región espaciadora transcrita interna*) y *tefl* (factor de elongación 1 alfa), los cuales amplificaron por PCR usando los primers ITS1 e ITS4 para el ITS y EF1-728F y TEF1 para el *tefl*. Dichos autores mencionan que existen pocas cepas reportadas *T. crassum* y solo se ha encontrado en América del Norte y América Central, por lo tanto a su conocimiento fue el primer



reporte de esta cepa para México. Hernández *et al.* (2013), identificaron, mediante técnicas moleculares de marcadores RAPD y rADN-ITS, especies pertenecientes a *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. atroviride*, *T. pseudokoninngii* y *T. longibrachiatum*. *Trichoderma* es uno de los agentes que se usa en los programas de control biológico como reguladores de fitopatógenos como; *Phytophthora* ssp., *Sclerotium cepivorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, y *Pythium* sp., (Tondje *et al*, 2007; Vinale *et al*, 2008; Guigon *et al*, 2010; Siameto, *et al*, 2011; Hernández *et al*, 2011; Sánchez *et al*, 2012; Hernández *et al*, 2013). Debido a la importancia económica que posee el biocontrolador *Trichoderma* y a las múltiples aplicaciones biotecnológicas, resulta fundamental conocer su diversidad. La actividad de *Trichoderma* ha sido atribuida a un efecto antimicrobiano directo sobre los patógenos, especialmente mediante el micoparasitismo y la antibiosis, por competencia por espacio y nutrientes, aunque también puede establecer asociaciones con las raíces de las plantas. Dichas asociaciones hongo-raíz, estimulan las respuestas de defensa de las especies vegetales, mecanismo de acción, que está relacionado, con su capacidad para sintetizar e inducir enzimas. Esto último, proporciona un nuevo instrumento para entender la respuesta de dichas plantas y puede ser usado para producir organismos mucho más eficaces en el biocontrol. No obstante, estos estudios deben ser precedidos por una identificación precisa de los aislamientos (Hernández *et al.*, 2013). El sitio donde *Trichoderma* se encuentra es la rizosfera y el interior de la planta, se ha reportado la presencia de algunas especies creciendo endofíticamente en cultivos de Cacao (*Theobroma cacao*) (Villamil *et al.*, 2012). El principal productor de cacao es el estado de Tabasco con 70% de producción total, y seguido del estado de Chiapas que produce 29%. En el estado de Tabasco los principales municipios productores son los siguientes: Comalcalco 4,797.87 ton, Cárdenas 4,522.09 ton, Cunduacán 3,819.09 ton, Huimanguillo 2,687.15 ton, Jalpa de Méndez 1,247 ton y Paraíso 665 ton (SIAP, 2014). Por lo anterior se planteó el siguiente objetivo de investigación que fue la identificación molecular de las especies del genero *Trichoderma* spp. De los sistemas agroforestales-cacaotales del estado de Tabasco.

Materiales y metodos

Características del área de estudio

El estado de Tabasco se localiza en el sureste de México, con 191 km de la costa del país, es decir, el 1,58%, colinda al norte con el golfo de México, al noreste con el estado de Campeche, al sureste con la República de Guatemala, al oeste con el estado de Veracruz y al sur con Chiapas. La superficie de su territorio ocupa una extensión cercana a los 25 000 km². Una de las Subregiones es la Chontalpa, es territorialmente hablando, la segunda en importancia de las que constituyen el estado, ocupa 7,482.13 km², es decir, el 31.34% del territorio tabasqueño; cuenta con 593,668 habitantes, de los cuales 241,168 pertenecen a la zona urbana y 352,500 a las rurales. Está conformada por tres municipios: Cunduacán, Cárdenas y Comalcalco con los sitios de muestreos.



Muestras

Se tomaron cuatro muestras compuestas por municipio de estudio, en cada sitio se tomaron 30 submuestras homogéneas al azar en zig-zag del horizonte, evitando las orillas y tomando la parte media de la plantación (0-30 cm de profundidad) y se homogeneizó para una muestra compuesta, (Cuadro 1) (NOM-021-SERMANAT-2000).

Aislamiento de cepas

Los aislamientos se realizaron en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) por el método de diluciones por triplicado, para ello se seleccionaron las colonias que presentaron las características morfológicas de *Trichoderma* spp, entre las que se destacan: la morfología, la forma, el color y el crecimiento de la colonia.

Análisis molecular

Para la extracción del ADN genómico se utilizó el método de DNAzol Genomic DNA Isolation Reagent (cat. No. DN 127, Molecular Research Center, Inc.) el cual se basa en el uso de una solución de lisis guanidina-detergente que hidroliza ARN y permite la precipitación selectiva de ADN a partir de un lisado celular. Y se cuantificó con un espectrofotómetro NanoDrop (2000c, Thermo Scientific). La *región espaciadora transcrita interna (ITS)*, se amplificó por PCR usando los cebadores ITS1 (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATAGC). El programa de amplificación consistió en los siguientes ciclos: 1 ciclo de 95°C por 4 min, 32 ciclos de 95°C por 1 min, 60°C por 1 min y 72°C por 2 min y un ciclo de 72°C por 5 min. Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en un sistema de amortiguamiento con buffer TAE 0.5% y corridos en geles de agarosa al 1% y teñidos con bromuro de etidio. Las amplificaciones fueron purificadas con el Kit QIAquick PCR Purificación (Cat.No. 28104, QIAGEN). Finalmente las amplificaciones fueron secuenciadas por la empresa Langebio del CINVESTAV en Irapuato México, las secuencias obtenidas fueron editadas con el Software Suite For Sequence Analysis DNASTAR Lasergene (versión 7.0), se realizaron búsquedas de homologías con el programa BLAST-N del NCBI (National Center for Biotechnology Information). El árbol filogenético se construyó usando 13 secuencias de diferentes especies del género *Trichoderma* y un grupo externo (outgroup). Con el software MEGA 6 (versión 6.06) se realizó el alineamiento y posteriormente se eliminaron los gaps, para después determinar el modelo con el algoritmo de Neighbor-Joining, como resultado dio K2+G (Kimura 2 parameter model + Gamma distributed) con 1000 de réplicas de Bootstrap, el cual se utilizó para realizar la construcción del árbol filogenético.

Resultados y discusión

Los aislamientos permitieron la identificación molecular de cinco cepas de *Trichoderma* ssp, las cuales fueron identificadas como 17T Comalcalco, 18T Comalcalco, 20T Comalcalco, 2T Cunduacán y 8T Cárdenas. Todas obtenidas de la rizosfera de los sistemas agroforestales-



cacaotales (*Theobroma cacao*). Los resultados de la herramienta “alignment” de BLAST-NCBI mostraron que las secuencias parciales 5.8S ribosomal *ITS1* de las cepas 17T Comalcalco, 18T Comalcalco, 20T Comalcalco, 2T Cunduacán y 8T Cárdenas, tuvieron una homología del 99 al 100% a especies como *Trichoderma harzianum*, y *T. viridescens*. Como outgroup se seleccionó *Glomerella magna* debido a que pertenece a la misma subclase (Hypocreomycetidae) que *Trichoderma* ssp. En la Figura 1 se presenta el árbol filogenético de las cepas de *Trichoderma* ssp. con *ITS1* parcial 5.8S ribosomal de los sistemas agroforestales-cacaotales. Como resultado la cepa 8T Cárdenas se ubicó en el clado de *T. viridescens* con una distancia de 59 y las cepas 2T Cunduacán, 18T Comalcalco, 20T Comalcalco y 17T Comalcalco en el clado de *T. harzianum* con una distancia de 84 y 62 respectivamente. La cepa 8T Cárdenas se encuentra en el clado de *T. viridescens* no tan cercana al grupo, donde se encuentran las demás cepas las cuales se ubicaron en el clado de *T. harzianum*. Se encuentra *T. viridescens* en un grupo de especies estrechamente relacionadas entre sí por la morfología de sus conidios subglobosos, distintivos de la especie *T. harzianum* conidios lisos. Las dos cepas son de importancia ya que funcionan como agentes biológicos de hongos fitopatógenos, *T. harzianum* ha sido aislada e identificadas en la rizosfera de plantas cultivadas de zonas neotropicales con una alta presencia de las otras especies de *Trichoderma*, mientras que *T. viridescens* ha sido localizada en zonas de Norte América (Jaklitsch *et al.* 2006; Hoyos *et al.*, 2009).

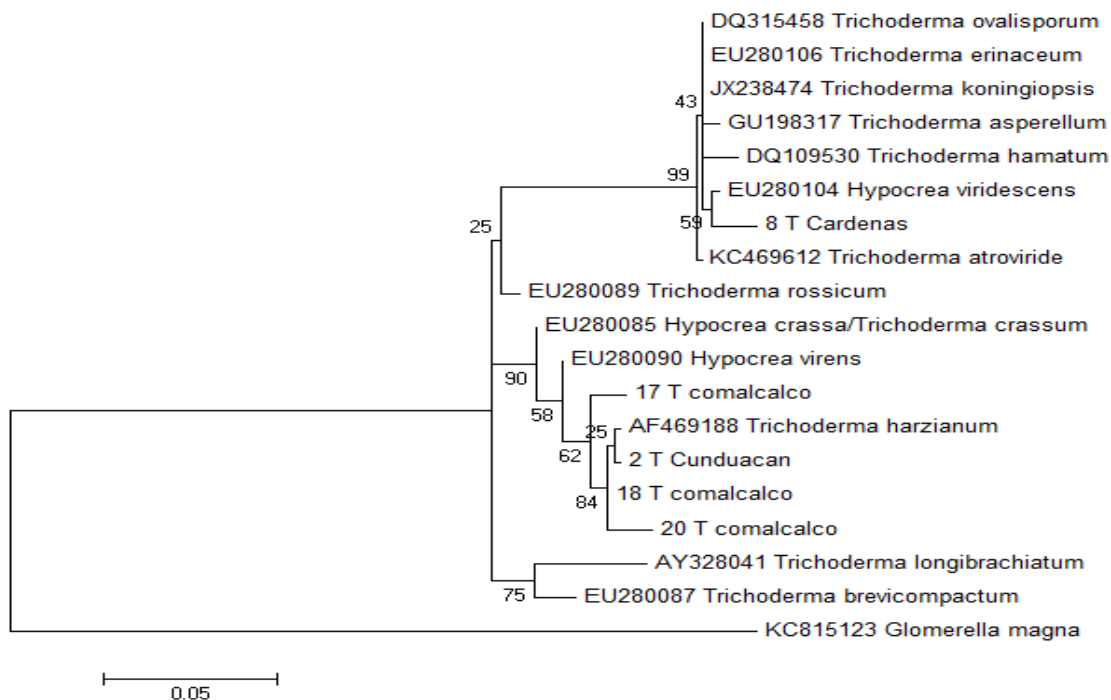


Figura 1. Árbol filogenético de las cepas de *Trichoderma* ssp. con el gen ITS parcial 5.8S ribosomal de los sistemas agroforestales-cacaotales



Conclusion

De las cinco cepas identificadas con *ITS1* parcial 5.8S ribosomal de *Trichoderma* ssp. cuatro (2T Cunduacán, 17T Comalcalco, 18T Comalcalco y 20T Comalcalco) corresponden a *T. harzianum* y 8T Cárdenas a *T. viridescens*, todas obtenidas de la rizosfera de los sistemas agroforestales-cacaotales del estado de Tabasco.

Agradecimientos

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco-División Académica de Ciencias Agropecuarias por el Financiamiento (PFI- UJAT-2012-IB-22). Al Dr. Ignacio E. Maldonado Mendoza por la aceptación de la estancia de verano científico y las facilidades dadas por el laboratorio de Ecología Molecular de la Rizosfera del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN).

Literatura citada

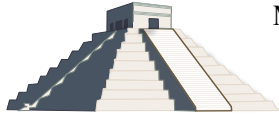
- Alpízar L., Fassbender H. W., Heuvelodop J., Fölster H., y Enríquez G. 1986. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao* L.) with laurel (*Cordia alliodora*) and poro (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. I. Inventory of organic matter and nutrients. *Agrofor. Syst.* 4: 175-189.
- Alvim, R., y Nair P.K.R. 1986. Combination of cocoa with other plantation crops. *Agrofor. Syst.* 4: 3-15.
- Bissett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma* spp., Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany*, 69: 2357-2372.
- Guigon L. C., Guerrero Prieto, V., Vargas Albores, F., Carvajal Millan, E., Ávila Quezada, G. D., Bravo Luna, L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. y Lorito, M. (2010). Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* ssp. Su tasa de crecimiento *in vitro* y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28:87-96.
- Hernández A., Jiménez M., Arcia A., Ulacio D., y Méndez N. 2013. Caracterización molecular de doce aislamientos de *Trichoderma* spp. Mediante RAPD y rADN-ITS. *Bioagro*, 25(3), 167-174.
- Hernández M. J. L., Sánchez Pérez, M. I., García Olivares, J. G., Pérez, N. M., González Prieto, J. M. y Quiroz Velásquez, J. C. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp nativos del noreste de México. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 8(2), 176-185.
- Hoyos, C. L., Orduz, S., y Bissett, J. 2009. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genetics and Biology*. 46: 615-631.
- Imbach A. C, Fassbender HW, Borel R, Beer JW, y Bonnemann A. 1989. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao* L.) with laurel (*Cordia alliodora*) and poro (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. IV: Water balances, nutrient inputs and leaching. *Agrofor. Syst.* 8: 267-287.
- Jaklitsch, M. W., Samuels, G. J., Dodd L.S., Bing Sheng L., y Druzhinina I. S. 2006. *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies In Mycology*, 55: 135-177.
- López B. O., Sandoval Gallardo A., y Soto R. J. 1988. Sistemas de producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la región del Soconusco, Chiapas, México. Folleto de Investigación. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. 73 pp.
- Norma Oficial Mexicana. 2000. Qué establece las especificaciones de Fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. NOM-021-RECNAT-2000. 2ª ed, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 89.
- Sánchez L. V., Martínez Bolaños, L., Zavala González, E. A. y Ramírez Lepe, M. 2012. Nuevos registros de *Trichoderma crassum* para México y su variación morfológica en diferentes ecosistemas. *Revista Mexicana de Micología*, 36: 17-26.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Siameto, E. N., Okoth, S., Amugune, N. O. y Chege, N. C. 2011. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma harzianum* from embu district, Kenya. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13: 81-90.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera). 2014. Producción del cultivo de cacao de los municipios del estado de Tabasco año 2012. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Tondje, P. R., Roberts, D. P., Bon, M. C., Widmer, T., Samuels, J. G., Ismaiel, A., Begoude, A.D., Tchana, T., Nyemb Tshomb, E., Ndoumbe Nkeng, M. Bateman, R., Fontem, D. y Hebbar, K. P. 2007. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. *Biological Control*, 43: 202-212.
- Villamil, C. J. E., Blanco Valbuena J. O., y Viteri R. S. E. 2012. In vitro evaluation of native microorganisms for their antagonism against *moniliophthora roreri* Cif & Par in cocoa (*Theobroma cacao* L.) *Rev. Fac. Agron. Medellin*, 65(1) 6305-6315.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L. y Lorito, M. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 1-10.



DEMANDAS ESPECÍFICAS DE OXÍGENO DE DISTINTOS ESTADIOS DE DESARROLLO DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO, *Steinernema carpocapsae* CABA01 (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE), EN CULTIVO SUMERGIDO

Norberto Chavarría-Hernández, Nalleli-Concepción Pérez-Pérez, Ma.-del-Rocío López-Cuellar, Apolonio Vargas-Torres, Adriana-Inés Rodríguez-Hernández, Cuerpo Académico de Biotecnología Agroalimentaria. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Av. Universidad km 1, Rancho Universitario, Tulancingo de Bravo, Hidalgo. CP 43600. MEXICO. norchavarría@gmail.com

Resumen. El uso de nematodos entomopatógenos (NEP) para el biocontrol de plagas es importante en diversos sistemas agrícolas, existiendo un repunte en la demanda de fases Infeccivas Juveniles (IJ) de NEPs en prácticamente todas las regiones agrícolas donde éstos han mostrado su eficacia, dadas las exigencias de los mercados más atractivos para los productores, como resultado de avances en investigaciones sobre inocuidad alimentaria y conservación del medio ambiente, lo cual ha impactado las políticas de comercialización. Para responder a las demandas de fases IJ de NEPs en el mercado, la tecnología de producción más promisoría es el cultivo sumergido en biorreactores. En este sentido, existen importantes avances tanto sobre producción de heterorhabdítidos como de steinernemátidos. De hecho, ya se cuentan establecidas algunas empresas que tienen montados estos procesos, tanto en México como en otros países, principalmente de Norteamérica y Europa. No obstante, aún existen áreas de oportunidad para fortalecer estos procesos, entre las cuales se destaca el mantenimiento de las condiciones de oxigenación más apropiadas para maximizar las productividades de fases IJ. Lamentablemente es prácticamente nula la información disponible sobre las demandas específicas de oxígeno (qO_2) de NEPs de interés comercial, así como de sus simbioses bacterianos, y cómo cambian éstas con el estado fisiológico y el tiempo durante el proceso de fermentación. En el presente trabajo se reportan datos de qO_2 de estadios de desarrollo del NEP *Steinernema carpocapsae* CABA01, creciendo en caldos de su simbiote, *Xenorhabdus nematophila*, previamente pasteurizados. El medio basal contiene (% p/v): caldo de soya tripticasa, 3, y extracto de levadura, 0.5. Las condiciones fueron: $V_L=125$ mL, $N=150$ rpm y $T=25^\circ\text{C}$. Los NEPs se desarrollaron desde huevos hasta adultos, exhibiendo valores de qO_2 de 1.92, 5.48, 0.48, 0.28 y 0.0014 (10^{-1} mmolO₂/(g_{NEP} h)) para los estadios huevo-J1, J2, J3, J4 y adultos, respectivamente.

Palabras clave. Nematodos entomopatógenos, cultivo in vitro, medios líquidos, respiración



DNA BARCODING EN INSECTOS ENTOMÓFAGOS: EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO

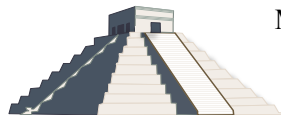
Alba Suaste-Dzul, Beatriz Rodríguez-Vélez, José M. Rodríguez-Vélez, Hugo Arredondo-Bernal, Adrien Gallou.
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV, Km. 1.5, carretera Tecomán-Estación
FFCC, Tepeyac, C.P. 28110. Tecomán, Colima, México. dgsv.cnrf3@senasica.gob.mx

Resumen. Una de las tareas obligatorias en todos los estudios moleculares tradicionales es la extracción de ADN genómico, y actualmente también para propuestas innovadoras como el “DNA barcoding” con aplicación en insectos entomófagos. Diversos métodos de extracción destructivos y no destructivos de ADN en insectos fueron desarrollados y comparados en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (LBM del CNRCB). Gran parte de esta evaluación se logró mediante la amplificación de secuencias genéticas cortas del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa C subunidad I (COI) y con el Fragment Analyzer™, instrumento automatizado de alta resolución en el control de calidad del ADN. De tal manera que, el empleo de un método eficiente para un tipo de muestra específica y necesidades del laboratorio, se hace cada día más demandante. En la Colección de Insectos Entomófagos (CIE) del CNRCB, existen ejemplares únicos de gran valor científico, así como especímenes de poco más de 20 años o que presentan un complejo críptico de especies, difícil de dilucidar solo con caracteres morfológicos. Por lo tanto, estas evaluaciones proporcionan una guía para la elección de métodos de extracción de ADN basadas en calidad, cantidad y eficiencia en la PCR.

Palabras clave: COI, Fragment Analyzer, DNA barcoding.

Introducción

La extracción de ADN es el primer paso en muchos estudios biológicos, incluyendo la identificación molecular, la inferencia filogenética, la genética y genómica de insectos (Chen *et al.*, 2010). Muchos de estos estudios requieren un largo número de muestras (cientos o en ocasiones miles) y la extracción de ADN puede llegar a ser un paso limitante en una investigación en términos de tiempo, dinero y acceso a equipos (Lagisz *et al.*, 2010). Por lo tanto, una variedad de métodos han sido establecidos para lograr el aislamiento del ADN a partir de materiales biológicos, así como muchos kits de extracción de ADN comercialmente disponibles. Es por esto que, la utilización de protocolos de extracción adecuados que permitan obtener la cantidad necesaria de ADN y la calidad adecuada son las bases del desarrollo de estas técnicas (Romero *et al.*, 2011). Mientras que la correcta identificación de especies es esencial para el desempeño de investigaciones ecológicas y evolutivas (Rowley *et al.*, 2007), el surgimiento de iniciativas como el “DNA barcoding” ha revolucionado éstas fuentes de información de caracteres. El objetivo del proyecto de “DNA barcoding” es el desarrollo de librerías de secuencias específicas a nivel especie del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa subunidad I (COI) como el método universal de clasificación taxonómica de la biodiversidad (Marshall, 2005; Ratnasingham y Hebert, 2007; Waugh, 2007). Ante esto, el Laboratorio de Biología Molecular



(LBM) y la Colección de Insectos Entomófagos (CIE) del CNRCB han iniciado la primera etapa para poner a la vanguardia la identificación de insectos entomófagos a través de la integración de datos moleculares y morfológicos.

Materiales y Métodos

Diversos ejemplares de insectos fueron donados por la CIE del CNRCB como muestras para estandarizar protocolos en el LBM del CNRCB, éstos pertenecen a los órdenes Diptera, Hymenoptera, Coleoptera y Neuroptera (Cuadro 1).

Cuadro 1. Lista de insectos entomófagos utilizados en este estudio.

Muestra	Orden/Familia	Especie	Año de colecta	Método de preservación
IE01	Diptera/Tephritidae	<i>Anastrepha ludens</i> (Loew, 1873)	1990	Montaje en alfiler
IE02	Coleoptera/Coccinellidae	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> (Mulsant, 1850)	Sin fecha*	Sin Montaje en seco
IE03	Hymenoptera/Vespidae	<i>Polistes exclamans</i> (Viereck, 1906)	Ene-2014	Etanol 70%
IE04	Hymenoptera/Pteromalidae	<i>Pteromalus cerealellae</i> (Ashmead, 1902)	2013	Etanol 70%
IE07	Neuroptera/Chrysopidae	<i>Ceraeochrysa valida</i> (Banks, 1895)	Jun-Ago 2014	En fresco
IE08	Hymenoptera/ Eulophidae	<i>Tamarixia radiata</i> (Waterston, 1922)	Jun-Ago 2014	En fresco

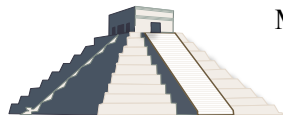
IE= Insecto Entomófago.

*No hay una fecha específica de recolecta de los insectos, el material se conservó en seco por años sin montaje.

Manejo y preservación de especímenes

El manejo de los especímenes de insectos se realizó para desarrollar los protocolos de extracción de ADN destructivos. Los cuerpos de los insectos fueron divididos en tres secciones con tres réplicas por sección: cabeza, alas y patas. Esto, con la finalidad de determinar el tejido óptimo para la extracción de ADN. Posteriormente, se pesó 0.5-1 mg del tejido en una balanza analítica (Discovery Ohaus®). Para el caso de las muestras IE04 e IE08, se utilizó el individuo completo con tres réplicas para cada análisis.

La preservación de especímenes se realizó únicamente para desarrollar el protocolo de extracción de ADN no destructivo. Se tomó tres individuos de cada muestra de insectos y se colocó en tubos de 2 mL con etanol 95% y fueron almacenados a 4°C de 4-5 meses hasta su empleo en la extracción por el método QIAGEN® modificado por González-Hernández (comunicación personal, 17 de diciembre, 2013).



Protocolos de extracción de ADN destructivos

El total de ADN fue extraído con 4 métodos diversos que involucran la destrucción parcial o total de especímenes con TissueLyser QIAGEN[®], dos consistieron en kits comerciales y dos métodos de tipo convencional.

1. Kit AxyPrep[™] Blood Genomic DNA Miniprep (Corning Axygen[®]).
2. Kit DNeasy[®] Blood & Tissue (QIAGEN[®], 2013).
3. Método CTAB con modificaciones (2% p/v Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), 100 Mm Tris-HCl pH 8.0, 20 Mm EDTA pH 8.0, 1.4 M NaCl, 1% p/v Polivinilpirrolidona (PVP-40), 0.2% v/v β -Mercaptoetanol) (Doyle y Doyle, 1990).
4. Método SDS con modificaciones (0.5% p/v Dodecilsulfato sódico (SDS), 200 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 Mm EDTA pH 8.0, 250 Mm NaCl) (Milligan, 1998).

El ADN de cada muestra se resuspendió en 30 μ L de buffer TE y se almacenó a -20°C hasta análisis posteriores.

Protocolo de extracción de ADN no destructivo

El protocolo DNeasy[®] Blood & Tissue de QIAGEN fue modificado y adaptado para extracción de ADN no destructivo en insectos: una vez desmontados los ejemplares se agregó 180 μ L de buffer ATL (o en dependencia del tamaño del insecto) y 20 μ L de Proteinasa K (20 mg/mL) incubándose a 56°C en termomixer sin agitación durante 36 h. Para insectos en etanol, éstos fueron transferidos en tubos nuevos de 2 mL con buffer ATL y Proteinasa K y se procedió como indica el protocolo. La CIE del CNRCB realizó imágenes de los insectos analizados previo y posterior a la extracción de ADN no destructivo.

Calidad y cantidad de ADN

Para comparar la eficiencia de los métodos de extracción de ADN, el rendimiento y pureza del ADN obtenido, se cuantificó en espectrofotómetro Epoch[™] (BioTek Instruments, Inc.) para la relación A260/280 que corresponde a la presencia de impurezas por proteínas. Además, a través del programa de análisis y reducción de datos Gen5[™] se realizaron lecturas espectrales en rangos de longitud de onda de 230 nm-320 nm para cada método. Por otro lado, como control de certificación de la información de la calidad y cantidad de los ADNs analizados, se utilizó el Fragment Analyzer[™] System (Advanced Analytical Technologies, Inc.) de 12 capilares cuya sensibilidad es de 50 pg/ μ L para pruebas de fragmentos con el método Genomic DNA High Sensitivity (Factor de dilución: 12), y para el análisis de datos se utilizó el programa PROSize[™].

Estrategia de optimización de la PCR

Las reacciones de PCR fueron desarrolladas en termociclador Veriti[®] 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems[®]) en volúmenes de 25 μ L. La mezcla de reacción contenía buffer 1X Colorless GoTaq[®] (5X, 7.5 mM Mg, pH 8.5) (Promega[®]), 0.2 mM dNTP mix (Promega[®]), 2 Mm



MgCl₂ (Promega[®]), 0.4 μM de cada oligo, 1U GoTaq[®] Polimerasa (5U/μL) (Promega[®]) y 5μL de ADN genómico. Para la amplificación del gen mitocondrial COI, se utilizó oligos de la región “DNA barcoding” universal COI de 710 pb (LCO1490/HCO2198) (Folmer *et al.*, 1994) y oligos universales para la amplificación de “Mini-barcoding” de 130 pb (Uni-MiniBarF1/Uni-MiniBarR1) (Meusnier *et al.*, 2008) con programa de termociclaje PCR-Touch up. Se incluyó un control positivo de ADN de un insecto del orden Dermaptera y un control negativo (sin ADN templado) en cada reacción de PCR.

Resultados

Protocolos de extracción ADN destructivos del tejido

Se obtuvo un total de 42 muestras de ADN genómico para cada método de extracción comercial (AxyPrep[™] y DNeasy[®]) de IE01, IE02, IE03 e IE07 correspondientes a las réplicas de patas, alas y cabeza, mientras que para IE04 e IE08 se utilizó insectos completos debido a su tamaño milimétrico. De igual manera para los métodos tradicionales con buffer CTAB y SDS se obtuvo 42 muestras de ADN de cada uno de éstos. A pesar que estos métodos implicaron mayor tiempo invertido por muestra, resultaron ser menos costosos que los kits comerciales. La comparación en tiempo, costo y color de la pastilla de ADN se enlista en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Estimación de tiempo y costo para extracción de ADN destructivos.

	AxyPrep [™]	DNeasy [®]	CTAB	SDS
Color de pastilla	N/A*	N/A*	Transparente-blanco	Amarillo-café claro
Tiempo (h)	2	1.8	8	8
Costo/muestra (MXN)	22.11	51.49	3.3	12.2

*N/A= No aplica. El ADN se une fuertemente a la membrana de sílice de la columna del kit de extracción hasta la elución.

Los rendimientos y purezas obtenidos de las muestras evaluadas en el parámetro de cuantificación de ácidos nucleicos por espectrofotometría se detallan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Promedio de concentración (ng/μL) y pureza (A260/280) por espectrofotometría para cuatro métodos destructivos.

	AxyPrep [™]		DNeasy [®]		CTAB		SDS	
	ng/μL	A260/280	ng/μL	A260/280	ng/μL	A260/280	ng/μL	A260/280
IE01-patas	1.49	1.3	3.94	1.63	5.41	1.55	12.55	1.31
IE01-alas	1.99	1.2	5.23	2.2	4.24	1.54	10.46	1.35
IE01-cabeza	0.37	1.05	8.53	1.85	9.52	1.77	16.51	1.48
IE02-patas	2.95	1.53	7.60	1.70	4.12	1.70	42.65	1.38
IE02-alas	2.39	1.54	7.25	1.73	3.41	1.61	13.12	1.3
IE02-cabeza	1.58	1.66	21.03	1.70	3.69	1.47	26.58	1.43
IE03-patas	1.64	1.58	10.09	1.83	41.45	1.87	11.04	1.51
IE03-alas	2.36	1.96	11.47	1.94	5.07	1.62	9.24	1.31
IE03-cabeza	1.26	1.70	89.50	1.96	31.07	1.86	8.57	1.3
IE04*	0.81	1.12	6.25	2.2	3.35	1.56	7.14	1.21
IE07-patas	1.77	1.51	8.71	1.92	25.69	1.86	17.75	1.38
IE07-alas	2.79	1.61	12.58	1.94	17.58	1.86	17.9	1.49
IE07-cabeza	9.61	1.82	33.10	1.90	28.77	1.88	54.98	1.64
IE08*	0.92	1.50	6.00	2.22	8.48	1.86	11.54	1.29

*Promedios de tres réplicas de insectos completos para IE04 e IE08, debido a su tamaño milimétrico.



Los valores de lecturas obtenidos de la cuantificación por espectrofotometría para el método AxyPrep™ contrastaron con los resultados del Fragment Analyzer (FA) cuyo rango de sensibilidad es de 50 pg/μL a 5 ng/μL para detectar la presencia de ADN genómico en una muestra. En la figura 1A, se observa los picos de fluorescencia de IE07 con sus tres réplicas para: patas, alas y cabeza. El mejor resultado fue para las réplicas de IE07-cabeza. Sin embargo, en el resto de las muestras no se detectó ADN genómico íntegro.

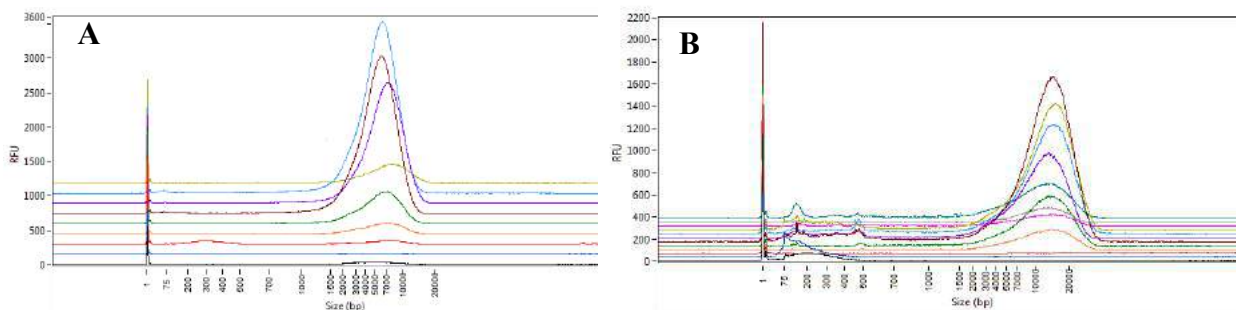


Figura 1. Resultados gráficos del Fragment Analyzer. **A.** Réplicas de IE07 con AxyPrep™. **B.** Réplicas de IE07 e IE08 procesadas con DNeasy®.

Por otro lado, el análisis con el FA de muestras procesadas con DNeasy® mostraron mejores resultados en cuanto a integridad y concentración, aunque éste último parámetro difería con las lecturas por espectrofotometría, pues las concentraciones reales (ng/μL) obtenidas del FA eran inferiores a las reportadas en el Epoch BioTek (Fig. 1B).

En el caso de los métodos de extracción de ADN destructivos del tejido con CTAB y SDS se realizó las amplificaciones de dos regiones del gen mitocondrial COI, la región universal “DNA barcoding” y la región “Mini-barconding”. Con el método CTAB se observó mayor eficiencia en la amplificación de fragmentos COI esperados en ~710 pb y ~180 pb, respectivamente (Fig. 2).

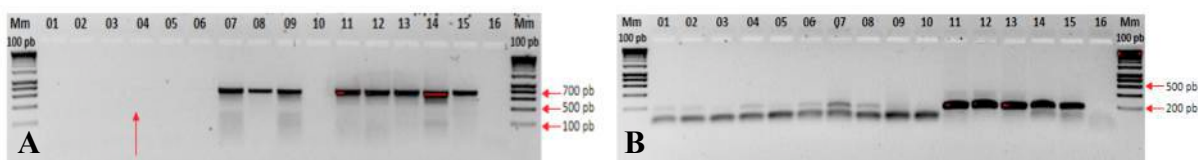


Figura 2. Productos de PCR a partir de ADN genómico con el método CTAB. **A.** COI universal (710 pb). **B.** COI Mini-barconding (180 pb). Mm: Marcador molecular 100 pb; 01: IE01-patas; 02: IE01-alas; IE01-cabeza; 04: IE02-patas; 05: IE02-alas; 06: IE02-cabeza; 07: IE03-patas; 08: IE03-alas; 09: IE03-cabeza; 10: IE04; 11: IE07-patas; 12: IE07-alas; 13: IE07-cabeza; 14: IE08; 15: control positivo Dermaptera; 16: control negativo.

Mientras que con el método SDS la eficiencia en la amplificación para las regiones COI fue deficiente, esto debido a la obtención de purzas (A260/280) por debajo de los valores óptimos (≥ 1.7) como se observa en el cuadro 4.

Protocolo de extracción de ADN no destructivo del tejido



DNeasy[®] Blood &Tissue de QIAGEN fue modificado y adaptado para extracción de ADN no destructiva en insectos. La amplificación de productos de PCR “Mini-barcoding” a partir de ADN extraído de insectos de las especies evaluadas, se observan en la figura 3.

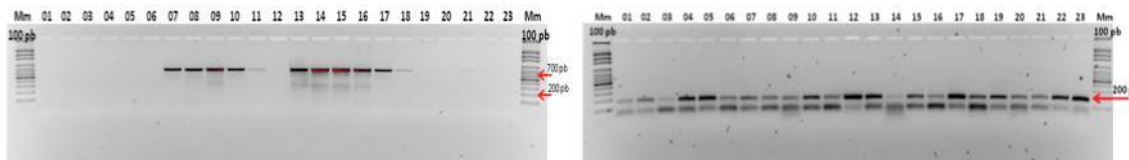


Figura 3. Productos de PCR a partir de ADN genómico de algunas muestras diluidas en serie pertenecientes al método No destructivo DNeasy[®] Blood &Tissue de QIAGEN. COI Mini-barcoding 180 pb. Mm de 100 pb; 01-06: IE01; 07-12: IE03 (patas); 13-18: IE03 (alas); 19-23: IE04. Factor de dilución: 10.

El promedio total de la cantidad y calidad del ADN que se obtuvo de las tres repeticiones (n=3) de cada muestra procesada con el método DNeasy[®] no destructivo a partir de 0.5-1 mg de tejido estuvo entre 3.59 -71.26 ng/ μ L y purezas de 1.66-1.96, como los valores más bajos-altos.

Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos para los kits comerciales de tipo destructivos basados en los parámetros de rendimiento, pureza, eficiencia en la amplificación de COI y certificación de la calidad en el FA, se puede indicar que el Kit DNeasy[®] Blood &Tissue QIAGEN resultó ser el más simple y confiable, a pesar que en términos de costos por muestra se eleva el doble que el precio del AxyPrep[®]. En el caso de los métodos destructivos, con CTAB se observó por espectrofotometría un aumento en la concentración del ADN genómico en muestras frescas con respecto al método SDS. Con respecto a esto, los resultados obtenidos con el método SDS, en las muestras analizadas se mostraron valores bajos en concentración con respecto al método CTAB, los valores de pureza estuvieron muy por debajo del óptimo ($\geq 1.7 \leq 1.9$). Este aspecto es determinante en la eficiencia de la PCR, es la pureza, ya que valores anormales en A260/280 indican que la muestra está contaminada por proteínas o algún reactivo como fenol (Wilfinger *et al.*, 1997) pudiendo actuar como inhibidores de la PCR. Además, el paso de previa incubación del CTAB, no así para el SDS, puede remover polisacáridos que están unidos al ADN (Zhao *et al.*, 2001). De manera general, los métodos basados en kits comerciales (AxyPrep[®] y DNeasy[®]) comparados en este estudio, no generan desechos peligrosos que contengan fenol, cloroformo, etc., que requieran la operación de una campana de extracción de gases.

El método no destructivo empleado en este estudio (No destructivo-DNeasy[®]) en contraste con otros, fue relativamente económico, eficiente en el tiempo de desarrollo y de baja toxicidad. Con respecto a la modificación, este protocolo logró la liberación de ADN para gran parte de las muestras con la amplificación de la región “Mini-barcoding” (180 pb), mientras que la amplificación de COI universal (710 pb) se logró principalmente para muestras recolectadas recientemente o en fresco (IE03, IE07). Esto se atribuye a que la degradación del ADN en especímenes con mayor tiempo en las colecciones, impide la recuperación de fragmentos ≥ 200



pb (Wandeler *et al.*, 2007). La importancia del uso de un método no destructivo para la obtención de ADN en insectos, está centrado en superar limitaciones, como la degradación de ADN *post mortem* como una función del calor y el tiempo (Lindahl, 1991) y la recuperación de ácidos nucleicos a partir de especímenes en seco mantenidos en colecciones por años, sin involucrar la destrucción parcial o total del insecto (Gilbert *et al.*, 2007). Para superar estas limitaciones, se han desarrollado métodos de extracción de ADN sin daño morfológico visible para este tipo de especímenes (Gilbert *et al.*, 2007; Rowley *et al.*, 2007).

Agradecimientos. Al Dr. Alejandro González Hernández de la Universidad de Nuevo León por sus consejos académicos y técnicos. A la Colección de Insectos Entomófagos (CIE) del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico.

Literatura citada

- Chen H., Rangasamy M., Tan S.Y., Wang H., Siegfried B. D. 2010. Evaluation of Five Methods for Total DNA Extraction from Western Corn Rootworm Beetles. *Plos One* 5(8): e11963.
- Doyle J.J., Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.
- Gilbert M.T.P., Moore W., Melchior L., Worobey M. 2007. DNA Extraction from Dry Museum Beetles without conferring external morphological damage. *PLoS ONE* 2(3): e272.
- Lagisz M., Port G., Wolff K. 2010. A cost-effective, simple and high-throughput method for DNA extraction from insects. *Insect Science* 00: 1-6.
- Lindahl T. 1991. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709-715.
- Marshall E. 2005. Taxonomy. Will DNA barcodes breathe life into classification? *Science* 307(5712): 1037.
- Meusnier I., Singer G.A.C., Landry J.F., Hickey D.A., Hebert P.D.N., Hajibabaei M. 2008. A universal DNA Mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics* 9(214): 1-4.
- Milligan B.G. 1998. Total DNA isolation. En: Hoelzel AR, Ed. *Molecular Genetic Analysis of Population: A Practical Approach*, 2da Edición. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press. pp 29-64.
- Ratnasingham S., Hebert P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364.
- Romero-Rodríguez A., Posos-Ponce P., Petreira B., Suris M. 2011. Evaluación de tres protocolos de extracción de ADN en insectos del orden Thysanoptera. *Revista Protección Vegetal* 26(3): 187-190.
- Rowley D.L., Coddington J.A., Gates M.W., Norrbom A.L., Ochoa R.A., Vandenberg N.J., Greenstone M.H. 2007. Vouchering DNA-barcoded specimens: test of a nondestructive extraction protocol for terrestrial arthropods. *Molecular Ecology Notes* 7: 915-924.
- Wandeler P., Hoeck P.E., Keller L.F. 2007. Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 22(12):634-642.
- Waugh J. 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays* 29: 188-197.
- Wilfinger W.W., Mackey K., Chomeczynski P. 1997. Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity. *BioTechniques* 22:474-481
- Zhao X.M., Duszynki D.W., Loker E.S. 2001. A simple method of DNA extraction of *Eimeria* species. *Journal of Microbiological Methods* 44: 131-137.



AVANCES EN LA IDENTIFICACIÓN Y FILOGENIA MOLECULAR DE LOS ESPECÍMENES DE LA COLECCIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DEL CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE CONTROL BIOLÓGICO POR ANÁLISIS MULTIGÉNICO

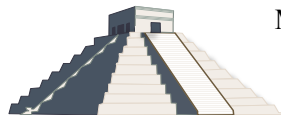
María G. Serna-Domínguez, Gilda Y. Andrade-Michel y Adrien Gallou. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), SENASICA-DGSV. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, Col. Tepeyac. C.P. 28110, Tecomán, Colima, México. dgsv.cnrf3@senasica.gob.mx

Resumen. Durante el 2013 y 2014 se recibieron 24 muestras de hongos entomopatógenos por parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del CNRCB pertenecientes a los géneros *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria*. El proceso de identificación abarcó la estandarización de extracción de ADN genómico y los programas de amplificación por PCR de genes nucleares altamente conservados y regiones intergénicas variables, así como la selección de las regiones que fueron mayormente informativas en secuencia. Siete muestras de *Isaria* (CHE-CNRCB 303, 305 y 307) incluidos los cultivos multi y monospóricos se identificaron como *I. javanica* de acuerdo a las regiones ITS, 5' EF-Exón y β -tub. Cinco muestras de *Metarhizium* se identificaron como *M. anisopliae* (CHE-CNRCB 224 y 227) y otras cinco como *M. acridum* (CHE-CNRCB 213, 206 y 256) incluidos los cultivos multi y monospóricos acorde a las regiones ITS, el 5' EF-Exón, EF-Intrón, β -tub, RPB1 y RPB2 (a y b). Las siete muestras faltantes se encuentran en proceso de identificación, además de la estandarización de programas de amplificación por PCR de genes y la selección de las regiones que presenten mayor resolución para la identificación de muestras del género *Hirsutella*.

Palabras clave: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Isaria*, identificación molecular, análisis multigénico (MLST).

Introducción

Existen agentes de control biológico que son altamente eficaces para regular poblaciones de insectos plaga (Kepler y Rehner, 2013), entre los más conocidos se encuentran los hongos entomopatógenos (HE), de los cuales los géneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces* (\equiv *Isaria*) e *Hirsutella* presentan especies sumamente importantes que se utilizan de forma comercial (Meyling *et al.*, 2012; Bischoff *et al.*, 2009). La Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) alberga más de 400 cepas de HE pertenecientes a los géneros antes mencionados. Uno de los objetivos principales del Laboratorio Biología Molecular (LBM) del CNRCB, es la identificación molecular de cada una de las cepas que resguarda la CHE por medio de un análisis multigénico o MLST (Multilocus Sequence Typing, por sus siglas en inglés); a pesar que la región de los espaciadores internos transcritos o ITS (Internal Transcribed Spacer, por sus siglas en inglés) se contempla como código de barras universal para hongos (Schoch *et al.*, 2012), es necesario de la secuenciación de otros genes como el factor de elongación 1-alfa (5' EF-Exón/Intrón), el gen para β -tubulina (β -tub), los genes que codifican para dos subunidades de la ARN polimerasa II



(RPB1 y RPB2) y algunas regiones intergénicas para poder obtener una identificación confiable y certera.

Materiales y Métodos

Obtención de aislados fúngicos

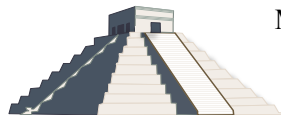
Los cultivos monospóricos y polispóricos de los géneros: *Metarhizium* spp., *Isaria* spp. y *Beauveria* spp. empleados en este estudio (Cuadro 1) fueron proporcionados por la CHE del CNRCB, Tecomán, Colima, México.

Cuadro 1. Descripción de las diferentes muestras de HE entregadas (2013-2014) por parte de la CHE-CNRCB para su MLST.

Género	Clave CHE-CNRCB	Clave anterior	Año/Hospedero/Localización
<i>Isaria</i> spp.	303	Pf15	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	303/2	Pf15/2	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	305	Pf17	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	305/1	Pf17/1	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	305/5	Pf17/5	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	307	Pf21	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	307/7	Pf21/7	1994. <i>Bemisia</i> sp. Sandía. Armería, Colima, México
	310	Pf27	INR*. <i>Spodoptera littoralis</i> . Maíz. Francia
<i>Metarhizium</i> spp.	224	Ma59	1993. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. Veracruz, México
	224/EH-468**	Ma59/EH-468**	1993. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de Azúcar. Veracruz, México
	224/1	Ma59/1	1993. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. Veracruz, México
	213	Ma49	1996. <i>Schistocerca piceifrons</i> . Colima, México
	213/8	Ma49/8	1996. <i>Schistocerca piceifrons</i> . Colima, México
	206	Ma41	1992. <i>Schistocerca piceifrons</i> . Colima, México
	206/EH-531	Ma41/EH-531	1992. <i>Schistocerca piceifrons</i> . Colima, México
	227	Ma62	1994. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. S.L.P., México
	227/4	Ma62/4	1994. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. S.L.P., México
	256	Ma80	1997. <i>Phyllophaga</i> sp. Jalisco, México
	234	Ma69	1995. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. Veracruz, México
221	Ma07	1990. <i>Geraeus senilis</i> . Maíz. Colima, México	
235	Ma70	1996. <i>Aeneolamia</i> sp. Caña de azúcar. Veracruz, México	
<i>Beauveria</i> spp.	32	B32	1996. <i>Laspeyresia pomonella</i> . Manzano. Chihuahua, México
	167	B167	2011. <i>Diaphorina citri</i> . Limón mexicano. Colima, México
	168	B168	2011. <i>Diaphorina citri</i> . Limón mexicano. Colima, México

/ no.: cultivo monospórico (ej. P15/2 es monospórico de la muestra Pf15). *INR: Información no registrada. **EH: denominación "Especie Hongo" del Laboratorio de Micología Básica, Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina UNAM, México. S.L.P., San Luis Potosí.

Extracción de ADN



Para la extracción de ADN genómico se utilizaron dos kits comerciales: el AxyPrep™ Multisource Genomic DNA Miniprep (Axygen) y el Wizard® Genomic DNA Purification (Promega). La calidad e integridad del ADN extraído de cada muestra, se determinó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1 o 1.3% en buffer TBE 1X (Tris-Borato-EDTA) a 90 volts constantes durante 20-30 minutos y para su visualización se utilizó bromuro de etidio.

Regiones amplificadas para identificación molecular

Las amplificaciones de cada una de las regiones y para cada uno de los géneros analizados se llevaron a cabo por primers específicos listados en el cuadro 2. Las condiciones de termociclaje de cada gen amplificado se establecieron en el LBM.

Cuadro 2. Iniciadores o primers específicos para cada región amplificada para *Metarhizium*, *Isaria* y *Beauveria*.

Género	Región Amplificada	Oligonucleótidos /Primers	Longitud (pb)	Referencia
<i>Isaria spp.</i>	*ITS	ITS5/ITS4	550-600	White <i>et al.</i> , 1990
	LSU (28S)	LS1/LR5	900	Hausner <i>et al.</i> , 1993; Rehner y Samuels, 1995
	SSU (18S)	NS1/FS2	1500	Nikoh y Fukatsu, 2000
	* β-tub	T1/T22	1500	O'Donnell y Cigelnik 1997; Bischoff <i>et al.</i> , 2009
	*5' EF-Exón	983F/2218R	1100	Bischoff <i>et al.</i> , 2006; Rehner y Buckley, 2005
	EF-Intrón	EF1T/EF2T	800	Bischoff <i>et al.</i> , 2006
	5' EF-Exón	983F/2218R	1100	Bischoff <i>et al.</i> , 2006; Rehner y Buckley, 2005
	EF-Intrón	EF1T/EF2T	800	Bischoff <i>et al.</i> , 2006
<i>Metarhizium spp.</i>	* β-tub	T1/T22	1500	O'Donnell y Cigelnik 1997; Bischoff <i>et al.</i> , 2009
	*RPB1 (a y b)	RPB1A/RPB1A-VH6R RPB1B_VH6Fa/RPB1B_G2R	1100 1800	Matheny <i>et al.</i> , 2002; Stiller and Hall, 1997 Hofstetter <i>et al.</i> , 2007
	*RPB2 (a y b)	fRPB2-5F/RPB2-7cR fRPB2-7cf/RPB2-3053R	1200 1000	Liu <i>et al.</i> , 1999; Reeb <i>et al.</i> 2004
	*Región intergénica	MzFG543igs_1F/MzFG5 43igs_4R	800	Kepler y Rehner, 2013
	*BLOC	B5.1F/B3.1R	1500	Rehner <i>et al.</i> , 2006
	5' EF-Exón	983F/2218R 1567R/1577F/2212R	1100	Bischoff <i>et al.</i> 2006; Rehner y Buckley, 2005
	<i>Beauveria spp.</i>	*RPB1 (a y b)	RPB1A/RPB1A-VH6R RPB1B_VH6Fa/RPB1B_G2R	1100 1800
*RPP2 (a y b)		fRPB2-5F/RPB2-7cR fRPB2-7cf/RPB2-3053R	1200 1000	Liu <i>et al.</i> , 1999; Reeb <i>et al.</i> , 2004

*Regiones mayormente informativas.

Purificación de productos de PCR y secuenciación



La purificación de los amplicones a partir de gel de agarosa y los productos de PCR fue realizada por el kit Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-up System (Promega); consecutivamente se cuantificaron en el espectrofotómetro EPOCH (BIOTEK) en un ratio 260/280 nm y se enviaron a secuenciación al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO), Servicios genómicos, Irapuato, Gto., México.

Análisis filogenético

Las secuencias fueron analizadas y editadas en el programa BioEdit 7.2.5, posteriormente se utilizó la herramienta informática de alineación de secuencias BLAST de las siguientes bases de datos: National Center for Biotechnology and Information (NCBI), MycoBank y DNA Data Bank of Japan (DDBJ) para seleccionar las especies relacionadas a cada muestra. La alineación múltiple tipo MUSCLE y la predicción filogenética se realizaron en el programa MEGA 6.

Resultados

Durante el 2013 y 2014, se logró la estandarización por PCR de las 12 regiones listadas en el cuadro 2 para cada género analizado. Conforme al análisis de secuencias, se seleccionaron las regiones que son lo suficientemente variables para identificar correctamente a cada género (*Beauveria* se encuentra en proceso). Las regiones más informativas para el caso de *Isaria* fueron la región ITS, el 5' EF-Exón y la parte 5' del gen que codifica para la β -tub (Cuadro 2). Siete muestras CHE-CNRCB 303, 305 y 307 incluyendo sus monospóricos, fueron ubicadas dentro del clado de *Isaria javanica* según al análisis filogenético realizado por Cabanillas *et al.*, (2013) (Cuadro 3), con un porcentaje de variabilidad versus *I. fumosorosea* CBS 244.31 de 8.1% para ITS (~550 pb), 4.6% para 5' EF-Exón (~1100 pb) y 5.1% para β -tub (~300 pb).



Cuadro 3. Identificación MLST de las muestras de HE analizadas por LBM.

Clave CHE-CNRCB	Identificación CHE-CNRCB	Cultivo	Identificación LBM-CNRCB	Genes para identificación
224	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico	<i>M. anisopliae sensu lato</i>	ITS, 5' EF-Exón, EF-Intrón, β -tub, RPB1 (a y b), RPB2 (a y b) y regiones intergénicas
224/EH-468	<i>M. anisopliae</i>	Monospórico		
224/1	<i>M. anisopliae</i>	Monospórico		
213	<i>M. acridum</i>	Polispórico	<i>M. acridum</i>	
213/8	<i>M. acridum</i>	Monospórico		
206	<i>M. acridum</i>	Polispórico		
206/EH-531	<i>M. acridum</i>	Monospórico	<i>M. anisopliae sensu stricto</i>	
227	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico		
227/4	<i>M. anisopliae</i>	Monospórico		
256	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico	<i>M. acridum</i>	
234	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico	En proceso	
221	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico	En proceso	
235	<i>M. anisopliae</i>	Polispórico	En proceso	
303	<i>Isaria</i> sp.	Polispórico	<i>I. javanica</i>	ITS, 5' EF-Exón, β -tub
303/2	<i>Isaria</i> sp.	Monospórico		
305	<i>Isaria</i> sp.	Polispórico		
305/1	<i>Isaria</i> sp.	Monospórico		
305/5	<i>Isaria</i> sp.	Monospórico		
307	<i>Isaria</i> sp.	Polispórico		
307/7	<i>Isaria</i> sp.	Monospórico		
310	<i>I. fumosorosea</i>	Polispórico	En proceso	
B32	<i>B. bassiana</i>	Polispórico	En proceso	BLOC, 5' EF-Exón, RPB1 (a y b) y RPB2 (a y b)
B167	<i>B. bassiana</i>	Polispórico	En proceso	
B168	<i>B. bassiana</i>	Polispórico	En proceso	

Debido a la dificultad que presenta el género *Metarhizium* en la identificación de sus especies, se emplearon la mayoría de los genes descritos en el cuadro 2. La combinación de genes en el análisis bioinformático para la recreación filogenética confirmó la identificación de cada una de las muestras, ya que de forma individual los resultados obtenidos no son constantes, es decir, que la topología y agrupación en los diferentes marcadores moleculares algunas veces no suele ser la misma. Las muestras CHE-CNRCB 224 y 227 además de sus respectivos monospóricos, se incluyeron dentro del clado de *M. anisopliae* (Cuadro 3). Mientras que para las muestras CHE-CNRCB 206, 213, sus respectivos monospóricos y la 256 correspondieron a *M. acridum* (Fig. 1). Para las muestras pertenecientes a *Beauveria* (CHE-CNRCB 32 y 167) la identificación se encuentra en proceso, sin embargo datos preliminares utilizando individualmente la región BLOC, 5' EF-Exón, RPB1 (a y b) y RPB2 (a y b) confirman la identificación establecida por la CHE determinando su agrupación dentro el clado de *Beauveria bassiana*.

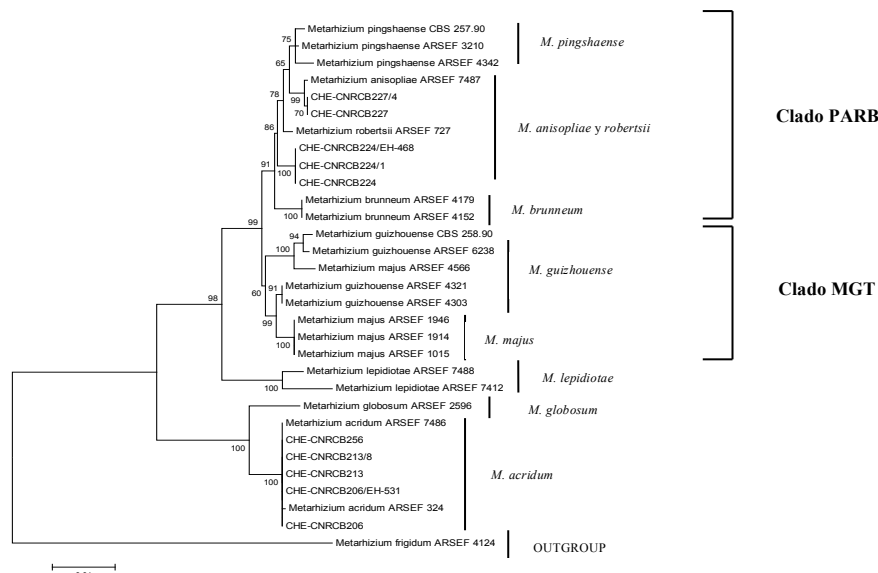


Figura 1. Inferencia filogenética MLST de diez secuencias analizadas de *Metarhizium* spp. sobre las regiones ITS (ITS1-5.8S-ITS2)-RPB1-RPB2 (a y b). Análisis de Máxima Verosimilitud (ML) con el modelo de dos parámetros de Kimura (1980) y una distribución gamma. Los números en los nodos de cada clado representan el valor del análisis de Bootstrap sobre 1000 réplicas.

Discusión

El análisis multigénico brinda un gran soporte en la identificación de cualquier organismo incluyendo los HE (Rocha *et al.*, 2013). El empleo de marcadores moleculares como por ejemplo genes nucleares, los procedentes del ADN ribosomal (Schoch *et al.*, 2012) y recientemente la amplificación de regiones intergénicas nucleares (Kepler y Rehner, 2013), son extensamente utilizados para una completa caracterización molecular y estudios filogenéticos (D'Alessandro *et al.*, 2013), sin embargo las secuencias entre ellas pueden ser poco variables o no arrojar suficiente información para discernir la especie resultante (Cabanillas *et al.*, 2013). Debido a lo anterior, la identificación se basa sólo en regiones variables y altamente informativas para cada género. *Isaria* se puede identificar con el uso de la amplificación, secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 5' EF-Exón y β -tub, a diferencia de *Metarhizium* que involucra además de dichas regiones, secuencias intergénicas nucleares, los genes para RPB1 (a y b), RPB2 (a y b) y EF-Intrón. Hasta el momento las regiones que han resultado ser lo suficientemente discriminantes para las muestras del género *Beauveria* han sido BLOC, RPB1 (a y b) y RPB2 (a y b). El desarrollo de marcadores moleculares procedentes de la amplificación de diferentes genes, sustenta la identificación previa que se realiza en la CHE en base a análisis morfológicos y morfométricos característicos para cada género. Por lo que el trabajo en conjunto proporciona una precisa identificación.



Literatura citada

- Bischoff, J.F., Rehner, S.A. y Humber, R.A. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* 101: 512-530.
- Bischoff, J.F., Rehner, S.A. y Humber, R. 2006. *Metarhizium frigidum* sp. nov.: a cryptic species of *M. anisopliae* and a member of the *M. flavoviride* complex. *Mycologia* 98: 737-745.
- Cabanillas, H.E., H. de León, J., Humber, R.A., Murray, K.D. y Jones, W.A. 2013. *Isaria poprawskii* sp. nov. (Hypocreales: Cordycipitaceae), a new entomopathogenic fungus from Texas affecting sweet potato whitefly. *Mycoscience* 54: 158-169.
- D'Alessandro, C.P., Jones, L.R., Humber, R.A., López-Lastra, C.C. y Sosa-Gómez, D.R. 2013. Characterization and phylogeny of *Isaria* spp. strains (Ascomycota: Hypocreales) using ITS1-5.8S-ITS2 and elongation factor 1-alpha sequences. *J. Basic Microbiol.* 53: 1-11.
- Hausner, G., Reid, J. y Klassen, G.R. 1993. On the subdivision of *Ceratocystis* s.l., based on partial ribosomal DNA sequences. *Can. J. Bot.* 71: 52-63.
- Hofstetter, V., Miadlikowska, J., Kauff, F. y Lutzoni, F. 2007. Phylogenetic comparison of protein-coding versus ribosomal RNA-coding sequence data: a case study of the Lecanoromycetes (Ascomycota). *Mol. Phylogenet. Evol.* 44: 412-426.
- Kepler, R.M. y Rehner, S.A. 2013. Genome-assisted development of nuclear intergenic sequence markers for entomopathogenic fungi of the *Metarhizium anisopliae* species complex. *Mol. Ecol. Resour* 13 (2): 1755-0998.
- Matheny, P.B., Liu, Y.J., Ammirati, J.F. y Hall, B.D. 2002. Using RPB1 sequences to improve phylogenetic inference among mushrooms (*Inocybe*, Agaricales). *Am. J. Bot.* 89: 688-698.
- Meyling, N.V., Pilz, C., Keller, S., Widmer, F. y Enkerli, J. 2012. Diversity of *Beauveria* spp. isolates from pollen beetles *Meligethes aeneus* in Switzerland. *J. Invertebr. Pathol.* 109: 76-82.
- Nikoh, N. y Fukatsu, T. 2000. Interkingdom host jumping underground: phylogenetic analysis of entomoparasitic fungi of the genus *Cordyceps*. *Mol. Biol. Evol.* 17: 629-638.
- Liu, Y.J., Whelen, S. y Hall, B.D. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA Polymerase II subunit. *Mol. Biol. Evol.* 16: 1799-1808.
- O'Donnell, K. y Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a Monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7:103-116.
- Reeb, V., Lutzoni, F. y Roux, C. 2004. Contribution of *RPB2* to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32: 1036-1060.
- Rehner, S.A. y Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and *EF1- α* sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97: 84-98.
- Rehner, S.A., Posada, F., Buckley, E.P., Infante, F., Castillo, A. y Vega, F.E. 2006. Phylogeny origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *J. Invertebr. Pathol.* 93: 11-21.
- Rehner, S.A. y Samuels, G.J. 1995. Molecular systematics of the Hypocreales: a telomorph gene phylogeny and the status of their anamorphs. *Can. J. Bot.* 73: S816-S823.
- Rocha, L.F., Inglis, P.W., Humber, R.A., Kipnis, A. y Luz, C. 2013. Occurrence of *Metarhizium* spp. in Central Brazilian soils. *J. Basic Microbiol.* 53: 251-259.
- Schoch, C.L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesqué, C.A., Chen W. y Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear Ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *PNAS* 1013: 1-6.
- Stiller, J.W. y Hall, B.D. 1997. The origin of red algae: implications for plastid evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:4520-4525.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315-322. In: Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky & T.J. White (eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, Inc., New York.



ANÁLISIS DE INFECCIÓN *IN VITRO* DE 3 BACULOVIRUS DE *Trichoplusia ni* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE) EN LA LÍNEA CELULAR (BTI-TN-5B1-4) Y OBTENCIÓN DE UNA GENOTECA SUSTRACTIVA BAJO CONDICIONES DE SUPRESIÓN.

Ingrid Zanella-Saenz¹, Ma. de los Angeles Bivián Hernández¹, Mayra Chico Andrade, Ma. Fabiola León-Galván¹ y María Cristina del Rincón-Castro¹. ¹Posgrado en Biociencias, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km 9.0, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato Gto. cdelrincon@ugto.mx

Resumen. Los baculovirus son empleados como insecticidas biológicos y han sido usados recientemente como vectores de expresión de genes. El falso medidor de la col, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptero: Noctuidae), es una plaga agrícola distribuida ampliamente. Este insecto, al igual que otras especies de Lepidópteros, es responsable de pérdidas considerables a la agricultura anualmente. El deseo de controlar las plagas de insectos con baculovirus, ha llevado a los investigadores a examinar más de cerca las líneas celulares existentes o desarrollar nuevas líneas de células con un crecimiento superior y características de infección mejoradas. En el presente trabajo se probó la infección de tres baculovirus (TnNPV, Tn4, TnGV) en la línea celular BTI-Tn5-B1-4, encontrándose que el único virus permisible en dicha línea celular fue el TnNPV, mismo para el cual se estudió la expresión de proteínas así como la técnica de hibridación sustractiva por supresión, obteniéndose 5 clonas de un fragmento de 300-600 pares de bases expresadas a las 48 horas post-infección.

Palabras clave: BTI-Tn5-B1-4, baculovirus, TnNPV, hibridación sustractiva por supresión, proteínas.

Introducción

El falso medidor de la col, *Trichoplusia ni* (*T. ni*), es una plaga agrícola distribuida ampliamente. Este insecto, al igual que otras especies de Lepidópteros, es responsable de pérdidas considerables a la agricultura anualmente. El deseo de controlar las plagas de insectos tales como *T. ni* con baculovirus, ha llevado a los investigadores a examinar más de cerca las líneas celulares existentes o desarrollar nuevas líneas de células con un crecimiento superior y características de infección mejoradas (Granados *et al.*, 1994; Stiles *et al.*, 1992). La primera línea celular establecida exitosamente a partir de tejido adulto de *T. ni* fue lograda en 1970 por W. F. Hink. Años más tarde, Granados y colaboradores (1986) lograron establecer una línea celular embrionaria a partir de huevos de *T. ni*, la cual nombraron como BTI-Tn-5B1 (Tn-5B1) y tiempo después (1994) obtuvieron una línea celular clonal derivada de Tn-5B1, la cual demostró características superiores de crecimiento y mayor susceptibilidad a virus, la cual fue denominada BTI-Tn-5B1-4 (Tn-5B1-4) (Granados *et al.*, 1994). Los baculovirus son empleados como pesticidas biológicos y han sido usados recientemente como vectores de expresión de genes (Luckow y Summers, 1988). La síntesis de proteínas virales por parte de la maquinaria enzimática de la célula hospedera es el evento clave en la replicación viral, para lo cual, el virus debe presentar a la célula hospedera un Ácido Ribonucleico (RNA) mensajero (RNAm) que la



célula pueda reconocer como tal y traducirla. En la célula infectada, la expresión de los genomas virales compete con la expresión de los genes celulares, por lo que los virus han desarrollado estrategias que le confieren una ventaja competitiva en la expresión de sus RNAm o una capacidad para inhibir la síntesis o traducción de los RNAm celulares (Fields *et al.*, 1996). Una técnica que ha sido muy poco usada para el estudio de expresión de genes regulados diferencialmente tanto *in vivo* como *in vitro* en baculovirus es la técnica de hibridación substractiva por supresión. Los baculovirus TnGV y Tn4 no han sido ampliamente estudiados en líneas celulares, por lo cual en este trabajo se reporta la viabilidad de ambos virus para infectar la línea celular BTI-Tn5-B1-4, así como el análisis de expresión de genes expresados diferencialmente.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 3 cepas de baculovirus aisladas de *T. ni*, las cuales serán denominadas como Tn-4, TnNPV y TnGV. La línea celular utilizada fue la Tn-5B1-4, manteniéndose en medio Ex-Cell 405 (SIGMA) en incubación (FRIOCELL) a 28°C, utilizando frascos de cultivo celular de 25 cm² (SIGMA), transfiriéndose cada 3-4 días. Las células fueron criopreservadas, monitoreando que la viabilidad de las células fuera mayor del 98% con crecimiento exponencial y como agente criopreservante se utilizó Dimetil Sulfoxido (10%). Para la infección de la línea celular se utilizaron viriones extracelulares (VE) *in vivo* y la infección se monitoreo 5 días para TnGV y 3 para Tn4 y TnNPV (Granados *et al.*, 1986). El análisis proteómico se realizó en gel desnaturizante de poliacrilamida (SDS-PAGE), utilizándose un gel concentrador al 5.72% de acrilamida y gel separador al 10%, tiñéndose en solución de azul de Coomasie y desteñidos durante 24-48 h.

Se llevó a cabo la técnica de hibridación sustractiva por supresión (SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit; Diatchenko *et al.*, 1999) con el virus TnNPV, para lo cual una vez infectada la línea celular se procedió a la recuperación de muestra cada 24 horas durante 120 horas, tanto de cultivo infectado como de un control (línea celular sin infección). Se procedió a la extracción de RNA con el kit comercial Trizol (Life Technologies) siguiendo las instrucciones del proveedor. El RNA extraído fue cuantificado en un NanoDrop Lite (Thermo Scientific) siguiendo las instrucciones del fabricante. La síntesis de primer y segunda cadena se realizaron usando los Primer CDS (5'- AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACT(30 ó 15 T)- 3'), SMART IIA (5'- AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACGCrGrGrG- 3') y PCR IIA (5'- AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT- 3'). Para la síntesis de 2ª cadena se utilizaron las siguientes condiciones para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR): 94°C/4 min, 24 ciclos (94°C/30 seg, 65°C/45 seg, 72°C/6 min) y 72°C/7min. Los ácidos desoxirribonucleicos complementarios (cDNA) de doble cadena fueron digeridos con la enzima Afa I (sitio de corte: 5'-GTAC-3'); se utilizaron 2 adaptadores únicamente para las muestras de cDNA problema (24, 48, 72, 96 y 120 horas post-infección): Adaptador 1 (5'- CTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCGCCCGGGCAGGT- 3') y Adaptador 2 (5'- CTAATACGACTCACTATAGGGCAGCGTGGTTCGCGGCCCGAGGT- 3'). Para corroborar la ligación se utilizaron los Primer G3PDH Fw (5'- ACCACAGTCCATGCCATCAC- 3'), PCR



1 mM (5'-CTAATACGACTCACTATAGGGC-3') y G3PDH Rev (5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3') y las condiciones para PCR fueron: 94°C/30 seg, 25 ciclos (94°C/15 seg, 65°C/30 seg, 72°C/2.5 min) y 72°C/1 min. Se llevaron a cabo dos hibridaciones, mezclando el cDNA control y cDNA problema ligado a adaptadores 1 y 2. Por último se realizó una primera y segunda amplificación utilizando los Primer PCR 1, Nested PCR 1 (5'-TCGAGCGGCCGCCCGGGCAGGT-3') y Nested PCR 2 (5'-AGCGTGGTTCGCGGCCGAGGT-3') bajo las siguientes condiciones de PCR: 94°C/1 min, 25 ciclos (94°C/30 seg, 58°C/45 seg, 72°C/1.5 min), 72°C/7 min. La purificación de bandas (300-600 pares de bases (pb) y 600-1600 pb) se realizó con el kit comercial (QIAquick Gel extraction Kit, QIAGEN) siguiendo las recomendaciones del proveedor. La clonación de dichos fragmentos se realizó en el vector TOPO TA Cloning Kit pCR 4 (Invitrogen) y las células electrocompetentes fueron transformadas por choque térmico.

Resultados y Discusión

De los tres baculovirus estudiados en la línea celular, se obtuvo que el único virus que fue infectivo hacia la línea celular Tn-5B1-4 fue el TnNPV, ya que los baculovirus Tn4 y TnGV no lograron infectar a dicha línea celular, para lo cual se procedió al análisis proteómico en ésta del primero solamente, en el cual se detectó que la expresión de proteínas variaba entre las células control contra las células infectadas con TnNPV, pudiéndose observar además la presencia de la proteína mayoritaria en el nucleopoliedrovirus, la poliedrina, confirmando de esta manera la infección de la línea celular con VE de TnNPV (Figura 1):

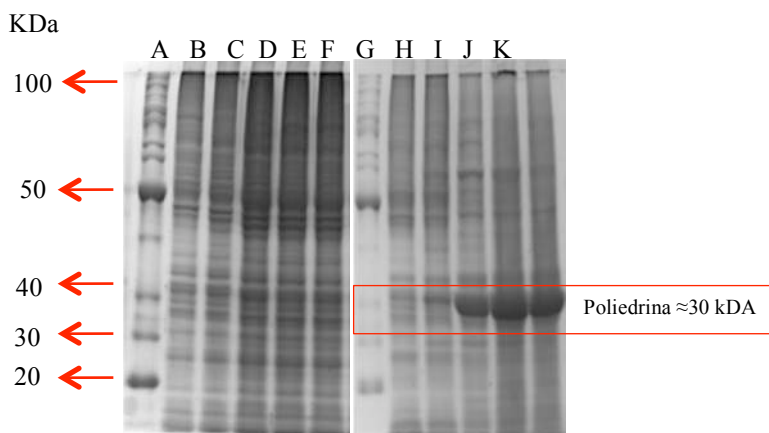


Figura 1. Patrón comparativo de proteínas expresadas en línea celular sin infección y con infección con el baculovirus TnNPV, a diferentes tiempos. **A-** MPM Bench Mark protein, **B-** 24 horas sin infección (hsi), **C-** 48 hsi, **D-** 72 hsi, **E-** 96 hsi, **F-** 120 hsi, **G-** MPM Bench Mark protein, **H-** 24 horas post-infección (hpi), **I-** 48 hpi, **J-** 72 hpi, **K-** 96 hpi, **L-** 120 hpi.

La extracción de RNA fue buena, como se muestra en la figura 2, ya que se observó un barrido uniforme para todas las condiciones, característico del conjunto de transcritos expresados a los diferentes tiempos post-infección (tpi).

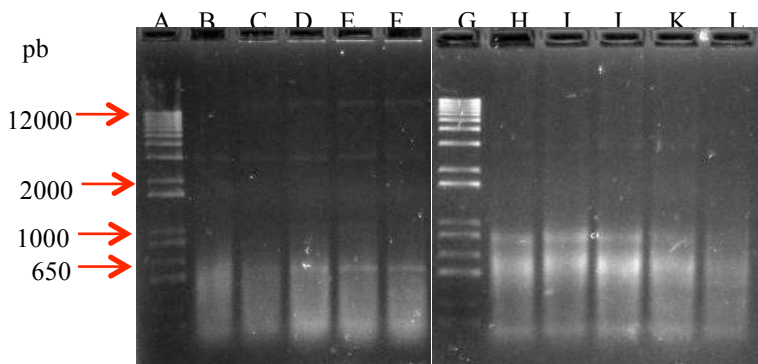
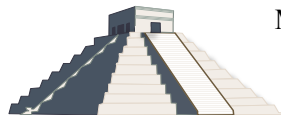


Tabla 2. Cuantificación de RNA de las muestras extraídas de células infectadas y sin infectar.

Horas	RNA (ng/μl) Células sin infección	RNA (ng/μl) Células infectadas
24	1590	677
48	1797	401
72	1687	483
96	1713	295
120	1555	300

Figura 2. RNA de células a los diferentes tiempos pos-infección y sin-infección: A- marcador de peso molecular (MPM) 1 kb plus, B- 24 hpi, C- 48 hpi, D-72 hpi, E-96 hpi, F-120 hpi, G- MPM 1 kb plus, H- 24 hsi, I- 48 hsi, J- 72 hsi, K- 96 hsi, L- 120 hsi

La concentración de RNA en las muestras de células post-infección se redujo drásticamente (Tabla 1), comparado con la de células sin infección, lo que puede deberse a que uno de los efectos de la infección con baculovirus, es el silenciamiento de genes en su hospedero, lo cual se ve reflejado en la concentración de RNA entre ambas poblaciones (Fields *et al.*, 1996). La síntesis de 2ª cadena fue exitosa (figura 3), así como la digestión de cDNA, ya que los transcritos son más pequeños, comparados con los cDNA sin digerir.



Figura 3: cDNA 2ª cadena a los diferentes tiempos post-infección y sin infección (Carril A-K). A- MPM 1 kb plus, B- 24 hpi, C- 24 hpi, D- 48 hsi, E- 48 hpi, F- 72 hsi, G- 72 hpi, H- 96 hsi, I- 96 hpi, J- 120 hsi, K- 120 hpi. Digestión con Afa I (Carril L-U) L- MPM 1 kb plus, M- 24 hsi N- 24 hpi, Ñ- 48 hsi, O- 48 hpi, P- 72 hsi, Q- 72 hpi, R- 96 hsi, S- 96 hpi, T- 120 hsi, U- 120 hpi

Todas las muestras problema presentaron amplificación (figura 4), indicativo de una buena ligación. El gen constitutivo G3PDH se encontró dentro de la población de la biblioteca de cDNA sintetizados, lo que también demostró que la extracción de RNA y síntesis de cDNA fue buena.

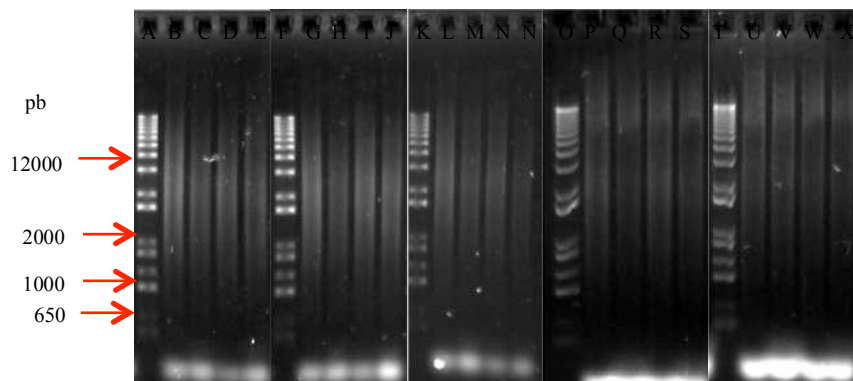


Figura 4. Análisis de ligación de adaptadores 1 y 2 de muestras problema a los diferentes tiempos post-infección. Amplificación con oligos G3PDH Fw y PCR 1 (Carril B, D, G, I, L, N, P, R, U, W). Amplificación con oligos G3PDH Fw y G3PDH Rev (Carril C, E, H, J, M, Ñ, Q, S, V, X). **A-** MPM 1 kb plus, **B-** 24 hpi-adaptador 1, **C-** 24 hpi-adaptador 1, **D-** 24 hpi-adaptador 2, **E-** 24 hpi-adaptador 2, **F-** MPM 1 kb plus, **G-** 48 hpi-adaptador 1, **H-** 48 hpi-adaptador 1, **I-** 48 hpi-adaptador 2, **J-** 48 hpi-adaptador 2, **K-** MPM 1 kb plus, **L-** 72 hpi-adaptador 1, **M-** 72 hpi-adaptador 1, **N-** 72 hpi-adaptador 2, **Ñ-** 72 hpi-adaptador 2, **O-** MPM 1 kb plus, **P-** 96 hpi-adaptador 1, **Q-** 96 hpi-adaptador 1, **R-** 96 hpi-adaptador 2, **S-** 96 hpi-adaptador 2, **T-** MPM 1 kb plus, **U-** 120 hpi-adaptador 1, **V-** 120 hpi-adaptador 1, **W-** 120 hpi-adaptador 2, **X-** 120 hpi-adaptador 2.

La primera y segunda amplificación fue exitosa, lo que denotó la selección de transcritos expresados diferencialmente (figura 5):

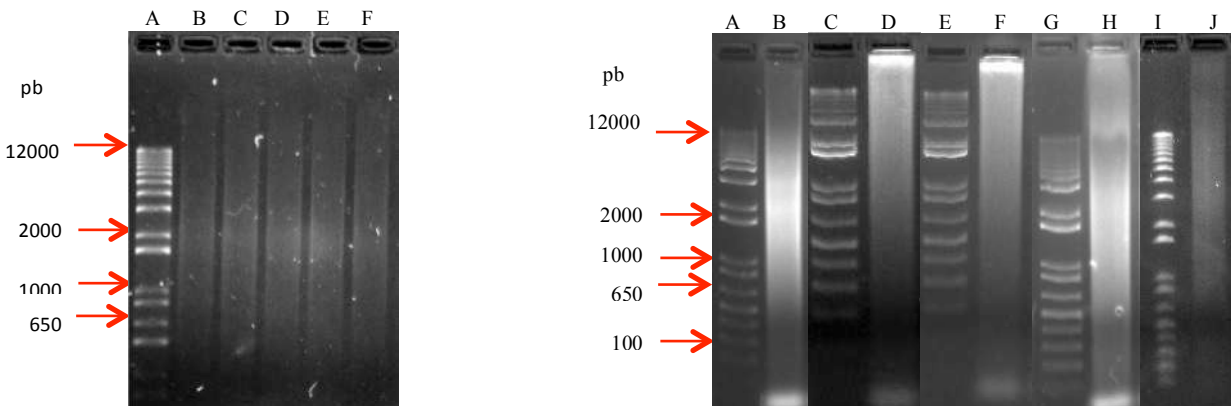


Figura 5. Izquierda. Primera amplificación por PCR **A-** MPM 1 kb plus, **B-** 24 horas, **C-** 48 horas, **D-** 72 horas, **E-** 96 horas, **F-** 120 horas. Derecha. Segunda amplificación por PCR. **A-** MPM 1 kb plus, **B-** 24 horas, **C-** MPM 1 kb plus, **D-** 48 horas, **E-** MPM 1 kb plus, **F-** 72 horas, **G-** MPM 1 kb plus, **H-** 96 horas, **I-** MPM 1 kb plus, **J-** 120 horas.

Se purificaron dos fragmentos del producto de la segunda amplificación por PCR correspondientes a 24 y 48 horas (Figura 6):

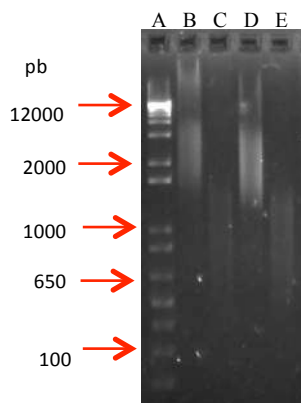


Figura 6. Electroforesis de bandas purificadas de gel de agarosa de los amplicones de la 2ª amplificación por PCR. **A-** MPM 1 kb plus. **B-** Fragmento 600-1600 pb-24 horas (1+), **C-** Fragmento de 300-600 pb-24 horas (1-), **D-** Fragmento de 600-1600 pb-48 horas (2+), **E-** Fragmento de 300-600 pb-48 horas (2-).

Se procedió a la clonación de los fragmentos purificados en el vector TOPO TA Cloning Kit pCR 4 (Invitrogen) y a su transformación por electroporación, para lo cual se obtuvieron alrededor de 100 transformantes de las condiciones 1+, 1-, 2+, 2-, sin embargo únicamente la condición 2- logró liberar fragmentos una vez hecha la digestión con la enzima Eco R1.

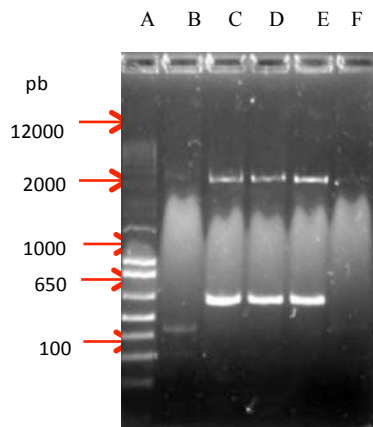


Figura 7. Fragmentos liberados en la condición 2-

En este trabajo se sentaron las bases para la obtención de una genoteca sustractiva *in vitro* en la línea celular Tn-5B1-4, sin embargo se requerirá la obtención transformantes y liberación de fragmentos clonados para las condiciones faltantes, y una vez obtenida dicha genoteca, esta pueda ser secuenciada y se logre identificar todos aquellos transcritos expresados diferencialmente, es decir, aquellos genes expresados *in vitro* por efecto de la infección con el baculovirus TnNPV y más adelante se puede llevar a cabo la comparación de la expresión de genes diferencialmente *in vivo* e *in vitro*. Este es el primer reporte de la obtención de una genoteca sustractiva *in vitro* utilizando infecciones de baculovirus TnNPV.

Agradecimientos. Los autores agradecen al CONACYT por las becas de posgrado otorgadas a Ingrid Zanella Saenz, y Ma. de los Angeles Bivián Hernández y de licenciatura a Mayra Chico Andrade. Asimismo, por el financiamiento de la investigación a través del Proyecto de Ciencia Básica No.166586 “Estudio genómico y proteómico de baculovirus entomopatógenos del falso medidor de la col *Trichoplusia ni* en líneas celulares de insectos”.



Literatura Citada

- Diatchenko Luda, Lukyanov Sergey, Lau Yun-Fai Chris and Siebert Paul D. 1999. Suppression Subtractive Hybridization: A Versatile Method for Identifying Differentially Expressed Genes. *Methods In enzymology*, vol. 303
- Field, BN, Knipe, DM, Howley, PM (ed). 1996. *Fields Virology*. 3rd ed. Raven Press, New York, N. Y.
- Granados R. Robert, Derksen G. C. Anja, Dwyer G. Kathleen. 1986. Replication of the *Trichoplusia ni* Granulosis and Nuclear Polyhedrosis Virus en Cell Cultures. *Virología* 152, 472-476.
- Granados, R. Robert, Li, G., Derksen, A. C. G., and McKenna, K. A. 1994. A new insect cell line from *Trichoplusia ni* (BTI-Tn-5B1-4) susceptible to *Trichoplusia ni* single enveloped nuclear polyhedrosis virus. *J. Invertebr. Pathol.* 64, 260–266.
- Hink, W. F. 1970. Established insect cell line from the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Nature* 226, 466–467.
- Kimberly, L., Schultz, W. and Friesen, P. D. 2009. Baculovirus DNA replication specific expression factors trigger apoptosis and shutoff of host protein synthesis during infection. *J. Virology*. 83, 11123–11132.
- Luckow, V. A., and M. D. Summers. 1988. Trends in the development of baculovirus expression vectors. *Biotechnology* 6:47-55.
- Stiles, B., McDonald, I. C., Gerst, J. W., Adams, T. S., and Newman, S. M. 1992. Initiation and characterization of five embryonic cell lines from the cotton boll weevil *Anthonomus grandis* in a commercial serum-free medium. *In Vitro Cell. Dev. Biol. A* 28, 355–363



DESARROLLO DE TÉCNICAS DE HUELLA GENÉTICA PARA LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Adrien Gallou, Roberto Montesinos-Matías y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV, Km. 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28110, Tecomán, Colima, México. gallou.adrien@hotmail.fr

Resumen. El objetivo del Laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (LBM del CNRCB) es el desarrollo e implementación de técnicas moleculares que permiten oportunamente atender las necesidades emergentes de identificación, tipificación y clasificación de organismos benéficos. El desarrollo de técnica confiable y rápida para la evaluación de la diversidad genética de los hongos entomopatógenos se encuentra en proceso de desarrollo vía selección de marcadores ISSR's "Inter-Simple Sequence Repeats". Se logró la selección de ocho primers mostrando patrones de bandas polimórficas y reproducibles para los diferentes aislados del género *Isaria*. Además, por medio del estudio de la estabilidad genética con el uso de los marcadores AFLP's "Amplified Fragment Length Polymorphism", el laboratorio está apoyando el trabajo de la Colección de Hongos Entomopatógenos para la validación de diferentes métodos de conservación de hongos entomopatógenos. Por esto, se logró la obtención de un juego de primers pre-selectivos (i.e. *MseI/EcoRI*) y selectivos (i.e. *MseI/EcoRI-AGC*) para tres géneros de hongos entomopatógenos (i.e. *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria*).

Palabras clave: AFLP, Identificación molecular, ISSR y Marcadores moleculares.

Introducción

Ante el reciente establecimiento de la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), una de las tareas primordiales del Laboratorio de Biología Molecular (LBM) perteneciente al mismo CNRCB es la identificación y caracterización molecular de los aislados depositados en la CHE. La colección cuenta con cepas utilizadas en los programas de control biológico implementados por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), caracterizadas a nivel fenotípico y bioquímico en el CNRCB y en colaboración con otras instituciones. Sin embargo la gran mayoría de los aislados de la colección requieren ser identificados a nivel molecular para asegurar su autenticidad, así como determinar los riesgos a la seguridad y a la salud durante su manejo para los investigadores o usuarios en su posible aplicación como micoinsecticidas. Para llevar a cabo la caracterización genotípica de microorganismos, además de un enfoque multigénico, el laboratorio desarrolla marcadores moleculares que permiten de manera simple y rápida, la evaluación de la diversidad genética de estos microorganismos.

Los marcadores moleculares pueden representar el fenotipo de un gen expresado o un segmento de ADN correspondiente a una región no expresada del genoma (Tigano-Milani *et al.*, 1995). Los



avances en biología molecular son el resultado del desarrollo de varios métodos para la detección de polimorfismos genéticos en el nivel de ADN, lo cual ayuda al conocimiento de la diversidad genética y las estructuras de las poblaciones de hongos (Inglis *et al.*, 2008). En este sentido, el laboratorio está desarrollando los marcadores “Inter-Simple Sequence Repeats” (ISSR) que pueden ser muy útiles para diferentes propósitos (Kale *et al.*, 2012; Luan *et al.*, 2013). Finalmente, para responder al objetivo de la CHE sobre la validación de métodos de conservación de los diferentes géneros de hongos entomoptógenos (HE), el LBM está desarrollando el uso de los marcadores moleculares “Amplified Fragment Length Polymorphism” (AFLP) (Voyron *et al.*, 2009).

Materiales y Métodos

Obtención de aislados fúngicos

Los cultivos de los diferentes géneros de HE utilizados en este estudio fueron proporcionados por la CHE, ubicada en la ciudad de Tecomán, Colima, México.

Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR)

Se probaron 43 primers ISSR seleccionados del set #9 de primers de la Universidad de Columbia Británica (Canadá) y otros específicos para las amplificaciones usando un subconjunto de cuatro aislamientos. La amplificación de 20 ng de ADN se realizó en 25 µl de volumen de reacción de PCR que contenía 5X GoTaq[®] Flexi Buffer (Promega[®]), 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTPs, 0,5 µM del primers ISSR específico y 1U GoTaq[®] G2 Flexi DNA Polymerase (Promega[®]). La amplificación fue llevada a cabo en un termociclador Veriti[®] 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems[®]) con una desnaturalización inicial a 94°C durante 5 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 1 min, hibridación a 50°C durante 1 min, extensión a 72°C durante 2 min y extensión final de 10 min a 72°C. Los productos amplificados de cada muestra se visualizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.3% en buffer TBE 1X (Tris-Borato-EDTA) a voltaje constante (90V) durante 70-80 minutos con bromuro de etidio. Los primers que muestran su capacidad de producir patrones de bandas polimórficas y reproducibles para los aislamientos, se seleccionarán para un estudio más profundo de aislamientos del genero *Isaria* con el equipo “Fragment Analyzer[™] Automated CE system” (Advanced Analytical Technologies, Inc.) para la detección de los patrones polimórficos.

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Restricción y ligación de los adaptadores. Las etapas de restricción y ligación se realizaron con el AFLP Core Reagent kit (Invitrogen[™]) según las instrucciones del fabricante. Un total de 200 ng de ADN genómico fue digerido con 2 µl de la mezcla de endonucleasas (*EcoRI* y *MseI*) y 5 µl del tampón 5X durante 2 horas a 37°C. Las muestras se incubaron durante 15 min a 70°C posteriormente se colocaron en hielo. Para la ligación de fragmentos se utilizaron 24 µl de la solución de adaptador-ligación y 1 µl de la T₄ADN ligasa y se incubó durante 2 horas a 20°C. La



mezcla de restricción-ligación se diluyó diez veces con un tampón de TE y después se amplificó por PCR.

PCR Pre-selectiva. La PCR pre-selectiva se realizó utilizando los primers básicos, es decir, *MseI* o *MseI-A* y *EcoRI*. La amplificación por PCR se realizó en un volumen final de 20 μ l con 0,5 μ l de cada primers a 10 mM y 15 μ l de AFLP[®] amplification Core Mix (Applied Biosystems[®]) en las siguientes condiciones: 94°C durante 2 min; 94°C durante 20 s, 56°C durante 30 s, 72°C durante 2 min (30 ciclos); 72°C durante 2 minutos; 60°C durante 30 min. Después, la reacción se conservó a 4°C.

PCR selectiva. Diferentes combinaciones entre los primers *MseI* o *MseI-A* y 11 primers *EcoRI* fueron probados con el fin de seleccionar las mejores combinaciones. La amplificación selectiva por PCR se realizó en un volumen final de 10 μ l. La mezcla contenía 2 μ l de la mezcla de pre-amplificación, 0,25 μ l de cada primer a 10 mM y 7,5 μ l de AFLP[®] amplification Core Mix (Applied Biosystems[®]). La amplificación por PCR “touchdown” se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones: 94°C durante 2 minutos; 94°C durante 20 s, 66°C-57°C durante 30 s, 72°C durante 2 min (10 ciclos); 94°C durante 20 s, 56°C durante 30 s, 72°C durante 2 min (30 ciclos) y 60°C durante 10 min. Después, la reacción se conservó a 4°C.

Electroforesis capilar. La electroforesis capilar se realizó en el "Fragment Analyzer[™] Automated CE system" (Advanced Analytical Technologies, Inc.). Cuatro microlitros de los productos de PCR se combinaron con 20 μ l del tampón de dilución 1X TE del DNF-900 dsDNA Reagent Kit (Advanced Analytical Technologies, Inc.). Las muestras se procesaron en el Fragment Analyzer[™] Automated CE system bajo el método “DNA-900 Reagent Kit Method” con un voltaje de inyección de 7,5 kV durante 20 s.

Resultados

Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR). La primera parte de este trabajo permitió seleccionar un juego de 8 primers ISSR (i.e. HVH(TG)₇, (AG)₈T, (GTG)₅, (ACC)₆, (AGC)₆, (CCG)₆, (GGC)₆ y (GGAT)₄) mostrando patrones de bandas polimórficas y reproducibles para los diferentes aislamientos probados (Fig. 1). Este juego de primers produce una gran cantidad de bandas con un alto potencial informativo. La segunda parte de este trabajo, actualmente en curso, consiste en establecer el valor informativo de este juego de primer ISSR. Para alcanzar esta meta se seleccionaron 8 muestras del género *Isaria* caracterizadas a niveles morfológicos y moleculares, así como el uso del sistema “Fragment Analyzer[™] Automated CE”, que permite la detección de bandas con alta sensibilidad y resolución. El objetivo final del trabajo es la obtención de marcadores moleculares que permitan de manera sencilla y rápida la caracterización molecular de una gran parte de los aislados de HE resguardados en la CHE (i.e. a la fecha, la CHE aloja más de 400 aislados).

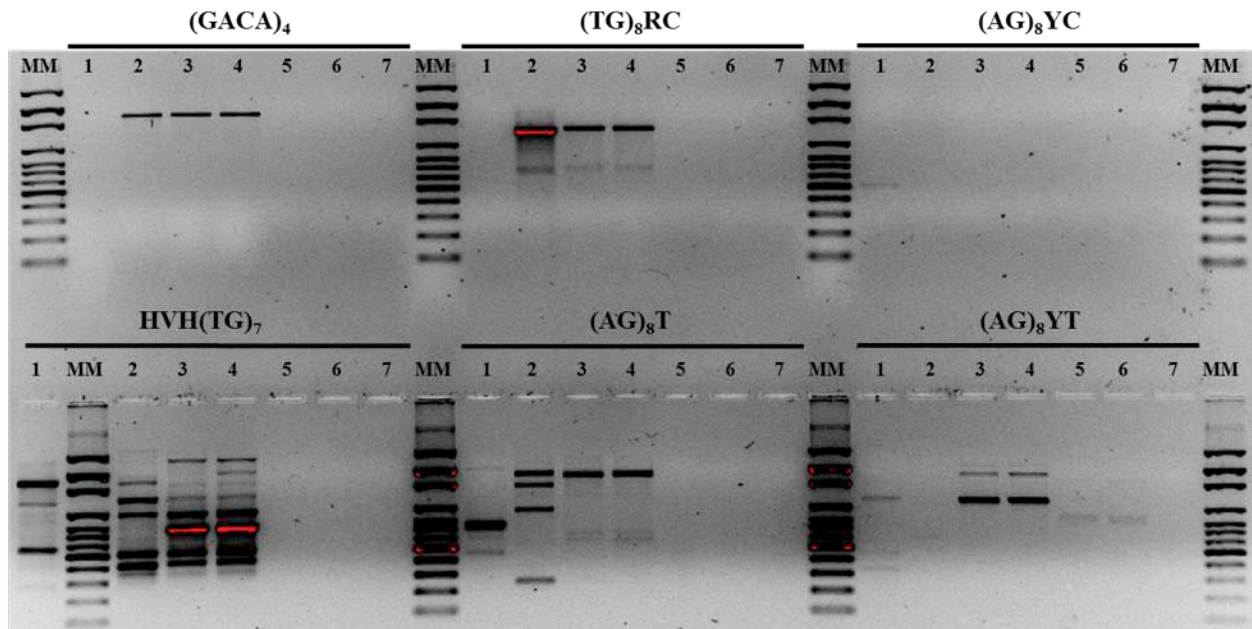


Figura 1. Patrones de bandas ISSR-PCR obtenidos con los cuatro aislamientos. Electroforesis en gel de agarosa al 1.3% en buffer TBE 1X (Tris-Borato-EDTA) a voltaje constante (90V) durante 80 minutos con bromuro de etidio. Para cada primer ISSR, 1: *Isaria farinosa* (CHE-CNRCB 393); 2: *Isaria fumosorosea* (CHE-CNRCB 394); 3: *Isaria amoeno-rosea* (CHE-CNRCB 395); 4: repetición biológica de *I. amoeno-rosea* (CHE-CNRCB 395); 5: *Paecilomyces carneus* (CHE-CNRCB 396); 6: repetición biológica de *P. carneus* (CHE-CNRCB 396); 7: control negativo. MM: marcador molecular de peso (100 pb; Axygen®).

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). El desarrollo de la técnica está actualmente en proceso en el LBM. Los primeros resultados, realizados con tres diferentes géneros de HE (i.e. *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria*), muestran una cantidad satisfactoria de fragmentos amplificados (i.e. +/- 40) y una buena reproducibilidad de los electroferogramas utilizando los primers pre-selectivos *MseI/EcoRI* y selectivos *MseI/EcoRI-AGC* (Fig. 2). Por lo contrario, el uso de los primers pre-selectivos *MseI/EcoRI* y selectivos *MseI/EcoRI-AGG* o *MseI/EcoRI-ACC*, no permiten la obtención de una buena cantidad de fragmentos. Finalmente, las combinaciones con los primers pre-selectivos *MseI-A/EcoRI-A* con cualquier otro primer selectivo no resultó con una buena reproducibilidad en los electroferogramas. La etapa siguiente, también en proceso, es probar los primers pre-selectivos *MseI/EcoRI* con una combinación de otros ocho primers selectivos *EcoRI* en asociación al primer *MseI*. El objetivo principal de este estudio es la obtención de 150-200 fragmentos polimórficos por cada género, permitiendo la evaluación de la estabilidad genética antes y después de implementar diferentes métodos de conservación de los HE.

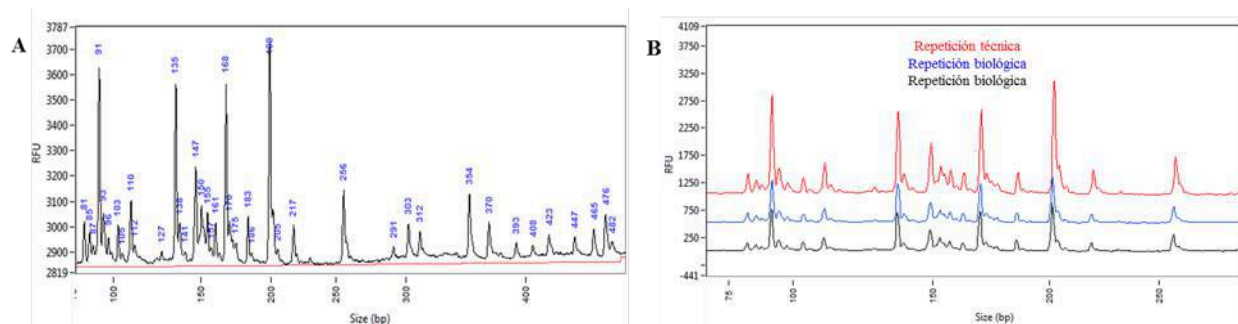


Figura 2. Electroferogramas obtenidos en el "Fragment Analyzer™ Automated CE system" (Advanced Analytical) con la muestra *Metarhizium anisopliae* (CHE-CNRCB 224) utilizando los primers pre-selectivos *MseI/EcoRI* y selectivos *MseI/EcoRI*-AGC. A: electroferograma representando el tamaño en pares de bases de los 40 fragmentos obtenidos. B: electroferograma representando la reproducibilidad de los primers con repeticiones biológicas y técnicas.

Conclusión

En conjunto, la estrategia multigénica empleada en la identificación molecular de los HE y el desarrollo de los marcadores moleculares ISSR y AFLP permiten responder a las diferentes necesidades de la CHE del CNRCB, en aspectos relacionados a la caracterización molecular de las cepas utilizadas en programas de control biológico y el resto de entomopatógenos que componen esta colección.

Literatura citada

- Inglis, G.D., Duke, G.M., Goettel, M.S. y Kabaluk, J.T. 2008. Genetic diversity of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* in southwestern British Columbia. *Journal of Invertebrate Pathology* 98: 101-113.
- Kale, S.M., Pardeshi, V.C., Gurjar, G.C., Gupta, G.S., Gohokar, R.T., Ghorpade, P.B. y Kadoo, N.Y. 2012. Inter-Simple Sequence Repeats markers reveal high genetic diversity among *Alternaria alternata* isolated of indian origin. *Journal of Mycology and Plant Pathology* 42: 194-200.
- Luan, F., Zhang, S., Wang, B., Huang, B. y Li, Z. 2013. Genetic diversity of the fungal pathogen *Metarhizium* spp., causing epizootics in Chinese burrower bugs in the Jingting Mountains, eastern China. *Molecular Biology Reports* 40: 515-523.
- Tigano-Milani, M.S., Honeycutt, R.J., Lacey, L.A., Assis, R., McClelland, M. y Sobral, B.W. 1995. Genetic variability of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. *Journal of Invertebrate Pathology* 65:274-282.
- Voyron, S., Roussel, S., Munaut, S., Varese, G.C., Ginepro, M., Declerck, S. y Marchisio, V.F. 2009. Vitality and genetic fidelity of white-rot fungi mycelia following different methods of preservation. *Mycological Research* 113: 1027-1038.



ESTUDIO DE LOS GENES EXPRESADOS DIFERENCIALMENTE EN LARVAS DE *Trichoplusia ni* (Lepidóptera:Noctuidae) INFECTADAS CON UN GRANULOVIRUS (TnGV).

María de los Ángeles Bivian-Hernández¹, Paloma Rubí Dávila Álvarez¹, Ma. Fabiola León-Galván¹, J. Eleazar Barboza-Corona¹ y María Cristina del Rincón-Castro¹. ¹Posgrado en Biociencias, Departamentos de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km. 9.0, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Gto. cdelrincon@ugto.mx

Resumen. El gusano falso medidor de la col es una plaga que ataca diversos cultivos sobre todo a las crucíferas las cuales son de considerable valor económico para la zona El Bajío. La infección tanto de Nucleopoliedrovirus (NPV) como de Granulovirus (GV) en larvas de *T. ni* está regulada por la expresión de genes. En el presente trabajo se realizaron macroarreglos, en ellos se pudo observar la disminución en la intensidad de hibridación conforme los tiempos pos infección se fueron incrementando, lo que indicó que, debido a la acción del granulovirus TnGV en las larvas de *T. ni*, hubo una disminución en la expresión de genes del insecto hospedero, es probable que exista una represión en la expresión de los genes propios de los insectos infectados con el virus TnGV. Este es el primer reporte de estudios de expresión diferencial *in vivo*, de un baculovirus perteneciente a los Granulovirus (*Betabaculovirus*) y sienta las bases para entender los mecanismos de inducción o represión de genes en los insectos, por parte del TnGV.

Palabras clave: hibridación sustractiva bajo condiciones de supresión, macroarreglos, *Trichoplusia ni*, granulovirus.

Introducción

El uso indiscriminado de insecticidas químicos ha incrementado considerablemente, sin embargo, por todos los problemas que ha acarreado el uso de estos productos al medio ambiente y a los consumidores, se han buscado alternativas más amigables y más eficaces; la alternativa es el uso de bioinsecticidas y particularmente el empleo de baculovirus. Los baculovirus ofrecen varias cualidades que han potenciado su uso como agentes de control biológico, por ejemplo, son capaces de causar epizootias naturales, persisten en el suelo por largos periodos de tiempo, son altamente específicos, infectan solamente artrópodos y casi en su mayoría insectos, no causan problemas residuales, no causan efectos dañinos en insectos no blanco (Rohrmann *et al.*, 2006, Cherry y Williams, 2001 y Caballero y Williams, 2008).

La caracterización de los perfiles de expresión de genes específicos de transcriptomas, ha permitido evaluar la expresión de los genes proporcionando los mecanismos necesarios para la identificación inicial y agrupamiento de secuencias de genes que pueden ser relacionados con la función asignada (Moody, 2001; Alba *et al.*, 2004). La identificación de mRNAs diferencialmente expresados ha contribuido al entendimiento de los mecanismos moleculares que regulan un proceso biológico. Dentro de los métodos que encontramos para el estudio de los genes que presentan diferencias de expresión podemos encontrar los arreglos de cDNA (macroarreglos) (Moody, 2001; Alba *et al.*, 2004).



Se sabe que existen numerosos genes que se expresan en los tejidos de los insectos infectados por baculovirus, pero se desconoce cuáles de ellos son inducidas por la infección viral. Debido a ello, en el presente trabajo se reporta el estudio de la expresión de genes diferenciales a partir de larvas de *Trichoplusia ni* infectadas con el Granulovirus TnGV (LBIV-12) a diferentes tiempos del ciclo pos infección, permitirá entender mejor los mecanismos moleculares que soportan la replicación de los baculovirus y su optimización, ya sea como vectores de expresión de genes eucarióticos o como biocontroladores de insectos plaga dentro de programas de control biológico.

Materiales y Métodos

Etiquetado de DNA con DIG DNA Labeling and Detection kit. Se agregaron 10ng - 3µg de DNA para un volumen final de 15 µL con agua destilada estéril. Se desnaturalizó el DNA en agua hirviendo por 10 min y se colocó rápidamente en hielo. Se agregaron 2 µL de hexanucleotidos 10X, 2 µL de dNTP's y 1 µL de enzima Klenow. Se mezcló y centrifugó. Se incubó de 1-20 h a 37°C con agitación suave. Se detuvo la reacción con 2 µL de EDTA 0.2 M pH 8 o calentando a 65°C por 10 min.

Determinación de la eficiencia del etiquetado. Se colocaron diluciones en membranas de nylon. Se fijaron ácidos nucleicos con transiluminador de luz UV por 5 min. Se transfirió la membrana a un contenedor con 20 mL de buffer de ácido maleico, se incubó 2 min a temperatura ambiente en agitación. Nuevamente se incubó por 30 min en 10 mL de solución de bloqueo. Se incubó 30 min en 10 mL de solución de anticuerpo. Se lavó con 10 mL de buffer de lavado por 2-5 min. Se incubó la membrana en 2 mL de solución de color-sustrato en un contenedor oscuro. Se detuvo la reacción cuando las intensidades fueron las deseadas ya sea lavando la membrana por 5 min en agua destilada, agua o buffer TE. Se documentaron resultados por fotografía.

Transferencia y fijación de DNA. Se desnaturalizó DNA en un baño María en ebullición por 10 min. Se colocó inmediatamente en hielo. Se colocaron 25 ng/µL de DNA en la membrana. Se fijaron con UV en el transiluminador por 5 min por cada lado.

Hibridación. Se pre-calentó un volumen apropiado de buffer DIG-Easy-Hyb (20mL/100 cm²) a la temperatura de hibridación (65°C). Se pre-hibridó la membrana por 30 min con agitación constante. Se desnaturalizó DNA marcado con digoxigenina (25 ng/ µL) por ebullición por 5 min y se colocó rápidamente en hielo. Se agregó DNA marcado al buffer DIG-Easy-Hyb y se mezcló. Se vació la solución de pre-hibridación y se agregó la mezcla DNA marcado-Buffer hibridación a la membrana. Se incubó toda la noche con agitación constante a 65 °C.

Lavados de astringencia. Se lavaron dos veces las membranas, 5 min en SSC 2X, 0.1 % SDS a 15-25 °C bajo agitación constante. Posteriormente se lavó dos veces, 15 min en SSC 0.5 X, 0.1% SDS (pre-calentar 65°C) bajo agitación constante.

Detección inmunológica. Se enjuagó la membrana brevemente (1-5 min) en buffer de lavado. Se incubó por 30 min en 100 mL de solución de bloqueo. Se incubó por 30 min en 20 mL de solución de anticuerpo. Se lavó dos veces por 15 min en 100 mL de buffer de lavado. Se



equilibró en 20 mL de buffer de detección de 2-5 min. Se incubó la membrana en 10 mL de solución color-sustrato. Se detuvo la reacción con 50 mL de TE por 5 min.

Resultados y Discusión

Para la primera biblioteca sustractiva, la cual constó de 36 clonas, se pudo observar en la Fig.1, que hubo una disminución en la intensidad de 21 clonas que hibridaron en la membrana DNA- cDNA a las 24 h s.i. y en la membrana DNA- cDNA a las 24 h p.i (Fig.2) se encontraron las mismas clonas pero en una menor intensidad.

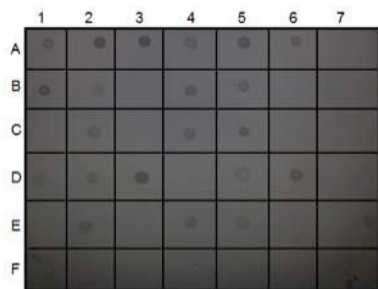


Figura 1. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (24 h si)

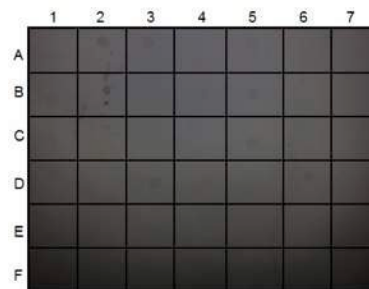


Figura 2. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (24 h p.i)

En cuanto a las segunda biblioteca sustractiva, perteneciente a las segunda condición, es decir, a las 48 h. Ésta constó de 21 clonas, de éstas, nueve hibridaron en la membrana DNA- cDNA a las 24 h s.i. (Fig.3) y en la membrana DNA- cDNA a las 48 h p.i (Fig.4) estas nueve clonas presentaron una disminución considerable en su intensidad.

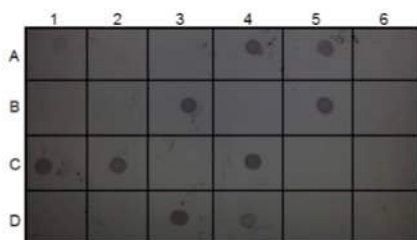


Figura 3. Macroarreglo Hibridación DNA- cDNA (48 h si)

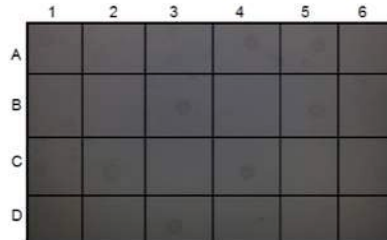


Figura 4. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (48 h p.i)

La tercera biblioteca sustractiva estaba construida por 16 clonas, de éste número, seis clonas hibridaron en la membrana DNA- cDNA a las 72 h s.i. (Fig.5), mientras que en la membrana DNA- cDNA a las 72 h p.i (Fig.6) estas mismas clonas estuvieron presentes pero en menor intensidad.

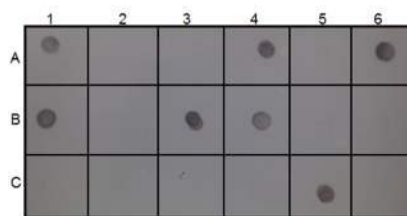


Figura 5. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (72 h si)

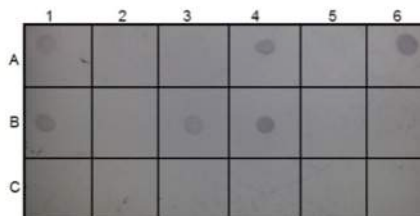


Figura 6. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (72 h p.i)



Para la cuarta biblioteca sustractiva, perteneciente a la condición de las 96 h, fue construida por 13 clona, de las cuales, doce hibridaron en la membrana DNA- cDNA a las 96 h s.i. (Fig.7), mientras que en la membrana DNA- cDNA a las 96 h p.i (Fig.8) estas mismas clonas disminuyeron drásticamente su intensidad.

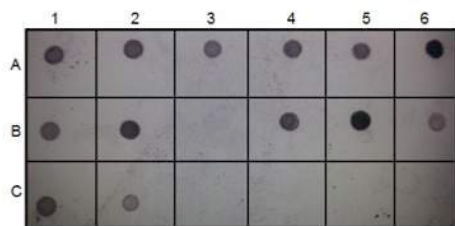


Figura 7. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (96 h si)



Figura 8. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (96 h p.i)

Para la última condición (120 h), la biblioteca sustractiva constó de un total de 23 clonas, de las cuales 20 hibridaron en la membrana DNA- cDNA a las 120 h s.i. (Fig.9), mientras que en la membrana DNA- cDNA a las 120 h p.i (Fig. 10) estas mismas clonas disminuyeron su intensidad

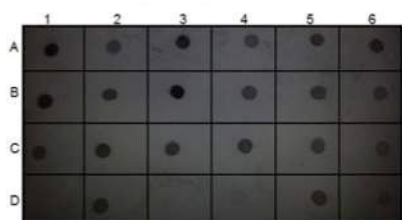


Figura 9. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (120 h si)

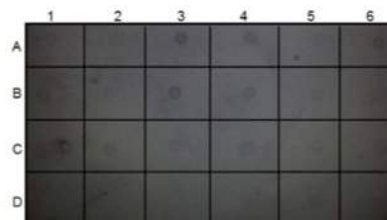


Figura 10. Macroarreglo. Hibridación DNA- cDNA (120 h p.i)

Los macroarreglos mostrados con anterioridad representan los resultados obtenidos a partir de la hibridación del correspondiente de cDNA con las clonas obtenidas en cada una de las bibliotecas sustractivas obtenidas a los diferentes tiempos pos-infección (desde las 24 hasta las 120 h). Se pudo observar que hubo una disminución en la intensidad de hibridación conforme los tiempos pos infección se fueron incrementando, lo que nos indicó que, debido a la acción del Granulovirus TnGV en las larvas de *T. ni*, hubo una disminución en la expresión de genes, es decir, hubo una notable represión de dichos genes en los tejidos de los insectos infectados con el virus TnGV.

Actualmente se han usado indiscriminadamente productos químicos para el control de insectos plaga en aquellos cultivos destinados a exportación; en la región El Bajío, el uso de estos productos ha provocado que plagas como *T. ni*. se vuelvan resistentes a éstos productos e incluso a bioinsecticidas a base de Bt (Wang *et al.*, 2006), aquí radica la importancia de buscar alternativas, como lo son los baculovirus. El Granulovirus LBIV12 es una muy buena alternativa, ya que es un virus nativo de ésta región.



Los mecanismos que regulan el ciclo de infección de los baculovirus en las larvas son muy complejos, ya que se tienen genes que constantemente están siendo activados y desactivados para hacer frente a dicha infección. El conocimiento de los genes que están involucrados en éste ciclo será de gran importancia para comprender los elementos que la regulan (Blom *et al.*, 2003).

Se han reportado trabajos por parte Sagisaka y colaboradores (2010), en los cuales se realizaron análisis de microarreglos del BmNPV infectado células de *B. mori*, en los cuales se reportó el incremento de 37 genes durante la transcripción y al mismo tiempo 17 disminuyeron su expresión. En el 2003, Yamagishi y colaboradores dilucidaron la expresión diferencial de seis genes con la ayuda de microarreglos, infectando líneas celulares de *Trichoplusia ni* y *Spodoptera frugiperda*. La diferencia entre estos trabajos y el presente es, que se utilizó el insecto como herramienta de trabajo y no una línea celular; otra diferencia fue el hecho de que no se trabajo con baculovirus modelo, sino que se estudió el TnGV.

De aquí la importancia del presente trabajo, ya que no se encuentran reportados trabajos sobre estudios de expresión diferencial de genes *in vivo* de *Betabaculovirus*. Es por ello que el análisis de macroarreglos hechos a partir de la biblioteca sustractiva de cDNA construida con anterioridad, sentará las bases para entender los mecanismos de inducción o represión de genes en los insectos por parte del TnGV, una vez que dichas clonas se manden secuenciar y de esta manera se pueda dilucidar qué tipo de genes se están reprimiendo o cuáles genes están siendo activados.

Agradecimientos. Los autores agradecen al CONACYT por la beca de posgrado otorgada a Ma. de los Angeles Bivián Hernández y de Licenciatura a Paloma Rubí Dávila Alvarez. Asimismo, por el financiamiento de la investigación a través del Proyecto de Ciencia Básica No.166586 “Estudio genómico y proteómico de baculovirus entomopatógenos del falso medidor de la col *Trichoplusia ni* en líneas celulares de insectos”.

Literatura Citada

- Alba R, Fei Z, Payton P, Liu Y, Moore SL, Debbie P, Cohn J, D’Ascenzo M, Gordon JS, Rose JKC, Martin G, Tanksley SD, Bouzayen M, Jahn MM, Giovannoni J. 2004. ESTs, cDNA microarrays and gene expresión profiling: tolos for dissecting plant physiology and development. *Plant J.* 39: 697-714.
- Blom O C, Airene J K y Grabherr R. 2003. Baculovirus display strategies: Emerging tolos for eukaryotic libraries and gene delivery. *Briefing in functional genomics and proteomics.* 2(3): 244-253.
- Caballero P y Williams T. 2008. Virus entomopatógenos. *Control biológico de plagas agrícolas.* De Jacas J A y Urbaneja A. Phytoma S. A. Valencia, España. 121-135.
- Cherry A y Williams T. 2001. Control de insectos plaga mediante baculovirus. En: los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Caballer P, López F M y Williams T. Phytoma S. A., Valencia, España. 389-450.
- Mooddy D E. 2001. Genomics techniques: an overview of methods for the study of gene expresión. *J Anim Sci* 79 (E. suppl.): E128-E135.
- Rohrmann F G, Okano K, Vanarsdall A L, Mikhailov V S. 2006. Conserved molecular systems of the Baculoviridae. *Virology* 344:77-87.
- Sagisaka A, Fujita K, Nakamura Y, Ishibashi J, Noda H, Imanishi S, Mita K, Yamakawa M, Tanaka H. 2010. Genome-wide análisis of host gene expresión in the silkworm cells infected with *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *Virus Research.* 147:166-175.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Wang P, Zhou Z J, Rodrigo S A, Kain W, Janmaat F A, Shelton M A, Ferré J y Myers J. 2006. Mechanism of Resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1Ac in a greenhouse Population of the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni*. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(4):1199-1207.
- Yamagishi J, Isobe R, Takebuchi T y Bando H. 2003. DNA microarrays of baculovirus genomes: differential expression of viral genes in two susceptible insect cell lines. *Archives of Virology*.148:587-597.



CLONACIÓN Y EXPRESIÓN DEL GEN *cry57Aa1* A PARTIR DE UNA CEPA ATÍPICA DE *Bacillus thuringiensis*

Oscar J. Ortiz-Arrazola^{1,2}, Ma. Cristina Del Rincón-Castro² y Jorge E. Ibarra¹. ¹CINVESTAV Unidad Irapuato, 36500 Irapuato, Gto. (jibarra@ira.cinvestav.mx). ²Departamento de alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Apdo. Postal 311, 36500 Irapuato Gto. México (cdelrincon@ugto.mx).

Resumen: El objetivo de este trabajo fue clonar al gen *cry57Aa1* de la cepa LBIT-979 serovariedad *kim* de *B. thuringiensis*, y corroborar su expresión en forma de cristales parasporales. Se diseñaron los oligonucleótidos Cry57D y Cry57R, colocando en los extremos las enzimas de restricción Sall y PstI. Se amplificó el fragmento de 1,830 pb del gen *cry57Aa1*. Se realizó una subclonación del fragmento del gen *cry57Aa1* en el vector pCR TOPO 2.1, y fue digerido con las enzimas de restricción Sall y PstI. El fragmento digerido se clonó en el vector de expresión pSTAB. Se realizó la transformación de las cepas acristalíferas proveniente de *B. thuringiensis serovariedad kurstak* (CryB) y *B. thuringiensis serovariedad israelensis* (4Q7) con el vector pSTAB y el fragmento del gen *cry57Aa1*. Los resultados obtenidos fueron: la expresión del fragmento del gen *cry57Aa1* en la cepa acristalífera 4Q7, obteniendo esporas de forma alargada de aproximadamente 1 μm y cristales que tienen forma de esferas pequeñas. La verificación de la expresión del gen se realizó con extracción de plásmidos por lisis alcalina de la cepa acristalífera, en la cual se obtuvo una banda de la construcción pSTAB/Cry57Aa1 de 9,254 pb, también se realizó un PCR para amplificar el fragmento *cry57Aa1* de 1,830 pb.

Palabras clave: oligonucleótidos *B. thuringiensis*, gen *cry57Aa1* pSTAB 4Q7

Introducción

Bacillus thuringiensis (Bt) es una bacteria que produce un cristal paraesporal proteico constituido por una o más proteínas Cry. Los genes que codifican para estas proteínas residen en plásmidos de alto peso molecular aunque también se ha reportado su localización en el cromosoma (Kronstad *et al.*, 1983). Se han encontrado proteínas Cry activas contra insectos lepidópteros (palomillas), coleópteros (escarabajos), dípteros (mosquitos), himenópteros (hormigas), ácaros y también contra otros invertebrados como nemátodos, gusanos planos y protozoarios (Cannon, 1996). Desde la década de 1980 se han realizado amplias investigaciones sobre la biología molecular de *B. thuringiensis* (Caballero y Ferré 2001). A partir de esto se han realizado la búsqueda de nuevas proteínas Cry con el fin de identificar proteínas más tóxicas las cuales posean actividad insecticida contra insectos plagas (Gleave *et al.*, 1992). Con técnicas como el PCR se ha desarrollado un sistema de tres juegos de iniciadores los cuales se basan en regiones conservadas de la familia *cry* de tres dominios. Con estos iniciadores se detectaron tres nuevos holotipos de genes *cry*: *cry57Aa1*, *cry58Aa1* y *cry59Aa1* (Noguera e Ibarra, 2010).

El descubrimiento de nuevos genes y desarrollo de vectores de clonación ha hecho posible la construcción de cepas recombinantes, mediante la eficacia de manipulación de genes de la proteína y la endotoxina. Esto se lleva a cabo por conjugación o transformación utilizando los



genes que codifican para las δ -endotoxinas de genes presentes en varias cepas nativas, ampliando así su espectro de actividad hacia otros insectos plaga (Caballero y Ferré 2001). El éxito de insecticidas bacterianos recombinantes ha aumentado el interés de la búsqueda de nuevas cepas para el control de diferentes insectos plaga y también en insectos vectores de enfermedades (Stock, 2009).

Materiales y métodos

Las cepas *B. thuringiensis* serovariedad *kim* LIBT-979, 4Q7 y Cry^B se cultivaron en condiciones de 28°C. La cepa *E. coli* Top 10 creció a 37°C. Para el diseño de los iniciadores de la secuencia *cry57Aa*, se utilizó el software AnnHyb Versión 4.942 (<http://bioinformatics.org/annhyb>), colocando en los extremos de los iniciadores las enzimas de restricción Sall y PstI, de la siguiente forma: Cry57D 5'aatgGTCGACatggggacatggtggcctacagattc3' y Cry57R 5'ttCTGCAGttaatttgataaaataattaataag3', con un amplicón esperado de 1,830 pb. Estos sitios permiten la inserción del amplicón en el vector pSTAB. La extracción de ADN plasmídico de Bt se realizó mediante la técnica de lisis alcalina y el ADN se examinó en un gel de agarosa al 0.6%. Para la amplificación del nuevo holotipo por PCR se utilizó un termociclador Applied Biosystems 2720. En la amplificación se utilizó la siguiente mezcla de reacción: 0.4 μ g de cada iniciador, 100 ng de ADN plasmídico, 3.5 mM de MgCl₂, 0.4 mM de dNTPs y 2.5 unidades de Taq DNA polimerasa, amortiguador 10X, bajo las siguientes condiciones de amplificación: 10 minutos de desnaturalización inicial a 95°C, 30 ciclos de 1 minuto a 95°C, 2 minutos para el alineamiento a 42°C, 1.50 minutos para la extensión a 72°C y por último 10 minutos a 72°C. Se examinó el producto de PCR en un gel de agarosa al 1%.

Los productos de PCR correspondientes al gen *Cry57Aa1*, se clonaron al vector pCR2.1 TOPO de Invitrogen como un paso previo a la clonación en el vector pSTAB. La ligación se colocó a una relación de 6:1 inserto:vector, utilizando la T4 ligasa (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. A la construcción se le denominó TOPO/Cry57Aa1. Se realizó la transformación de *E. coli* TOPO-10 por choque térmico. De las colonias derivadas de la clonación se realizó una extracción de ADN por lisis alcalina para verificar que se encontrara el plásmido (TOPO/Cry57Aa1). El ADN se examinó en un gel de agarosa al 0.6%.

La construcción TOPO/Cry57Aa1 fue digerida con las enzimas Sall y PstI; esto para crear los extremos cohesivos que se ligarían a sus respectivos sitios dentro del vector pSTAB. El vector pSTAB se digirió con las mismas enzimas que el inserto bajo las condiciones ya mencionadas. Para la ligación se utilizó T4 DNA ligasa de la casa Invitrogen. Los productos de ligación fueron clonados dentro de células *E. coli* TOPO 10 por choque térmico. La nueva construcción se nombró pSTAB/Cry57Aa.

Se realizó la transformación de las cepas acristalíferas Cry^B proveniente de *B. thuringiensis* *svar. kurstaki* y 4Q7 proveniente de *B. thuringiensis* *svar. israelensis*. Se agregó 3 μ g de la construcción pSTAB/Cry57Aa1 se utilizó una cubeta de electroporación de 0.2 cm, a la que se aplicó un pulso de choque eléctrico (1.5 kV, 400 Ohm, 25 μ F). Las células de Cry^B y 4Q7 se



dispersaron en medio para Métodos Estándar con eritromicina (5 $\mu\text{g/ml}$) para observar las colonias transformantes, la muestra se observó al microscopio de contraste de fases a 1000X.

Para la corroboración de la presencia del gen clonado en la cepa recombinante se realizó la extracción de ADN plasmídico (cepa acristalífera Cry^B) mediante la técnica de lisis alcalina. El ADN se examinó en un gel de agarosa al 0.6%. También se corroboró por PCR la presencia del gen clonado en la cepa recombinante se utilizó la misma mezcla de reacción y las mismas condiciones de amplificación antes mencionadas.

Resultados y discusión

Se realizó el aislamiento de plásmidos de la cepa silvestre LIBT-979 por el método de lisis alcalina y se obtuvieron cuatro bandas; las tres primeras de aproximadamente 6,500, 12,000 y 16,210 pb, respectivamente, la última banda es la correspondiente al ADN cromosómico. El PCR realizado al ADN de la cepa LIBT-979 bajo las condiciones antes mencionadas generó como resultado una banda de aproximadamente 1,830 pb. Una característica general de Bt es la presencia de plásmidos, de un tamaño que oscilan entre 2Kb a varios de cientos de Kb (González y Carlton, 1982). Estos plásmidos se pueden clasificar en dos grupos: plásmidos menores a 15 kb y los megaplásmidos mayores a 45 kb (Lereclus *et al.*, 1982). Se sabe que los plásmidos de elevado peso molecular contienen los genes *cry*, y no el DNA cromosómico (Carlton y González, 1985). Los genes *cry* tienen una secuencia codificante de entre 1,900 a 3,600 kb (Crickmore *et al.*, 1998).

La clonación del producto de PCR *cry57Aa1* de 1,830 pb en el vector pCR2.1 TOPO de 3,931 pb dio un total de 5,761 pb. La presencia del inserto se confirmó mediante la digestión con Sall y PstI el cual generó tres fragmentos, el primero de 2,734 pb que es parte del vector, el segundo que es de 1,855 pb que es el del inserto *cry57Aa1* y el tercero que es parte del vector ya que también tiene un sitio PstI de 1,190 pb. La clonación de productos de PCR en vectores como el pCR[®] 2.1TOPO es muy eficaz y se realiza en corto tiempo, debido a que funciona basado en la presencia de colas de timina presente en el vector y que se ligan en pocos minutos mediante la enzima topoisomerasa a las colas de adenina que son añadidas por la Taq polimerasa a los productos de PCR. Aunque el diseño de estos los iniciadores tienen en los extremos las secuencias que reconocen las enzimas de restricción, se decidió hacer una primera clonación, esto debido a que se realizaron intentos por digerir directamente el producto de PCR con las enzimas Sall y PstI, pero esto no fue posible debido a que no se tenían suficiente bases para que pudiese anclarse las enzimas de corte. Este problema se resolvió con el uso del vector pCR[®] 2.1TOPO ya que una vez clonado se pudo digerir con las enzimas de corte con las cuales se diseñaron los iniciadores, lo cual generó un fragmento de 1,830 pb.

El producto de digestión de las enzimas Sall y PstI de la construcción Topo/Cry57Aa1, corresponde al fragmento del gen *cry57Aa1* de 1,830 pb, se clonó en los sitios Sall y PstI del vector pSTAB. El fragmento se encuentra en la posición esperada según se confirmó mediante la digestión con las enzimas de restricción EcoRI y BglII, las cuales generaron una banda de 6,920



pb correspondientes al vector y la otra de 2,334 pb correspondientes al inserto y parte del vector. Se han desarrollado varios vectores de clonación para la construcción de cepas recombinantes tales como el pHT3101 (Lereclus *et al.*, 1989), el cual contiene orígenes de replicación para *B. thuringiensis* y *E. coli*, además de genes de resistencia a ampicilina y eritromicina. A partir de este vector de expresión, años más tarde se desarrolló el vector de clonación el cual contiene un promotor Cry 3A con una secuencia estabilizadora (STAB-SD) la cual optimiza la expresión de las proteínas Cry (Park *et al.*, 1998, 1999). Este vector de expresión combinado con los elementos genéticos, incrementa la expresión de las proteínas.

Una vez que se corroboró la correcta clonación del gen *cry57Aa1* en el vector pSATB, esta construcción se utilizó para transformar por electroporación las cepas acristalíferas 4Q7 y Cry⁻B de Bt. Debido a que no se logró obtener transformantes con la primera cepa, se presentan los siguientes resultados correspondientes a la transformación de la segunda cepa. La expresión del gen *cry57Aa1* se observó utilizando microscopía de contraste de fases, después de la autólisis (72 horas en medio de cultivo sólido Métodos Estándar con eritromicina 5 µg/ml). Las esporas y los cristales de la cepa recombinante se observaban casi juntos, las esporas son los óvalos refringentes que se encuentran de forma alargada de 1 µm de ancho y los cristales son los que tienen forma de esferas pequeñas (Figura 1). Los primeros métodos de transformación se basaban en un protocolo desarrollado para protoplastos de *B. subtilis*, pero en todos los casos el número de transformantes era muy bajo y los protocolos llevaban mucho tiempo. Otra técnica es la de conjugación que es la transferencia de plásmidos entre cepas, el cual mostró también ser poco eficiente (González *et al.*, 1982; González y Carlton, 1984). Cinco años más tarde, varios grupos diseñaron la transformación eficaz de las células vegetativas de *B. thuringiensis* mediante electroporación (Bone y Ellar, 1989; Lereclus *et al.*, 1989). En la electroporación, una descarga eléctrica de alto voltaje pasa a través de una suspensión celular, permitiéndose una permeabilidad transitoria de la membrana celular, lo que permite la entrada de ADN dentro de la célula con una eficiencia de 10^3 por 3 µg de DNA.

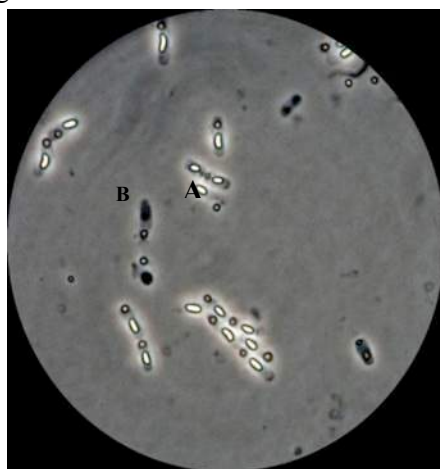


Figura 1. Morfología de la cepa recombinante pSTAB/cry57Aa1, en microscopio de contraste de fase 1000X: A. Espora de aproximadamente 1 µm de ancho B. Cristal en forma de esfera pequeña.



Para la verificación de la presencia del plásmido pSTAB/Cry57Aa1 en la cepa recombinante se realizó una extracción de plásmidos por lisis alcalina, obteniendo una banda de 9,254 pb, teniendo como control negativo una cepa la cual no fue transformada y que sólo se muestra el DNA cromosómico arriba de los 16,210 pb. También se realizó un PCR a la extracción de plásmidos de la cepa transformada para amplificar el fragmento *cry57Aa1* de 1,830 pb.

Agradecimientos. Los autores desean agradecer el excelente apoyo técnico de la M.C. Elia Regina Basurto Ríos y del Ing. Javier Luévano Borreol. El autor principal (OJOA) recibió beca de Ayudante de Investigador Nacional nivel 3, por parte de CONACYT.

Literatura citada

- Bone E. J. y D. J. Ellar. 1989. Transformation of *Bacillus thuringiensis* by electroporation. FEMS Letts. 58:171-178.
- Caballero, P. y J. Ferré. 2001. Bioinsecticidas: Fundamentos y aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* en el control integrado de plagas. España, Phytoma, 318 p.
- Cannon, R. J. C. 1996. *Bacillus thuringiensis* use in agriculture: molecular perspective. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 71: 561– 636
- Carlton B. C. y J. M. Gonzalez Jr. 1985. Plasmids and delta-endotoxin production in different subspecies of *Bacillus thuringiensis*. 246-252 p. En: J. A. Hoch y P. Setlow(ed), Molecular biology of microbial differentiation. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Crickmore, N., Zeigler, D.R. Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Dean, D.H. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 807-813.
- Gleave, A. P., R. J. Hedges y A. H. Broadwell. 1992. Identification of an insecticidal crystal protein from *Bacillus thuringiensis* DSIR517 with significant sequence differences from previously described toxin. J. Gen. Microbiol. 138: 55-62.
- González J. M., B. J. Brown y B. C. Carlton. 1982. Transfer of *Bacillus thuringiensis* plasmids coding for δ -endotoxin among strains of *Bacillus thuringiensis* and *B. cereus*. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 79:6951-6955.
- González J. M. y B. C. Carlton. 1984. A large transmissible plasmid is required for crystal toxin production in *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Plasmid11: 28-38.
- Kronstand J. W., H. E. Sxhnwopf, y H. R. Whiteley. 1983. Diversity of location for *Bacillus thuringiensis* crystal protein genes. J. Bacteriol. 154: 419-428.
- Lereclus, D., M. M. Lecadet, J. Ribier y R. Dedonder. 1982. Molecular relationships among plasmids of *Bacillus thuringiensis*: conserved sequences through 11 crystalliferous strains. Mol. Gen. Genet. 186: 391-398.
- Lereclus, D., O. Arantes, J. Chaufaux y M. M. Lecadet. 1989. Transformation and expression of a cloned δ -endotoxin gene in *Bacillus thuringiensis*. FEMS Letts. 60: 211-218.
- Noguera, P. A., y Jorge E. Ibarra. 2010. Detection of new *cry* of *Bacillus thuringiensis* by use of a novel PCR primer system. Appl. Environ. Microbiol. 76: 6150-6155.
- Stock P. S. 2009. Insect pathogens molecular approaches and techniques. MPG book Group.UK.434 pp.



DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE GENES *CRY* PRESENTES EN LA CEPA *Bacillus thuringiensis* BERLINER LBIT-1200

Yaritza Reinoso-Pozo, Nadin Lule-Chávez y Jorge E. Ibarra. CINVESTAV Unidad Irapuato. Km. 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León 36821 Irapuato Gto. México. jibarra@ira.cinvestav.mx

Resumen. Para combatir a las plagas de insectos en la agricultura se han implementado dos estrategias de lucha fundamentales: el control químico y el control biológico. El control químico contribuye al desarrollo de resistencia y a la contaminación del medio ambiente. Mientras que el control biológico se basa el uso de enemigos naturales para controlar una plaga de insectos en particular. *Bacillus thuringiensis* Berliner es considerada la bacteria entomopatógena por excelencia. La actividad insecticida de esta bacteria reside fundamentalmente en las proteínas Cry que se producen durante la fase de esporulación y son codificadas por genes *cry* que se encuentran contenidos en plásmidos. En el presente trabajo se realizó la detección e identificación de genes *cry* presentes en la cepa autóctona *B. thuringiensis* LBIT 1200 la cual presenta una alta toxicidad a los lepidópteros *M. sexta* y *T. ni*. Se determinó mediante PCR que la cepa contiene únicamente genes *cry1Ac*. Estos genes se traducen en proteínas Cry1Ac que presentan variaciones en su secuencia de aminoácidos, principalmente en la región que corresponde al dominio 3 de la delta endotoxina. El alineamiento de la secuencia de aminoácidos de la proteína Cry1Ac de la cepa *B. thuringiensis* LBIT 1200 con el resto de las proteínas Cry1Ac que están reportadas en bases de datos, arrojó que ésta puede ser un nuevo tipo de proteína Cry1Ac teniendo en cuenta los niveles jerárquicos de clasificación de las proteínas Cry. Además se determinó la CL_{50} de la cepa para *M. sexta* y *T. ni*. Los valores obtenidos fueron muy bajos en comparación con la cepa tipo *B. thuringiensis* HD73 y otras cepas que se emplean para el desarrollo de bioinsecticidas, lo que indica su alta toxicidad. Es posible que las sustituciones de aminoácidos detectadas en las proteínas Cry1Ac estén relacionadas con la alta toxicidad que muestra la cepa *B. thuringiensis* LBIT 1200.

Palabras clave: *B. thuringiensis*, genes *cry*, cepas nativas, *Manduca sexta*.

Agradecimientos. Los autores agradecen el excelente apoyo técnico de la M.C. Elia Regina Basurto Ríos y del Ing. Javier Luévano Borreol. La autora principal (YRP) recibe beca de posgrado del CONACYT.



OBTENCIÓN DE UN IRIDOVIRUS RECOMBINANTE MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE LA TOXINA CN10 DEL ESCORPIÓN *Centruroides noxius*, CON ACTIVIDAD HACIA LARVAS DE *Galleria mellonella*.

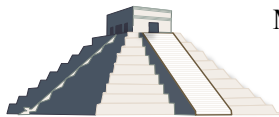
Flor Cristina Arellano-Villagómez¹, Jorge E. Ibarra² y Ma. Cristina Del Rincón-Castro¹. ¹Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Apdo. Postal 311, 36500 Irapuato, Gto., México (cdelrincon@ugto.mx) ²CINVESTAV Unidad Irapuato, 36500 Irapuato, Gto., México (jibarra@ira.cinvestav.mx). krizztina_13@hotmail.com

Resumen. Se estableció la metodología para obtener un iridovirus recombinantes *in vivo*, utilizando la técnica de bombardeo de micropartículas. Los genes que codifican para la proteína GFP y la proteína Cn10 fueron clonados en el gen 295L del iridovirus IIV-6. Las condiciones óptimas se estandarizaron para la co-transfección mediante el bombardeo de micro-proyectiles usando la construcción TOPO-295L-GFP-CN10 y el DNA genómico de Iridovirus IIV-6, en una proporción de 3:1 (vector: DNA genómico), la tasa más eficiente para obtener el Iridovirus recombinante de larvas de *Galleria mellonella*. Este Iridovirus recombinante expresó ambas proteínas, la GFP y Cn10. Utilizando microscopía de fluorescencia, se detectó una fluorescencia verde en algunas porciones de tejido graso de las larvas de *G. mellonella*. La expresión potencial de las proteínas GFP y Cn10 fue corroborada por SDS-PAGE, análisis de restricción y PCR. Este es el primer reporte de la obtención de un Iridovirus Recombinante de Invertebrados, que expresa un gen reportero (GFP) y un gen de virulencia (Cn10) y representa un sistema modelo para el mejoramiento genético de Iridovirus de Invertebrados.

Palabras clave: *Galleria mellonella*, Cn10, GFP, biobalística, Iridovirus Recombinante.

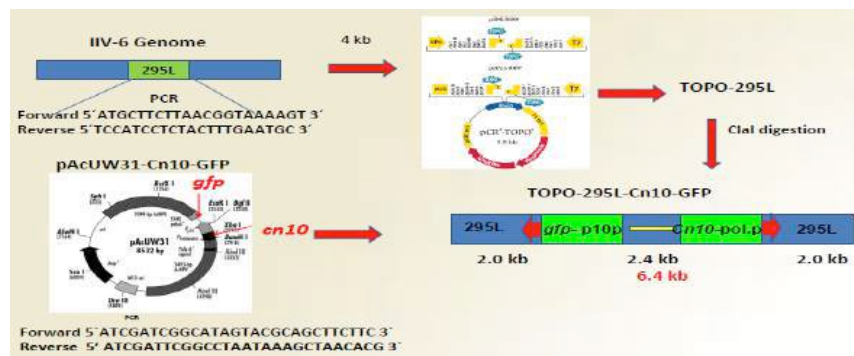
Introducción

En la actualidad la apicultura tiene un papel fundamental en la ganadería del país, tanto por la generación de importantes volúmenes de empleo, como por constituir la tercera fuente captadora de divisas del subsector ganadero (Cajero, 1999; SAGAR, 2000), debido a que México tiene una producción de miel de alta calidad, muy apreciada por sus propiedades, así como por su aroma, sabor y color, en diversos países de la Comunidad Económica Europea y en los Estados Unidos, sin embargo, dicha actividad se ve afectada seriamente por la galleriosis, ya que los panales son atacados por varias especies de mariposas, llamadas *Galleria mellonella*, que en estado larval cavan túneles para buscar polen, cera y restos de miel residual, destruyendo así los panales y usando indiscriminadamente los insecticidas químicos, no obstante, se tiene como alternativa el uso de agentes para el control biológico de plagas de insectos, a los Iridovirus, aunque se sabe poco de la forma en que actúan los Iridovirus, se conoce que la familia *Iridoviridae* puede causar enfermedades graves y como consecuencia provocar resultados económicos y ambientales de gran importancia, puesto que se ha observado que infectan plagas de insectos y numerosas especies de insectos vectores de importancia médica y veterinaria.



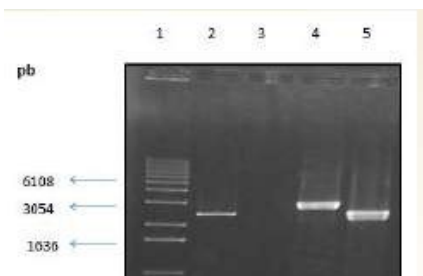
Materiales y Métodos

La Colonia de *Galleria mellonella* fue donada por el insectario del CINVESTAV, Unidad Irapuato. Las larvas se alimentaron con una dieta artificial y se mantuvieron en cámaras de crecimiento a $28 \pm 2^\circ \text{C}$, con un fotoperiodo 14:10 h y de 60 a 70% de humedad relativa. La cepa de Iridovirus IIV-6 se aisló del lepidóptero *Chilo suppressalis*, y fue donado por Trevor Williams (Instituto de Ecología, México). La construcción del Vector de Transferencia TOPO-295L-CN10-GFP quedó de la siguiente manera.

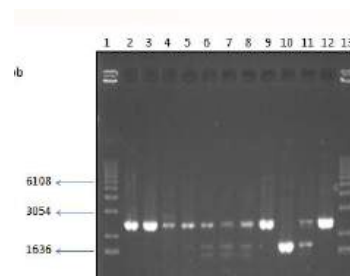


En la generación de un Iridovirus Recombinante se utilizó el sistema de bombardeo de micropartículas de alta presión PDS-1000/He Biolistics[®] (Bio-Rad Laboratorios, Inc. Hercules, CA), diseñado por Sanford *et al.* (1993). Las partículas de oro se recubrieron con diferentes proporciones (3:1, 5:1) de DNA TOPO-295L-Cn10-GFP y DNA genómico IIV-6 y se llevó a cabo un análisis del Iridovirus Recombinante, mediante un diagnóstico de la infección por iridovirus evaluado bajo el estereoscopio, donde el tejido graso iridiscente fue removido, el DNA total se extrajo y se confirmó por PCR la presencia de los genes *Cn10* y *gfp*.

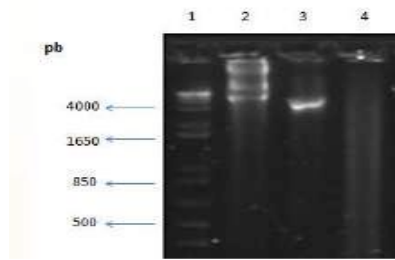
Resultados



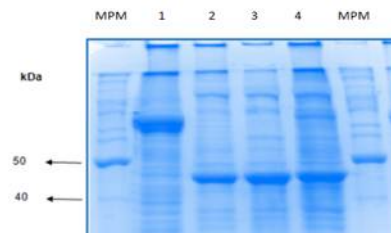
Amplificación por PCR de TOPO 4-Cn10-GFP con oligonucleótidos Cn10-GFP. Carril 1: 1 kb Ladder. Carriles 2 y 5: Fragmento de 2,4 kb correspondiente a ambos genes *Cn10* y *gfp*.



Amplificación por PCR de TOPO-295L-Cn10-GFP usando oligonucleótidos Cn10-GFP. Carril 1: 1 kb Ladder. Carriles 2, 3 y 12 Clonas TOPO- 295L-Cn10-GFP con un amplicón esperado de 2,4 kb.



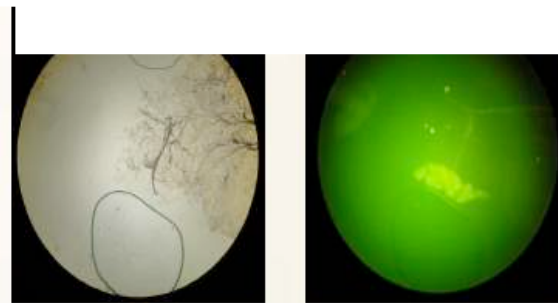
Amplificación por PCR de TOPO-295L-Cn10- GFP usando oligonucleótidos 295L. Carril 1: 1 Kb Ladder plus. Carril 2: TOPO 295L-Cn10-GFP amplicón esperado de 6,4 Kb. Carril 3: TOPO-295L amplicón esperado de 4 Kb. Carril 4: Control negativo.



Análisis proteico en gel SDS poliacrilamida. Carril 1. MPM Bench Mark. Carril 2. Larva sana (control negativo). Carril 3. Larva infectada con IIV-6 Silvestre (control positivo). Carril 4. Larva recombinante R2. Carril 5. Larva recombinante R11. Carril 6. MPM Bench Mark.



Larva de *Galleria mellonella* infectada con el Iridovirus Recombinante IIV-6-Cn10-GFP.



Tejido graso infectado con el Iridovirus Recombinante IIV-6-Cn10-GFP a) Microscopía con luz blanca b) Microscopía de fluorescencia.

Discusión

Existen pocos reportes de virus entomopatógenos recombinantes, dentro de estos, los baculovirus son los que se han mejorado genéticamente de forma exitosa, debido, entre otras razones, a la existencia de líneas celulares de insectos y al desarrollo de la tecnología de los baculovirus como vectores de expresión (Miller, 1988). De tal manera que se han podido insertar y expresar genes insecticidas de muy diferentes tipos (hormonas, toxinas, reguladores, etc.) dentro del genoma del AcNPV y del BmNPV (López Ferber y Del Rincón Castro, 2001). Esto se ha podido lograr, entre otras razones, debido al hecho de que se cuenta con un sistema de cultivo *in vitro* para la replicación de ambos virus. Posiblemente la carencia de líneas celulares susceptibles para otros virus entomopatógenos, sea una de las principales razones por las cuáles estos aún no se han desarrollado. Para suplir esta desventaja, solo existe un reporte en donde se ha utilizado a los insectos completos como mecanismo de obtención de granulovirus recombinantes (uno de los géneros de los Baculovirus), que expresen la proteína verde fluorescente o GFP, utilizando la técnica de biobalística (Obregón *et al*, 2007). Actualmente, no existen reportes de miembros de la Familia Iridoviridae recombinantes, con la excepción de un trabajo publicado recientemente por Huang y colaboradores (2011), quienes lograron obtener un Iridovirus recombinante aislado de tortugas, el cual tenía fusionado el gen de la proteína verde fluorescente a una proteína de la



envoltura de este virus. Los autores denominaron a este virus como recombinante EGFP-STIV. Ellos reportaron que este virus no presentó cambios en su distribución celular ni a nivel estructural. Cabe destacar que este es un virus aislado de un vertebrado y no existe un solo reporte que mencione la obtención de un Iridovirus recombinante aislado de invertebrados. Hasta la fecha, solo existe un reporte relacionado con la utilización de insectos transformados genéticamente, mediante la técnica de biobalística y este consistió en la co-transfección de DNA del baculovirus AcNPV y un plásmido que llevaba la proteína verde fluorescente (Obregón *et al*, 2007), pero jamás se ha reportado la obtención de un Iridovirus recombinante en insectos completos, bajo ninguna técnica. De tal manera que este es el primer reporte de un iridovirus genéticamente modificado, por otro lado, existen pocas líneas celulares que soporten la replicación de los Iridovirus, y estas se han utilizado para la propagación de Iridovirus de vertebrados, principalmente de sapos y ranas (Chinchar *et al*, 2011).

Este trabajo reporta por primera vez la utilización exitosa de la proteína GFP y de la proteína Cn10 dentro del genoma del Iridovirus IIV-6, la primera como un gen marcador y la segunda, como un gen con actividad insecticida hacia las larvas de *G. mellonella*, y representa el primer reporte de un iridovirus recombinante de invertebrados mejorado genéticamente. Adicionalmente, la visible expresión de las proteínas GFP y Cn10, en algunos tejidos de los insectos co-transfectados con el DNA del vector de transferencia y el DNA total del IIV-6, evidenció que este puede ser un sistema modelo para la posterior obtención de Iridovirus recombinantes de invertebrados, los cuales expresen otros genes con mayor actividad bioinsecticida, sin embargo, se necesitan más estudios a nivel molecular, tales como la secuenciación del genoma del Iridovirus Recombinante IIV-6, realizar bioensayos y análisis de tipo Western Blot para corroborar la inserción del gen *gfp* y *Cn10* en el genoma Iridovirus IIV-6. Finalmente, este trabajo de tesis sienta las bases para la obtención de Iridovirus recombinantes de invertebrados en general, ya que el vector de transferencia que se construyó, puede ser empleado en el futuro para la inserción de genes o toxinas que afecten directamente a plagas susceptibles, en las cuales los iridovirus causen infecciones naturales. Dentro de estas plagas podemos mencionar a algunos insectos lepidópteros importantes en la agricultura y apicultura, tales como *Galleria mellonella*, *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* (Williams, 2008). Asimismo, también se pueden incluir a insectos coleópteros que son plagas de suelo como la gallina ciega, e incluso en insectos dípteros que representen a plagas de importancia médica, tales como los mosquitos del género *Aedes*.

Agradecimientos

Al CONACyT, por la beca otorgada durante mis estudios de Maestría en Biociencias y a la Universidad de Guanajuato, Campus DICIVA, por la maravillosa experiencia de pertenecer a la comunidad UG.

Literatura Citada

Cajero Avelar, Salvador. 1999. Situación actual de la apicultura mexicana y sus perspectivas. Memorias del primer foro de proyectos integrales. Sistema Producto Miel. Mérida: consejo Nacional de ciencia y Tecnología-Sistema de Investigación Justo Sierra (SISIERRA)- Universidad Autónoma de Yucatán (UADY).



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Chinchar V. Gregory, Kwang H. Yu and James K. Jancovich. 2011. The Molecular Biology of Frog Virus 3 and other Iridoviruses Infecting Cold-Blooded Vertebrates. *Viruses*.3: 1959-1985.
- Huang Y, Huang X, Cai J, Ye F, Guan L, Liu H, Qin Q. 2011. Construction of green fluorescent protein-tagged recombinant iridovirus to assess viral replication. *Virus Res*.160(1-2):221-9.
- López-Ferber, Miguel, y Ma. Cristina Del Rincón Castro. 2001. Baculovirus recombinantes en control integrado. p. 225-255. En: Primitivo Caballero, Miguel López Ferber y Trevor Williams (Eds.). Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. PHYTOMA-Universidad Pública de Navarra. Pamplona, España.
- Miller L. K. 1988. Baculovirus as gene expression vectors. *Ann. Rev. Microbiol.* 42: 177-199.
- Obregón-Barboza Verónica, Ma. Cristina Del Rincón-Castro, José L. Cabrera-Ponce and Jorge E. Ibarra. 2007. Infection, transfection, and co-transfection of baculoviruses by microprojectile bombardment of larvae. *Journal of Virological Methods*. 140: 124-131.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2000. Situación actual y perspectiva de la producción apícola en México.
- Williams, T. 2008. Iridovirus of invertebrates. *Encyclopedia of Virology*, Third Edition. V. 3: 161-167.



**EVALUACIÓN PATOGENICA DE *Bacillus thuringiensis*
(BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE EL NEMATODO INTESTINAL
Ancylostoma caninum (STRONGYLIDA: ANCYLOSTOMATIDAE)**

Emmanuel D. Guzmán-Díaz¹, Guadalupe Peña-Chora², Claudia Hallal-Calleros³, Víctor M. Hernández-Velázquez¹, Fernando I. Flores-Pérez³. Universidad Autónoma del Estado de Morelos Av. Universidad Col. Chamilpa Cuernavaca, Morelos, C.P 1101, ¹Centro de Investigación en Biotecnología, ²Centro de Investigaciones Biológicas, ³Facultad de Ciencias Agropecuarias. dunstand_ipalogy@outlook.com

Resumen. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto patogénico de las cepas D-3 y GP526 de *Bacillus thuringiensis*, la primera aislada de un cadáver de *Ancylostoma sp.*, la segunda del nematodo *Meloidogyne sp.*, evaluando su toxicidad sobre la etapa adulta del parásito *Ancylostoma caninum*, utilizando el complejo espora cristal producido por los bacilos, mencionadas cepas pertenecen a la colección del laboratorio de control biológico del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. El modelo experimental fue totalmente al azar con dos variables independientes, presentando bioensayos con un grupo control el cual solo tendrá 200µl de medio RPMI 1640 implementado con suero canino inactivado al 15% con estreptomycin, ensayando 10 parásitos (5 machos y 5 hembras) en placas de micro titulación de 96 pozos, realizándose cuatro repeticiones de tres replicas, igualmente para el grupo tratado con *B. thuringiensis* a concentraciones de 60 y 135 µg/ml. Los resultados preliminares de estas cepas tras 24 horas de inmersión causaron la siguiente mortalidad; el grupo control no supero el 20% mientras tanto las cepas de *B. thuringiensis* D-3 a 135 µg/ml causó un 23.54% de mortalidad y la GP526 obtuvo un resultado de 16.87%, que comparado con el grupo control no refleja diferencia significativa. Sin embargo al disminuir la concentración a 60 µg/ml la cepa D-3 aumento su toxicidad 1.5 veces superior a la primera concentración de 135 µg/ml de igual manera se observo un aumento en el efecto toxico causado por la cepa GP526 con 44.21% de mortalidad, lo que resulta una diferencia significativa respecto al grupo control por parte de ambas cepas sobre este nematodo en su etapa adulta (P<0.001) mediante ANOVA post prueba de Kruskal-Wallis. Esto demuestra el potencial nematicida de *B. thuringiensis* para este helminto intestinal utilizando el control biológico en parásitos de mamíferos.

Palabras clave. *Bacillus thuringiensis*, control biológico, *Ancylostoma caninum*, nematicida.



EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ENZIMAS EXTRACELULARES EN HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.

Christian M. Pech-Chuc, Aida Martínez-Hernández, Joel Lara-Reyna. Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Carretera Haltúnchen - Edzná km. 17.5 Sihochac, Champotón, Campeche

Resumen. Un total de 20 aislamientos obtenidos de diferentes regiones del estado de Campeche, fueron aisladas, identificadas y caracterizadas. En cada región donde se muestreó suelo, se colectaron aproximadamente 10 muestras recuperando 100 gr de suelo considerando únicamente los primeros 10 cm de suelo, retirando aproximadamente 2 cm de suelo antes de tomar la muestra. De cada muestra, fueron procesados 10 gr diluyéndolos 10 veces con agua destilada estéril (w/v). La cajas fueron cultivadas a 28°C durante 5 días. Se recuperaron cultivos monospóricos y fue evaluada su patogenicidad hacia insectos. Los aislamientos que fueron recuperados a partir de insectos micosados, fueron esterilizados superficialmente con hipoclorito de sodio (0.05%) y sembrados en en cajas Petri con medio Sabourad (Difco™) e incubados a 28°C durante 5 días.

La identificación se realizó mediante claves morfológicas y la confirmación se hizo molecularmente por medio de la amplificación y secuenciación de ITS rADN. Mediante el uso de la amplificación al azar de fragmentos polimórficos (RAPD) se analizó su diversidad entre especies y entre aislamientos. La producción enzimática de once aislamientos fue evaluada también mediante el uso del sistema comercial API-ZYM con el cual se estableció un tiempo de lectura.

Análisis de BLASTn de las secuencia obtenidas, confirmó que las especies encontradas correspondieron a once cepas a *Beauveria bassiana*, siete a *Metarhizium anisopliae*, uno a *Paecilomyces* y uno a *Cordyceps cardinalis* el cual es el primer registro en el país. El análisis de RAPD indicó una diversidad genética entre los aislamientos, con un promedio de 98% de similitud en los aislamientos de *B. bassiana* y un 75% de similitud en los aislamientos de *M. anisopliae*. El análisis enzimático mostró perfiles de expresión enzimática similares entre aislamientos de la misma especie; sin embargo no hubo un solo perfil enzimático que se repitiera entre los 19 aislamientos, lo cual confirma las diferencias genéticas encontradas. Los resultados mostraron que los aislamientos de *Beauveria* tienen actividad a 9 de las 19 enzimas evaluadas. Los aislamientos de *Metarhizium* tuvieron actividad a 11 de las 19 enzimas. La cepa de *C. cardinalis* a 5 de 19 enzimas, y la cepa *P. fumoroseus* a 8 de las 19 enzimas evaluadas. Se evaluó la actividad enzimática en función del tiempo (12, 24, 36, 48 y 96 h), y se concluyó que no solo hay diferencias en el tipo de enzimas entre aislamientos de la mismas especie, sino que según evoluciona el cultivo las enzimas se expresan diferencialmente variando los niveles de expresión.

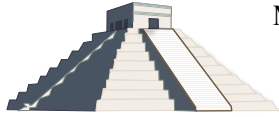
Palabras clave: entomopatógenos, ITS rADN, RAPD, enzimas extracelulares, actividad enzimática, APIZYM.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



SESIÓN DE CARTELES



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ENTOMOPATÓGENOS

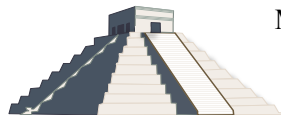


ANTAGONISMO *in vitro* DE *Trichoderma asperellum* (HYPOCREALES: HYPOCREACEAE) FRENTE A *Stromatinia cepivora* (HELOTIALES: SCLEROTINIACEAE) ASOCIADOS AL CULTIVO DE LA CEBOLLA EN COSTA RICA

William Rivera-Méndez¹, Claudia Zúñiga-Vega, Jaime Brenes-Madriz. ¹Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Central Cartago, Costa Rica. 506 2555 9994. wirivera@itcr.ac.cr

Resumen. El hongo *Stromatinia cepivora* es el agente causal de la principal enfermedad que afecta a los cultivos de cebolla y ajo; la pudrición blanca. En Costa Rica las pérdidas asociadas pueden llegar incluso hasta un 39% del total de la cosecha proyectada. Los fungicidas utilizados comúnmente han mostrado una gran pérdida de eficacia en el control (tebuconazol y cyproconazol) a lo largo de los años, a tal punto que los productores están buscando nuevas alternativas de control. El objetivo principal de la investigación fue determinar las diferencias en el antagonismo *in vitro* de las diferentes cepas aisladas de *Trichoderma asperellum* sobre distintas cepas de *Stromatinia cepivora*. En el año 2012 se obtuvieron aislamientos del hongo antagonista *Trichoderma sp.* asociados a esclerocios del patógeno en zonas productoras. Se identificaron molecularmente y se sometieron a pruebas de antagonismo *in vitro* mediante cultivo dual en Placa Petri frente a distintas cepas de *S. cepivora* aisladas previamente de distintas zonas productoras de cebolla. En total se usaron 4 cepas de *Trichoderma asperellum* frente a tres distintos aislamientos de *S. cepivora*. El análisis de datos del porcentaje de inhibición de crecimiento radial mostró que existe interacción entre las cepas del biocontrolador con las cepas del fitopatógeno ($p < 0.0001$), además se encontraron diferencias significativas de los resultados dentro del grupo de cepas del biocontrolador y también en el grupo de las cepas del fitopatógeno ($p < 0.0001$). De las interacciones evidenciadas se determinó que las cepas 2 y 8 del patógeno son las que sufrieron la mayor inhibición en su crecimiento (al ser enfrentadas a las cepas 4 y 8 del bio-controlador), pero también estas cepas fueron las que crecieron más al ser expuestas a las cepas 2 y 3 de *Trichoderma*. Esto evidencia que una gran parte de las diferencias observadas en los porcentajes de inhibición pueden ser atribuidas a los mecanismos de antagonismo desplegados por los distintos aislamientos de *Trichoderma* más que a mecanismos de resistencia de *Stromatinia*.

Palabras clave: Control biológico, *Trichoderma asperellum*, Cebolla, *Stromatinia cepivora*, antagonismo, PICR.



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD TÓXICA DE CEPAS NATIVAS DE *Bacillus thuringiensis* AISLADAS DE YUCATÁN CONTRA *Trichoplusia ni*, *Spodoptera exigua* y *Helicoverpa zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

José Fernando Ornelas-Pérez¹, María Guadalupe Maldonado-Blanco¹, **Orquídea Pérez-González¹**, Myriam Elías-Santos¹, Mónica Guadalupe Lozano Contreras² y Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹. ¹Instituto de Biotecnología, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Ciudad Universitaria, C.P. 66450, San Nicolás de los Garza Nuevo León. ²INIFAP Campo Experimental Mocochoá, Carretera Mérida-Motul, Km 25, Mérida Yucatán. fernaornelas@gmail.com.

Resumen. El aislamiento y desarrollo de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) proveen una valiosa herramienta biotecnológica en la búsqueda de actividades tóxicas superiores contra *Trichoplusia ni*, *Spodoptera exigua* y *Helicoverpa zea*, plagas causantes de grandes pérdidas económicas en diversos cultivos. En este trabajo se evaluaron la toxicidad de 24 aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* provenientes de suelo de Yucatán contra larvas del primer instar de los insectos mencionados. Las cepas aisladas de *Bacillus thuringiensis* fueron cultivadas en medio a base de melaza, líquido de remojo de maíz y harina de soya para la producción del complejo espora-cristal durante 3 días a 30°C y 200 rpm. Después de la extracción del complejo espora-cristal, se realizaron bioensayos preliminares contra larvas neonatas de *Trichoplusia ni*, *Spodoptera exigua* y *Helicoverpa zea* utilizando concentraciones en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de 50, 5 y 0.5 en dieta artificial Shorey, a partir de estos se seleccionaron 8 cepas nativas para la determinación de las CL_{50} donde se utilizaron como cepas de referencias la HD-1, GM-7, IB-7 e IB-62, las cuales se conocen como altamente tóxicas para los insectos probados y fueron proporcionadas por el Instituto de Biotecnología (FCB-UANL). En la comparación de medias de las CL_{50} de las cepas nativas contra las de referencia se encontró a la cepa YUC-5 significativamente más tóxica contra *Trichoplusia ni* que la HD-1 y la GM-7, mientras que contra *Spodoptera exigua* resultó similar a las anteriores. Finalmente la cepa YUC-17 demostró mayor actividad tóxica contra *Helicoverpa zea* aunque no superó a las cepas de referencia HD-1, GM-7, IB-7 e IB-62.

Palabras clave. *Bacillus thuringiensis*, *Trichoplusia ni*, *Spodoptera exigua*, *Helicoverpa zea*.



EFFECTIVIDAD DE *Cordyceps bassiana* Y *Metarhizium anisopliae* (Ascomycetes) PARA EL CONTROL DE *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) EN *citrullus lanatus* (Cucurbitaceae) EN CAMPO

Roberto Lezama-Gutiérrez¹, Janneth Cárdenas-De la Mora¹, Cesar Andrés Angel-Sahagún², Heraclio Castrejón-Agapito¹, Juan José Peralta-Manzo¹, Miguel Angel Barreto-Torres¹ y Francisco Radillo-Juárez¹. ¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecmán, Colima, México. rlezama@ucol.mx. ²Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km. 7 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato. sahagun01@yahoo.com.mx

Resumen. Se evaluó la efectividad de siete cepas de *Cordyceps bassiana* (Bals.) Vuill. y una de *Metarhizium anisopliae* (Mtesch.) Sor. (Ascomycetes) en el control de *Tetranychus urticae* (Koch), en el cultivo de sandía, en campo. Los hongos de la Colección de la Universidad de Colima se multiplicaron en Sabouraud dextrosa gar y extracto de levadura y de forma masiva en granos de arroz. El experimento se estableció en bloques completos al azar, con 9 tratamientos y cuatro repeticiones. Cada parcela experimental constó de tres camas con 3.2 m de separación entre ellas, 90 cm de ancho cada una y 10 m de longitud; las plantas fueron colocadas a doble hilera, a una distancia de 52 cm entre ellas. La parcela útil fueron las plantas de la cama central. Se realizaron cinco aplicaciones de los tratamientos, mediante aspersion manual con mochila de motor, cada ocho días, a la concentración de 1×10^8 conidios/ml ($= 2 \times 10^{13}$ conidios/ha). Se contabilizó el número de huevos, ninfas y adultos por hoja, antes y 3 días después de cada aplicación de los tratamientos. Las cepas presentaron una efectividad comprendida entre 23 al 68 %, en la reducción de la densidad de ácaros y las cepas Cb 174, Cb 124 y Cb 44, fueron las más efectivas.

Palabras clave: *Tetranychus urticae*, *Cordyceps bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, control biológico, *Citrullus lanatus*.

Introducción

El ácaro de dos manchas, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es una plaga que causa daños severos en diversos cultivos agrícolas en el mundo (Sakai *et al.*, 2012); ataca a más de 900 especies de plantas (Flores *et al.*, 2011); su control con productos químicos es difícil, debido a su inaccesibilidad por el envés de las hojas, pero también al ciclo de vida corto (una a dos semanas), su tasa reproductiva alta, condiciones climáticas adecuadas para su desarrollo y la resistencia que presenta hacia los acaricidas más comunes (Yorulmaz y Ey, 2009). En el estado de México, *T. urticae* es la plaga que limita la producción de rosas (*Rosa* sp.) (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2011); en Nayarit afecta al fruto de papaya (*Carica papaya* L.) y demerita su calidad comercial (Flores *et al.*, 2011), en Michoacán, Jalisco y Querétaro ocasiona daños en fresa (*Fragaria* sp.) (SAGARPA, 2011); en Colima ataca sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.), chile (*Capsicum* sp.), calabacita (*Cucurbita pepo* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), melón (*Cucumis*



melo L.) y jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) (SAGARPA, 2011), banano (*Musa* sp.), Citricos, Papaya, zarzamora (*Rubus* sp.) L.), entre otros.

El control químico no ha sido suficiente para disminuir las altas infestaciones de ácaros de dos manchas, por lo que es urgente la búsqueda de alternativas de control (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2011), una de ellas es el control biológico, mediante el uso de hongos entomopatógenos (Aslam *et al.*, 2004), organismos que tienen potencial de uso como agentes de control biológico de ácaros (Tamai *et al.*, 2002). En México no se tienen estudios relacionados con la evaluación y uso de hongos entomopatógenos para el control de ácaros fitófagos en hortalizas bajo condiciones de campo; Lezama-Gutiérrez *et al.*, (2013) evaluaron en laboratorio 20 cepas del hongo *Cordyceps bassiana* (Bals.) Vuill., y 20 de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor., sobre adultos de *T. urticae* a la concentración de 1×10^8 conidios/mL y reportó una mortalidad de hasta 100% con *C. bassiana* y 89 % con *M. anisopliae*. También, Lezama-Gutiérrez *et al.* (2014) reporta la virulencia de 9 cepas de *C. bassiana* y dos de *M. anisopliae* y encuentra valores de CL_{50} para las cepas de *C. bassiana* comprendidos entre 2.2×10^4 a 7.7×10^5 conidios/ml; dos cepas de *M. anisopliae* (cepas Ma 165) valores de 3.9×10^5 a 1.1×10^5 conidios/ml, respectivamente. En el presente estudio se reporta la efectividad de siete cepas *C. bassiana* y una de *M. anisopliae* para el control de *T. urticae*, en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus*) en condiciones de campo.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en dos etapas; una en el Laboratorio de Control Biológico No. 1, de Patología de Insectos y Ácaros, de la Universidad de Colima y la segunda etapa, en campo en una parcela comercial con sandía (*C. lanatus*), variedad *Máxima* (Semini, S.A. de C.V.). Los hongos entomopatógenos utilizados forman parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos de la DES: Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima y son 7 cepas de *C. bassiana* (Cb44, Cb 124, Cb 168, Cb 174, Cb 190, Cb 235 y Cb 331) y la cepas Ma 165 de *M. anisopliae*; todas aisladas de diferentes insectos, de los estados de Jalisco y Colima. Los hongos se multiplicaron en agar dextrosa Sabouraud, con 1% (p/v) de extracto de levadura y 500 ppm de cloranfenicol (SIGMA-ALDRICH); se incubaron a $25 \pm 1^\circ$ durante 21 días (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006). Los conidios se recolectaron en agua destilada estéril con Tween 80 (Hycel de México, S.A. de C.V.) al 0.1% (v/v) y se agitaron durante 3 min, para individualizar los conidios (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006).

La producción masiva se llevó a cabo en granos enteros de arroz (*Oryza sativa* L.) (Gindin *et al.*, 2006). Los conidios se recuperaron en agua con 0.1% (v/v) de Tween 80 (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006) y la suspensión de conidios se centrifugó a 3600 rpm por 15 min, y la masa de conidios se secó en una cámara de flujo laminar (Labconco, Kansas, U.S.A), a 25°C por 10 días o hasta obtener un 5% de humedad de los conidios (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006) y se conservaron en un refrigerador (Durksferry Road, Bensalem, Pennsylvania, U.S.A) a 5°C , hasta su utilización en el experimento de campo. La concentración de conidios/mL se determinó con una cámara hematimétrica de Neubauer (Hausser Scientific, U.S.A) (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006). La



viabilidad de se determinó, en placas con Sabouraud dextrosa agar, aplicando 100 μ L por caja, para luego incubar a 25 °C por 24 h, para porcentaje de conidios germinados.

Establecimiento del experimento en campo. Se seleccionó una parcela con una superficie de 0.5 ha establecida con sandía, en el Rancho “Don Pedro”, en Armería, Colima, ubicado entre las coordenadas 18°54'48.03" L.N., 103°58'26.48" L.O., 16 msnm y con una temperatura media de 26.3°C, propiedad de la empresa Red Star. A los 30 días después del trasplante; se estableció el diseño experimental de bloques completos al azar, con nueve tratamientos y cuatro repeticiones cada uno; cada parcela experimental constó de tres camas con 3.2 m de separación entre ellas, 90 cm de ancho cada una y 10 m de longitud; las plantas fueron colocadas a doble hilera, a una distancia entre ellas de 52 cm. La parcela útil fue la cama central eliminando 1 m de cada extremo, para evitar el efecto de orilla. Los tratamientos que se aplicaron fueron las ocho cepas de los hongos entomopatógenos y un testigo (control químico del ácaro, realizado por el productor).

Los tratamientos se asperjaron cada ocho días, con mochila de motor (EFCO, Modelo IS2026, Italia), a razón de 200 L de una suspensión de conidios a la concentración de 1×10^8 conidios/ml ($= 2 \times 10^{13}$ conidios/ha). La primera aplicación se realizó a los 30 días después del trasplante, justo después del retiro de la malla antiáfidos, para luego aplicar los tratamientos cada ocho días o cada seis días después de una aplicación de algún fungicida (la aplicación de fungicida al experimento se realizó en caso estrictamente necesario). Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron por la tarde (17:00 h.), para evitar efecto del sol durante las primeras horas después de realizada la aplicación. Durante el período del experimento, se instaló un dispositivo para registrar la variación de la temperatura y humedad relativa (H. R.) que se presentaron durante el experimento (Datalogger, marca Hobo). Antes de la primera aplicación de los tratamientos y 3 días después de aplicados, se realizaron muestreos, para determinar el número de ácaros por hoja, para lo cual se recolectaron 5 hojas de las plantas de la parcela útil, que se colocaron de manera individual en bolsas de plástico; estas fueron llevadas a laboratorio, para cuantificar el número de huevos, ninfas y adultos por hoja, con el auxilio de un microscopio estereoscópico (Olympus Corporation Tokio, Japan, Philippines, Model SZ51). Los adultos del ácaro que se observaron fueron transferidos a cámaras húmedas utilizadas por Lezama-Gutiérrez *et al.* (2013), para observar el porcentaje de individuos muertos con presencia del hongo aplicado. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de medias por Tukey al 0.05 de probabilidad. Los valores expresados en porcentaje fueron normalizados mediante una transformación arco seno de la proporción, y los valores en número de individuos fueron normalizados mediante la transformación de $\sqrt{x+1}$, con el paquete estadístico SAS (SAS, 1997). También se determinó la efectividad de los hongos, con cada una de las variables anteriores con la fórmula $E=A-B/A \times 100$, en dónde: E = Efectividad; A = valor presentado en testigo; B = resultado obtenido en el tratamiento (Goettel e Inglis, 1997).

Resultados y Discusión

En la presente investigación se evaluó la efectividad de siete cepas del hongo *C. bassiana* y una de *M. anisopliae*, para el control de la densidad de huevo, ninfas y adultos de *T. urticae*, en el cultivo de sandía y bajo condiciones de campo. Se encontró que la efectividad de las cepas de *C.*



bassiana y *M. anisopliae*, sobre la reducción de la densidad de huevo, ninfas y adultos de *T. urticae* en el cultivo de sandía, en condiciones de campo osciló entre 24 y 68% de huevo, 37 y 63% en ninfa, y 22 al 63% en adultos, respectivamente (Cuadro 1). Las cepas presentaron un mayor porcentaje de efectividad sobre la reducción de la densidad de ácaros fueron las cepas Cb 174, Cb 124 y Cb 44.

Los resultados permitieron detectar que en huevo la cepa *C. bassiana* cepa Cb 124 redujo la densidad de huevo hasta en un 68 %, seguida por la cepa Cb 174 con un 65 %; en ninfas la cepa Cb 44 redujo la población en un 63 %, seguida por las cepas Cb 174 con un 59 %; en adultos sobresalió la cepa Cb 174 con un 63 % de reducción de la densidad, seguida por la cepa Cb 124 con un y se observó que en huevo y en ninfa, una semana después de la segunda aplicación aún 61 %. Cabe señalar que las cepas Cb 44, Cb 124 y Cb 174 fueron las que mantuvieron la densidad de adultos más baja y no presentaron diferencias estadísticas entre ellas. Por lo que se les puede considerar como las tres cepas más efectivas para el control de *T. urticae* en el cultivo de sandía bajo condiciones de campo. Resultados similares fueron reportados por Tamai *et al.* (2002), con cepas de *C. bassiana*.

Cuadro 1. Porcentaje de efectividad de cepas de *C. bassiana* y *M. anisopliae*, sobre la reducción de la densidad de huevo, ninfas y adultos de *T. urticae* en el cultivo de sandía, en condiciones de campo.

Tratamientos	Huevo	Ninfas	Adultos
Testigo	----	----	----
Cb 44	24.32	62.86	48.07
Cb 124	67.57	42.86	60.77
Cb 168	39.19	51.43	40.88
Cb 174	64.86	59.05	62.98
Cb 190	27.03	37.14	22.65
Cb 235	32.43	51.43	40.88
Cb 331	29.73	39.05	31.49
Ma 165	33.78	40.95	32.04

Por otro lado, hubiera sido deseable que para medir el porcentaje de ácaros que murieron a causa de los hongos aplicados, el muestreo de ellos se realizara 24 horas post-aplicación, con el fin de capturar ácaros recién inoculados por el hongo aplicado y antes de que el ácaro infectado abandonara la hoja y se deje caer al suelo. Peralta (2014) al evaluar la efectividad evaluó el efecto *M. anisopliae* (Ma 198) y *C. bassiana* (Cb 249) para el control de *Drosophila suzukii* en cultivo de zarzamora (*Rubus fruticosus*), a la a la dosis de 2×10^{13} conidios/ ha, en condiciones de campo y encontró valores de adultos muerto con los hongos aplicados en el orden del 14 % con *M. anisopliae* y 61 % con *C. bassiana*, pero este autor recolectó los adultos 24 horas después de la aplicación de los hongos, posiblemente se deba a que la radiación solar aun no afectaba tanto a los conidios aplicados sobre el follaje del cultivo.

Agradecimientos



A la Fundación PRODUCE A.C. Colima, por el financiamiento otorgado a la investigación. Al C. Cesar Garlín Trujillo Cuevas, por su apoyo en la conducción del experimento en campo.

Literatura citada

- Aguilar-Fenollosa, E., Pascual-Ruiz, S., Hurtado, M. A. y Jacas, J. A. 2011. Efficacy and economics of ground cover management as a conservation biological control strategy against *Tetranychus urticae* in Clementine mandarin orchards. *Crop Protection* 30: 1328 -1333.
- Aslam, M., Razaq, M., Shah, S. A. y Ahmad, F. 2004. Comparative efficacy of different insecticides against sucking pests of cotton. *Journal of Research (Science)* 15: 53-58.
- Flores, C. R., Isirdia, A. N., Robles, B. A., Ortega, Á. O., Pérez, G. R., y Ramos, Q. A. 2011. Ácaros fitófagos asociados a frutales en la zona centro de Nayarit. *Revista Fuente* 2(7): 25 - 33.
- Goettel, M. S. e Inglis, G. D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. Pp. 213-249. Chapter V-3 in: *Biological Techniques Manual of techniques in insect pathology*. Lacey, L. A. (Ed.), Academic Press, New York.
- Lezama-Gutiérrez, R., Reyes-Martínez, J. G., Barba-Reynoso, M., Ángel-Sahagún, C. A., Galindo-Velasco, E., López-Lavín, M. y Molina-Ochoa, J. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) para el control de *Rynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) en campo. En: *Entomológica Mexicana*. Estrada, V. E. G., Esquihua, M. A., Luna, L.C. y Rosas, A. J. L. Ed. Sociedad Mexicana de Entomología. México. D. F.
- Lezama-Gutiérrez, R., Gómez-Núñez, N., Angel-Sahagún, C.A., Manzo-Sánchez, G., Rebolledo-Domínguez, O. y Molina-Ochoa, J. 2013. Patogenicidad de cepas Mexicanas de *Cordyceps bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Ascomycetes) sobre adultos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). En: Libro de Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Vásquez-López Alfonso y Pérez-Pacheco, Rafael (Eds.), Oaxaca de Juárez, Oaxaca, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Oaxaca. Pp. Pp. 476-480.
- Lezama-Gutiérrez, R., Morales-Gallegos, M. H., Rebolledo-Domínguez, O., Radillo-Juarez, F., y Andrés-Sahagún, C. A. 2014. Virulencia de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Ascomycetes) en adultos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). En: *Entomología Mexicana*. Vol. 13, tomo 1., Estrada-Venegas, E. G., Chaires-Grijalva M. P., Acuña-Soto, J. A., Equihua-Martínez, A., Pescador-Rubio, A., Rodríguez-Iglesias, M. V. (Eds.), impresos Manuel, México, pp. 225-229.
- Peralta-Manzo, J. J., Lezama-Gutiérrez, R., Castrejón-Agapito, H., Cardenas-de la Mora, J., y Rebolledo-Domínguez, O. 2014. Uso de *Metarhizium anisopliae* y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) para el control de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) en cultivo de zarzamora (*Rubus fruticosus*). En: *Entomología Mexicana*. Vol. 13, tomo 1., Estrada-Venegas, E. G., Chaires-Grijalva M. P., Acuña-Soto, J. A., Equihua-Martínez, A., Pescador-Rubio, A., Rodríguez-Iglesias, M. V. (Eds.), impresos Manuel, México, pp. 230-235.
- SAGARPA-SENASICA. 2011. Listado de plaguicidas de uso agrícola. Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/?doc=22993>.
- Sakai, Y., Sudo, M. y Osakabe, M. 2012. Seasonal changes in the deleterious effects of solar ultraviolet-B radiation on eggs of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Applied Entomology and Zoology* 47:67-73.
- SAS Institute, Inc. 1997. "SAS/STAT User's Guide," release 6.10 ed. SAS Institute, Inc; Cary, North Carolina.
- Tamai, M. A., Alves, S. B., Almeida, J. E. M. y Faion, M. 2002. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arq. Inst. Biol. São Paulo* 69: 77-84.
- Yorulmaz, S. y Ey, R. 2009. Multiple resistance, detoxifying enzyme activity, and inheritance of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turkish Journal of Agriculture y Forestry* 33: 393-402.



TÉCNICAS DE APLICACIÓN DE *Metarhizium anisopliae* Y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) PARA EL CONTROL DE *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) EN COCOTERO EN CAMPO

Roberto Lezama-Gutiérrez¹, Jorge García-Ramos¹, Álvaro Artemio Juárez-Silva¹, Selin Heriberto Camacho-Saucedo¹, Heraclio Castrejón-Agapito¹, Francisco Radillo-Juárez¹, Oscar Rebolledo-Domínguez¹ y Cesar Andrés Angel-Sahagún². ¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecmán, Colima, México. rlezama@ucol.mx. ²Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km. 7 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato. sahagun01@yahoo.com.mx

Resumen. El picudo negro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) es considerada plaga en cocotero (*Cocos nucifera* L.) y otras especies de Arecaceae; El adulto es vector del nematodo que causa el anillo rojo y las larvas hacen galerías en el tallo y matan al árbol. El control químico, el uso de trampas con una feromona de agregación y la eliminación de plantas atacadas, constituyen las principales estrategias de control. En el presente trabajo se evaluó la efectividad de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) para el control de adultos de *R. palmarum*, en cocotero, bajo condiciones de campo. Los hongos se aplicaron mediante, 1. Aspersión quincenal de los hongos a la dosis de 2×10^{13} conidios/ha; 2. La liberación de machos inoculados en una suspensión a la concentración de 1×10^9 conidios/ml y 3. La colocación de trampas con feromona más 400 g de arroz con hongo esporulado a la concentración de 1×10^8 conidios/g, y 4. Testigo, trampas con feromona de agregación y banano maduro sin hongo. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, con el total de adultos atrapados. No se presentaron palmas muertas por picudo en la parcela donde se asperjaron los hongos; se presentó menos del 4 % de palmas muertas en la parcela donde se autoinocularon o se liberaron adultos inoculados con los hongos.

Palabras clave: Control biológico, *Cocos nucifera*, *Rhynchophorus palmarum*, *Cordyceps bassiana*, *Metarhizium anisopliae*.

Introducción

El picudo negro del cocotero *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) es considerado como una de las principales plagas del cocotero; las larvas forman galerías en los tallos y las plantas dañadas comienzan a morir (Sánchez y Jaffé, 1993). Además, es vector del nematodo *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Coob) Goodey (Tylenchida: Aphelenchoididae), que causa la enfermedad conocida como anillo rojo. Para su control se usan insecticidas químicos, trampas con una feromona de agregación y cebadas con un atrayente alimenticio (Domínguez *et al.*, 1999). También, se ha evaluado su uso de los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. y *Cordyceps bassiana* (Bals.) Vuill., mediante aspersión y espolvoreo (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006).



Soper (1978) menciona una modificación al uso del sistema de trapeo con feromona de agregación más atrayente alimenticio impregnado con insecticida, es llamada “Autodiseminación”, en donde los hongos entomopatógenos pueden constituir un foco de infección y los individuos puede transmitir horizontalmente la enfermedad dentro de la población. En Brasil, El Centro de Investigaciones de EMBRAPA Coastal Trays, Aracaju/SE, desde 1991 aislaron al hongo *B. bassiana* de *R. palmarum*. Dos técnicas han utilizado en sus investigaciones de campo; una consiste en capturar y liberar machos inoculados y la otra, técnica de autoinoculación, que consiste en inocular con el hongo trozos de caña y colocarlos dentro de trampas formadas por cubetas de 19 litros de capacidad, con ventanas en sus paredes, para que entren los adultos, se inoculen salgan a inocular horizontalmente a su pareja. Ellos reportan una reducción de la densidad de adultos del 58% y un 69% al tercer año (www.ufpel.teche.br/sbfruti/anais_xvii_ebf/entomologia/840.htm). En México se cuenta con una cepa de *M. anisopliae* y una de *C. bassiana*, patógena para adultos de *R. palmarum*, pero no han sido evaluados mediante las técnicas de aspersión, autoinoculación y liberación de adultos machos inoculados. En este trabajo se reporta la efectividad de las técnicas de aspersión, autoinoculación y liberación de adultos machos inoculados de *R. palmarum* con los hongos *M. anisopliae* y *C. bassiana* sobre su densidad y daño en *Cocos nucifera* (Arecaceae) en campo.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en dos partes: una en el Laboratorio de Control Biológico No. 1, de Patología de Insectos y Ácaros, de la dependencia de Educación Superior (DES): Ciencias Agropecuarias, de la Universidad de Colima, y la segunda parte se llevó a cabo en tres huertos comerciales de cocotero en los municipios de Armería y Tecomán, Colima, México. Se utilizaron los hongos *M. anisopliae* cepa Ma 4, aislada de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) en el municipio de Cuauhtémoc, Colima y *C. bassiana* cepa Cb 174, aislada de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), en el municipio de Manzanillo, Colima, mismas que están depositados en la Colección de Hongos Entomopatógenos de la Universidad de Colima. Ambas cepas se multiplicaron en agar dextrosa Sabouraud (Decton Dickinson, Bioxon, México), más extracto de levadura (Becton, Dickinson and Company, USA) y 500 ppm de cloranfenicol (Merck[®], México) y se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con 70 % HR y 12 horas luz/oscuridad durante 21 días (Sun y Liu, 2006). Los conidios de 21 días de edad se recolectaron en una solución de agua destilada estéril con Tween 80 (Hycel, México) al 0.1% (v/v) y se utilizaron para la producción masiva de los hongos en granos de arroz.

Los conidios producidos en arroz se recuperaron en agua con Tween 80 (Hycel, México) al 0.1%; para separar el arroz de las conidios, se pasaron por un cedazo y un tamiz (Mentor, Ohio, USA) de 200 mallas (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006). La suspensión de conidios se centrifugó a 3,600 rpm (marca Hanil Science Industrial Co., Ltd, Modelo MF10622002, ensamblada en Corea) durante 15 minutos, con la finalidad de concentrar y separar los conidios del medio líquido. Una vez obtenidas los conidios, éstos se secaron durante ocho días en una cámara de flujo laminar (Labconco Calsse II, modelo 36208-36209, ensamblada en Korea) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y se almacenaron a 5°C hasta su utilización en campo (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2006). Antes de su uso en campo, se



cuantificaron, en una cámara hematimétrica de Neubauer (Hausser scientific, USA) (Watson *et al.*, 1995).

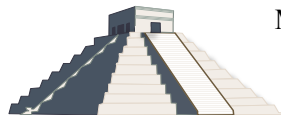
Se seleccionaron tres parcelas de seis hectáreas cada una, establecidas con cocotero de entre 5-6 años de edad. En cada una de ellas se evaluaron las dos especies de hongos; por lo que se dividieron en tres unidades experimentales de 2 ha cada una, mediante el diseño de bloques completamente al azar, con 4 repeticiones cada uno.

Parcela 1. Técnica de autoinoculación: En el tratamiento 1, se colocaron cuatro trampas (cubetas de 20 L de capacidad con dos ventanas de 4 x 8 cm de alto por largo) cebadas con 10 trozos de caña de azúcar de 20 cm de longitud, inoculados por inmersión en una suspensión de conidios del hongo *M. anisopliae* cepa Ma4 a la concentración de 1×10^9 conidios/ml, durante 5 minutos + feromona; en el tratamiento 2, se colocaron también cuatro trampas cebadas 10 trozos de caña de azúcar, pero inoculados por inmersión en una suspensión de conidios del hongo *C. bassiana* cepa Cb 174, a la concentración de 1×10^9 conidios/ml, durante 5 minutos + feromona; además, en ambos tratamientos con hongo, a las trampas bajo los trozos de la caña se les colocaron 300 g de arroz con el hongo crecido correspondiente, para que al ingresar los adultos, caminen en éste y se autoinoculen. Como tratamiento 3, fue considerado como testigo y únicamente se colocaron cuatro trampas con caña + feromona.

En la parcela 2 (Técnica de aspersión): el tratamiento 1 se aplicó el hongo *M. anisopliae*, cepa Ma4 a la dosis de 2×10^{13} conidios/ha; el tratamiento 2 se aplicó con el hongo *C. bassiana* cepa Cb 174 y como tratamiento tres, fue considerado como testigo y únicamente se colocaron cuatro trampas con caña + feromona. Los tratamientos se asperjaron cada 15 días, con una turbo aspersora con tirón de tractor, con un tanque de capacidad de 2000 L de agua y suficiente para asperjar 3.5 ha/carga a una presión de 20 lb/cm². En total se realizaron 11 aplicaciones; la última aplicación se realizó el 21 de Mayo del 2014.

Técnica de Liberación de machos inoculados. Esta parcela se dividió en tres secciones donde se aplicaron los tratamientos: En el tratamiento uno, se instaló un sistema de trapeo con cuatro trampas tipo CSAT (Colegio Superior de Agricultura Tropical) cebadas con banano maduro, caña y feromona de agregación. Se capturaron los adultos, y los machos capturados fueron inoculados con una suspensión de conidios de *M. anisopliae* cepa Ma 4 a la concentración de 1×10^9 conidios/mL y se liberaron 24 horas después, el tratamiento dos, consistió en instalar cuatro trampas cebadas, de las que se capturaron los adultos y los machos se inocularon con una suspensión de conidios de *C. bassiana* cepa Cb 174 a la concentración de 1×10^9 conidios/mL y se liberaron 24 horas después. Tratamiento tres consistió en cuatro trampas cebadas para obtener datos como testigo (Ferreira y Lima, 1996).

En cada tratamiento de las tres parcela se instalaron cuatro trampas tipo CSAT (Colegio Superior de Agricultura Tropical), cebadas con banano maduro y trozos de caña, más feromona de agregación, para capturar y cuantificar el número de adultos y el número de plantas de cada tratamiento y las que presenten ataque por picudo o anillo rojo, durante el periodo experimental



(Ferreira y Lima 1996). Ocho días antes de iniciar la aplicación de los tratamientos se colocaron cuatro trampas tipo CSAT en cada una, cebadas con banano maduro y un sobre con feromona de agregación, para la captura de adultos de *R. palmarum*. Posterior al primer muestreo, se instalaron además, las trampas con la caña inoculada y se inició con la conducción del trapeo cada ocho días, registrando el número de adultos totales, el número de adultos hembras y machos/trampa, que se atrapan en las trampas tipo CSAT; para la estimación del daño se tomaron en cuenta el número de plantas totales y dañadas por el insecto. El banano maduro se reemplazó cada ocho días y el sobre de feromonas cada 3 meses. En las trampas con caña inoculada, la caña se cambió cada 15 días. Con los datos obtenidos se realizaron análisis de varianza y pruebas de medias por Tukey al 0.05 de probabilidad, previa transformación de los datos mediante $\sqrt{X+1}$, utilizando el paquete estadístico SAS (1997).

Resultados

Técnica de autoinoculación. El total de adultos de *R. palmarum* estuvo presente durante todo el periodo de estudio, con densidades comprendidas entre 1 y 3.6 adultos por trampa por mes. Los análisis de varianza indicaron, que solamente se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en el mes abril y la más alta densidad se presentó en el testigo y la más baja en los tratamientos formados por los hongos (Cuadro 1). El porcentaje de plantas muertas por *R. palmarum* en los diferentes tratamientos, fue mayor mortalidad en el testigo con un 6 %, en el de *C. bassiana* un 4 % y en el de *M. anisopliae* un 0.6 %.

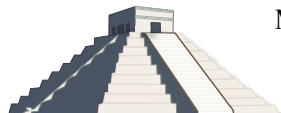
Cuadro 1. Análisis de varianza y prueba de medias mensuales, por Tukey ($p \leq 0.05$) del total de adultos de *R. palmarum*, bajo el efecto de diferentes tratamientos, en cultivo de coco, mediante la técnica de autoinoculación, en el periodo noviembre de 2013 a mayo del 2014.

tratamientos*	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
Ma	1.8a	2.9a	2.2a	2.5a	2.6a	2.1b	1.9a
Cb	1.1a	2.5a	3.2a	2.6a	3.2a	2.6b	2.3a
Testigo	1.1a	2.1a	2.5a	3.1a	3.5a	3.6a	2.4a
DMS**	0.7894	0.8677	1.6606	1.2527	2.6522	0.8831	0.8395
F. Cal.	3.76	3.67	1.55	0.95	0.53	10.71	1.68
P	0.0652	0.0685	0.2630	0.4219	0.6033	0.0042	0.2391
C.V. (%)	29.2	17.2	31.7	23.1	42.5	15.9	18.6

*Medias con la misma letra en columna son estadísticamente iguales entre (Tukey 0.05).

** Valores transformados mediante $\sqrt{X+1}$.

Técnica de aspersión de los hongos. El número total de adultos (hembras + machos) osciló entre 1.2 y 3.6 adultos, por trampa promedio mensual. Los análisis de varianza, realizados en cada mes indicaron diferencias no significativas entre tratamientos (Cuadro 2). No se registraron plantas atacadas por este insecto durante todo el periodo de estudio.



Técnica de liberación de adultos inoculados. Se encontraron valores promedios comprendidos entre 1.4 a 4.6 adultos por mes. El análisis de varianza indicó diferencias significativas al $P \leq 0.05$, entre tratamientos, en los meses de noviembre, diciembre y febrero (Cuadro 3). El porcentaje de plantas muertas por *R. palmarum* en los diferentes tratamientos, fue mayor mortalidad en el testigo con un 3.4 %, en el de *C. bassiana* un 2.7 % y en el de *M. anisopliae* un 4.0 %.

Cuadro 2. Análisis de varianza y prueba de medias mensuales, por Tukey ($p \leq 0.05$) del total de adultos de *R. palmarum*, bajo el efecto de diferentes tratamientos, en cultivo de coco, mediante la técnica de aspersión, en el periodo noviembre de 2013 a mayo del 2014.

TRAT.**	Número promedio de adultos totales por trampa *						
	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.
Ma 4	1.2 a	2.4 a	2.4 a	2.8 a	3.2 a	3.6 a	2.0 a
Bb 174	1.5 a	1.7 a	2.4 a	2.0 a	2.4 a	3.6 a	1.9 a
Testigo	1.2 a	1.8 a	2.0 a	1.9 a	2.4 a	2.7 a	1.9 a
DMS	0.54	0.58	0.73	1.26	1.49	1.38	0.92
F	1.19	6.67	1.10	2.34	1.46	2.61	0.19
P	0.3484	0.0167	0.3750	0.1516	0.2830	0.1273	0.8277
CV	21.5	14.74	16.5	28.4	28.1	21.1	23.7

*Datos transformados mediante la $\sqrt{X + 1}$; **Medias entre columnas con la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey 0.05).

Cuadro 3. Análisis de varianza y prueba de medias mensuales, por Tukey ($p \leq 0.05$) del total de adultos de *R. palmarum*, bajo el efecto de diferentes tratamientos, en cultivo de coco, mediante la técnica de liberación de adultos machos inoculados, en el periodo noviembre de 2013 a mayo del 2014.

Tratamientos*	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
Ma**	2.6a	3.2a	3.1a	3.6a	3.9a	4.6a	2.4a
Cb	2.1ab	2.8b	3.1a	3.2ab	3.5a	4.2a	2.2a
Testigo	1.4b	2.6b	2.4a	2.3b	2.9a	3.0a	2.1a
DMS	0.9366	0.3946	1.6748	1.2757	1.4302	1.9094	0.8867
F. Cal.	6.58	10.61	0.85	4.11	1.68	2.76	0.51
$P \leq 0.05$	0.0173	0.0043	0.4599	0.0540	0.2405	0.1164	0.6158
C.V. (%)	23.7	6.9	29.5	21.4	21.2	24.7	20.4

*Valores con la misma letra en columna son estadísticamente iguales entre (Tukey0.05). ** Valores transformados mediante $\sqrt{X+1}$.

Discusión

En el presente estudio se llevó a cabo la evaluación del efecto de la autoinoculación, Aspersión y liberación de adultos machos inoculados con los hongos *C. bassiana* o *M. anisopliae*, utilizando como tratamiento de comparación la cuantificación de la densidad de adultos que se registró en el tratamiento testigo formado por la conducción del sistema de trapeo, utilizando banano maduro y feromona de agregación. Los resultados indicaron que prácticamente no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, formados con el uso de los hongos, en sus



diferentes técnicas de aplicación aspersión, autoinoculación de adultos o mediante la captura y liberación de adultos inoculados. Sin embargo, este estudio tuvo una duración de 6 meses y de acuerdo con Tiglia *et al.* (1998) y Ferreira (2002), recomiendan que este tipo de estudios se extiendan mínimo un año, a fin de abarcar la dinámica poblacional en diferentes épocas del año. En lo referente a la reducción del porcentaje de plantas muertas a causa del ataque de este insecto, se observó que cuando se aplican los hongos por aspersión la mortalidad de plantas es nula, posiblemente se deba a la uniformidad en la distribución de los conidios en todas las plantas.

Agradecimientos

A la Fundación PRODUCE A.C. Colima, por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

Literatura citada

- Domínguez, C. E., López, A. J., Castillo, G. R. y B. P. Ruíz. 1999. El Cocotero *Cocos nucifera* L. Manual para la Producción en México. Huimanguillo, INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Huimanguillo. Libro Técnico Num. 6. Tabasco, México. 132 p.
- Ferreira, J. M. S. y M. F. Lima. 1996. Transmissão de *Beauveria bassiana* na população de *Rhynchophorus palmarum* através do contato entre indivíduos contaminados e não contaminados. In: simpósio de controle biológico, 5. Foz do Iguaçu, P.R. Resumos. Londrina: EMBRAPA-CNPSO p.188.
- Ferreira, J. M. S. 2002. Controle Biológico do Agente Transmissor do Nematóide Causador do Anel-vermelho-do-coqueiro. Londrina: EMBRAPA-CNPSO p.188.
- Lezama-Gutiérrez, R., Reyes-Martínez, J. G., Barba-Reynoso, M., Angel-Sahagún, C. A., Galindo-Velasco, E., López-Lavín, M. y Molina-Ochoa, J. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) para el control de *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) en campo. Entomología Mexicana 5: 596-600.
- Sánchez, P. y K. Jaffé. 1993. *Monitoring and integrated control of Rhynchophorus palmarum on oil palm*. Boletín Técnico SerieB. FONAIAP, Caracas (VE).
- SAS Institute, Inc. 1997. "SAS/STAT Use's Guide", relase 6. 10 ed. SAS Institute Inc; Cary, North Carolina.
- Soper, R. 1978. Autodissemination of entomopathogens: fungi. pp. 63-65, In: Allen, G. E., Ignoffo, C. M., Jaques, R. P. (Eds.), Future Strategies in Pest Management Systems. Proceedings of the National Science Foundation, United States Department of Agriculture and the University of Florida Workshop on Microbial Control of Insect Pests, Gainesville, FL.
- Sun, M. H. y X. Z. Liu. 2006. Carbon requirements of some nematophagous, entomopathogenic Hyphomycetes as fungal biocontrol agents. Mycopathology 161: 295-305.
- Tiglia, A. E., Vilela, E. F., Moura, J. I. L. y N. Anjos. 1998. Eficiência de armadilhas com feromônio de agregação e cana-de-Açúcar na captura de *Rhynchophorus palmarum* (L.). Ecologia, Comportamento e Bionomia, An. Soc. Entomol. Brasil 27(2): 177-183.
- Watson, D. W., Geden, C. J., Long, S. J. y D. A. Rutz. 1995. Efficacy of *Beauveria bassiana* for controlling the house fly and stable fly (Diptera: Muscidae). Biological Control 5: 405-411.



EFFECTIVIDAD DE *Metarhizium anisopliae* Y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) PARA EL CONTROL DE *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) SOBRE LIMÓN MEXICANO (*Citrus aurantifolia*) EN CAMPO

Roberto Lezama-Gutiérrez¹, Heraclio Castrejón-Agapito¹, Cesar Andrés Angel-Sahagún², Alberto Ramírez-Mancilla¹, Juan José Peralta-Manzo¹ y Janneth Cárdenas-De la Mora¹. ¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecomán, Colima, México. rlezama@ucol.mx. ²Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km. 7 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato. sahagun01@yahoo.com.mx

Resumen. Se evaluó la efectividad de *Cordyceps bassiana* cepa Cb249 y *Metarhizium anisopliae* cepa Ma198, para el control de *Diaphorina citri*, sobre limón Mexicano, bajo condiciones de campo. Los hongos se multiplicaron en Sabouraud dextrosa agar y en granos de arroz. Se seleccionaron tres parcelas de 1.5 ha cada una. En la parcela uno y dos se asperjaron los hongos *C. bassiana* y de *M. anisopliae*, respectivamente, a la dosis de 2×10^{13} conidios/ha; en la parcela tres (testigo) se asperjaron extractos vegetales. Se seleccionaron 10 árboles/parcela; se realizaron ocho aplicaciones quincenales, con turbo-aspersor de 2000 L de capacidad y 20 lb/cm² de presión. Antes y cada 8 días después de la aplicación, se registró el número de ninfas y adultos por brote, de un total de 40 por parcela. No hubo diferencias significativas, salvo en el mes de noviembre los hongos *C. bassiana* y *M. anisopliae* causaron una mayor reducción de la densidad de ninfas y adultos, que el testigo. *C. bassiana* se registró entre un 21.3 el 100% y *M. anisopliae* entre 2.7 al 66.7% de micosis. Del mismo modo, *M. anisopliae* presentó comprendida entre el 17.1 y 52.7% y *C. bassiana* entre 5.4 y 56.3% de efectividad en campo.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, *Cordyceps bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, control biológico, limón Mexicano.

Introducción

México cuenta con una superficie de 550,000 ha cultivadas de cítricos, en 24 estados del país. El estado de Colima es el principal productor de limón mexicano *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, que juega un papel importante en la economía nacional, en donde el valor de la producción rebasa a los 1,700 millones de pesos, que generan empleos para más de 20 mil familias (INEGI, 2005); ocupa el primer lugar en la producción de este cítrico con cerca del 30 % del total a nivel territorial y tiene un rendimiento del 39 % superior al promedio nacional; los principales municipios productores son Tecomán que concentra un 63.6%, Armería 22.7% y Manzanillo con el 5.6% en producción (SAGARPA, 2011).

La producción a nivel nacional y mundial de cítricos está amenazada por la llegada, dispersión y establecimiento del psílido Asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Alemán *et al.*, 2007); este insecto es vector de la bacteria “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”, causante de la enfermedad más destructiva en los cítricos llamada “Huanglongbing” (HLB), “citrus greening” o “Dragón amarillo”, la cual reduce la producción y posteriormente, causa la muerte a los



árboles, en un período de uno a cinco años (Meyer *et al.*, 2007). En México, esta enfermedad El HLB se encuentra presente en huertas y traspatios de 250 municipios de 16 estados, lo que representa el 6.1% de la citricultura nacional afectada por esta enfermedad (SENASICA, 2014).

El manejo del HLB está dirigido al control del insecto vector, para lo cual se han utilizado técnicas químicas y biológicas, para disminuir la densidad de población de *D. citri* (Qureshi y Stansly, 2007); sin embargo, los insecticidas contaminan el suelo, agua y el ambiente, lo que pone en riesgo la salud de los humanos (Alemán *et al.*, 2007) y afectan las poblaciones de insectos benéficos, importantes para el proceso de control biológico de *D. citri* (Michaud y Grant, 2003). Para obtener éxito a largo plazo sobre el manejo de la población de *D. citri* y de la enfermedad del HLB, se ha recurrido al control biológico con el uso del parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) y como una estrategia importante para el manejo integrado de la plaga los hongos *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown y Smith (Hypocreales: Cordycipitaceae), *Cordyceps bassiana*, *Hirsutella citriformis* Speare (Ascomycete: Clavicipitaceae) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2012ayb). Lezama-Gutiérrez *et al.* (2012a), evaluaron la virulencia de *C. bassiana* cepa Cb 249 y el hongo *M. anisopliae* cepa 198 y reporta valores de CL_{50} de 2.7×10^4 y 1.6×10^5 conidios/ml, respectivamente. En el presente trabajo se reporta la efectividad de estas cepas en el control de ninfas y adultos de *D. citri*, en condiciones de campo.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Control Biológico, de la Universidad de Colima y en una parcela comercial con árboles de limón mexicano, de cinco años de edad, en el Rancho "El Pollito", propiedad del Sr. James Marvin Readhimer Muse, ubicado en el Km 2.5 de la carretera Armería-Manzanillo municipio de Armería, Colima, México, ubicado $18^{\circ}59'01''$ LN y $103^{\circ}50'58''$ de LO; a 23 msnm de altitud, con una precipitación y temperatura media anual de 810.6 mm y 26.3°C , respectivamente. El clima es cálido-subhúmedo, con una HR promedio de 80% y suelo con textura franco-arcillosa y pH de 6.8.

Los hongos *C. bassiana* cepa 249 y *M. anisopliae* cepa Ma 198, fueron aislados de *D. citri* en 2010, en el estado de Colima y están depositados en la Colección de Hongos Entomopatógenos de la Universidad de Colima, como parte de los resultados de las acciones realizadas dentro del proyecto de investigación multidisciplinario que se desarrolla en el estado de Colima "Desarrollo y evaluación de tecnologías para el manejo sustentable de Huanglongbing (*Candidatus liberibacter*) y su vector (*Diaphorina citri*) en los cítricos ácidos del Pacífico de México". Clave: 139259 del CONACYT. Las cepas se multiplicaron en tubos con agar dextrosa Sabouraud (Bioxon), enriquecido con 1% (p/v) de extracto de levadura, (BBL, Becton, Dickinson and Co. Sparks, France) y con 500 ppm de cloranfenicol (SIGMA, China), se incubaron a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ con 70% HR y 12 h luz/oscuridad durante 21 días y la producción masiva se llevó a cabo en granos enteros de arroz (*Oryza sativa* L.) (Gindin *et al.*, 2006).

Se consideraron tres tratamientos y cada uno, se aplicó en un huerto de 1.5 ha de superficie; el



primero y el segundo formados por la aplicación de una suspensión de conidios ajustada a la dosis de 2×10^{13} conidios/ha de *M. anisopliae* y *C. bassiana*, respectivamente, mismas que se aplicaron por aspersión mecánica sobre los árboles, mediante una turbo-aspersora con tirón de tractor, con una capacidad de 2000 L. El tercer tratamiento (testigo) lo formó la aplicación de dos mezclas de extractos vegetales orgánicos, una con acción fungicida (formado por fermento de hojas de coral, de tallos de banano y jabón potásico); el extracto vegetal con acción insecticida (formado por la mezcla de fermento de ajo, de chile, de canela, de neem y jabón potásico).

Antes y 7 días después de la aplicación de los tratamientos se realizaron muestreos en cada parcela experimental; para ello, se identificó la línea central de árboles y se marcaron 10 árboles; de cada árbol se revisaron cuatro brotes (uno en cada punto cardinal del árbol) de menos de cinco cm de longitud, infestados con ninfas y adultos *D. citri*, ubicados a una altura de 1.5 m y se contabilizó el número de adultos totales por brote (Stauderman *et al.*, 2012). Se realizó un total de nueve muestreos. Posteriormente, el brote se recolectó y se colocó en vasos de plástico y llevaron al laboratorio, para el conteo de ninfas, con el auxilio de un microscopio estereoscópico (Olympus sz, modelo: SZ2-iLst). También, después de la aplicación, cinco brotes con ninfas fueron cubiertos con una bolsa de organza, para impedir la entrada de parasitoides y de depredadores naturales (Mellín-Rosas *et al.*, 2011) y a los siete días después de la aplicación, fueron cortaron y llevados al laboratorio, donde se colocaron en cámaras húmedas y se contabilizó el porcentaje de individuos micosados por los hongos aplicados (Poprawski *et al.*, 1999).

En el lugar del experimento se colocó un Datalogger (marca Hobo), para registrar la temperatura y humedad relativa, que se presentó durante el período de estudio. Con los datos del número de ninfas y adultos promedio por brote en los diferentes tratamientos, se realizó análisis de varianza y prueba de medias de Tukey al 0.05 de probabilidad, previa transformación de los datos mediante $\sqrt{X+1}$, con apoyo del paquete estadístico SAS (SAS, 1997). De la misma manera se calculó la efectividad de cada hongo, aplicando la fórmula Efectividad= $A-B \times 100/A$, en donde E = Efectividad; A = Número de individuos presentes en el tratamiento del testigo; B = Número de individuos en el tratamiento aplicado (Goettel e Inglis, 1997).

Resultados

El análisis de varianza, realizado con el número de ninfas por brote, indicó diferencias no significativas entre tratamientos, en los meses de agosto, septiembre, octubre y diciembre, pero si en noviembre en donde la prueba de Tukey separó al testigo, con la mayor densidad de ninfas y a los hongos *C. bassiana* y *M. anisopliae* con menor densidad y sin diferencias entre ellos (Cuadro 1). En adultos, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en los meses de agosto, septiembre y octubre, pero si, en el mes de noviembre, en donde la más baja densidad de adultos se presentó con el tratamiento *C. bassiana* y se separó del testigo (Cuadro 2).



Cuadro 1. Análisis de varianza y prueba de medias por (Tukey 0.05) del número de ninfas de *D. citri*, bajo el efecto de diferentes tratamientos.

Tratamientos	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Testigo	2.05 a	3.33 a	4.11 a	3.90 a	Nd
Ma 198	1.87 a	3.28 a	4.19 a	3.57 ab	Nd
Cb 249	1.97 a	3.21 a	3.96 a	3.36 b	Nd
F calc.	1.37	2.42	0.89	4.83	Nd
P>F	0.2721	0.1083	0.4229	0.0161	Nd
CV	12.4	3.7	9.6	10.9	Nd

+Promedios entre columnas con la misma letra sin diferencias estadísticas (Tukey $p < 0.05$).

+Nd = no determinado; ** valores de medias transformados mediante $\sqrt{x+1}$.

En la parcela donde se aplicó *C. bassiana* se registró un porcentaje de micosis del 21.3 al 100 % y con *M. anisopliae* entre 2.7 al 66.7 %. Del mismo modo, *M. anisopliae* presentó una efectividad comprendida entre el 17.1 y 52.7 %, pero solo en la quinta y sexta aplicación; *C. bassiana* entre 5.4 y 56.3 %. En campo, en donde la temperatura presentó 21.5 y 35.3°C, con una media de 27.6°C; humedad relativa entre 41.1 y 95.4%, con una media de 80.4%.

Cuadro 2. Análisis de varianza y prueba de medias por (Tukey 0.05) del número de adultos de *D. citri*, bajo el efecto

Tratamientos	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Testigo	2.06 ab	3.55 a	5.32 a	5.42 a	1.78 a
Ma 198	1.67 b	4.32 a	5.45 a	4.19 b	1.76 a
Cb 249	2.26 a	3.88 a	5.06 a	4.15 b	1.69 a
F calc.	5.12	2.07	0.63	8.92	0.08
P>F	0.0130	0.1462	0.5388	0.0011	0.9204
CV	21.0	21.7	14.9	16.7	29.7

de diferentes tratamientos.

+Promedios entre columnas con la misma letra sin diferencias estadísticas (Tukey $p < 0.05$).

+Nd = no determinado; ** valores de medias transformados mediante $\sqrt{x+1}$.

Discusión

En el presente estudio se intentó demostrar la hipótesis de que *M. anisopliae* y *C. bassiana* son igualmente efectivos para el control de la densidad de *D. citri* en limón Mexicano, bajo condiciones de campo. Los resultados mostraron diferencias no significativas en la densidad de ninfas y adultos, incluso en general no se diferenciaron con el tratamiento testigo formado por la aplicación de extractos vegetales utilizado por el productor. Sin embargo, es importante destacar que con el uso del hongo *C. bassiana* se logró hasta el 100% de ninfas y adultos con micosis, mientras que con *M. anisopliae* el valor máximo fue del 66.7%, lo que confirma la infección de estos hongos en condiciones de campo, en donde la temperatura presentó 21.5 y 35.3°C, con una media de 27.6°C; humedad relativa entre 41.1 y 95.4%, con una media de 80.4%. Se observó que en el testigo, no se presentaron ninfas o adultos muertos con alguno de los hongos aplicados, ni en los tratamientos donde se aplicó *M. anisopliae* o *C. bassiana*; sin embargo, al observar los brotes cubiertos en las mallas, si se presentaron porcentajes de micosis de hasta 67 y 100% con *M. anisopliae* y *C. bassiana*, respectivamente. También fue posible determinar la efectividad de estos



hongos en la reducción de la densidad de ninfas y adultos, misma que alcanzó valores de efectividad de hasta 52 y 56 %, con *M. anisopliae* y *C. bassiana*, respectivamente, en condiciones de campo. Lo anterior, muestra la potencialidad que tienen estos hongos y en particular la cepa Cb 249, para regular poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* en huertos de limón Mexicano en condiciones de campo.

Literatura citada

- Alemán, J., Baños, H. y Ravelo, J. 2007. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola. *Protección Vegetal* 22: 154-165.
- Gindin, G., Levski, S., Glazer, I. y Soroker, V. 2006. Evaluation of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Phytoparasitica* 34: 370-379.
- Goettel, M. S. e Inglis, G. D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. Pp. 213-249. Chapter V-3 in: *Biological Techniques Manual of techniques in insect pathology*. Lacey, L. A. (Ed.), Academic Press, New York, USA.
- Hoy, A. M., Singh, R y Rogers, E. M. 2010. Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida entomologist* 93: 24-32.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI, 2005. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Clave geoestadística 06004, 2009. Coquimatlán, Colima.*
- Lezama-Gutiérrez, R., Reyes-Martínez, J. G., Barba-Reynoso, M., Ángel-Sahagún, C. A., Galindo- Velasco, E., López-Lavín, M. y Molina-Ochoa, J. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) para el control de *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) en campo. *Entomología Mexicana*, vol. 5, tomo1, Estrada, V. E. G., Romero, N. J., Esquihua, M. A., Luna, L. C. y Rosas, A. J. L. (eds.). Soc. Mex. de Entomología, México, pp. 596-600.
- Lezama-Gutiérrez, R., Galván-Gutiérrez, G., Díaz-Flores, S., Angel-Sahagún, C. A., Arredondo-Bernal, H. C., Sánchez-González, J. A., Núñez-Martínez, I. R. y Rebolledo-Domínguez, O. 2012a. Virulencia de hongos entomopatógenos (Hyphomycetes) sobre ninfas y adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). En: XXXV Congreso Nacional de Control Biológico, Sansinenea, R. E., Zumaquero, R. L. y Del Rincón, C. Ma. C. (Editores), Puebla, México, Pp. 486-489. ISBN: 978-607-9098-18-6.
- Lezama-Gutiérrez, R., Molina-Ochoa, J., Chávez-Flores, O., Ángel-Sahagún, C. A., Skoda, S. R., Reyes-Martínez, G., Barba-Reynoso, M. y Rebolledo-Domínguez, O. 2012b. Use of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Persian lime under field conditions. *International Journal of Tropical Insect Science* 32: 39-44.
- Meyer, J. M., Hoy, M. A. y Boucias, D. G. 2007. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutiella* species infecting the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Journal of Invertebrate Pathology* 95: 101-109.
- Mellín-Rosas, M. A., Hernández-Betancourt, I, Núñez-Camargo, M. C. y Arredondo-Bernal, H. C. 2011. Entomopathogenic fungi effectiveness in control citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en Colima. 2° Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psíllido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. p. 367-372.
- Michaud, J. P. y Grant, A. K. 2003. IPM-compatibility of foliar insecticides for citrus: Indices derived from toxicity to beneficial insects from four orders. *Journal of Insect Science* 3: 10-12.
- Poprawski, T. J., Parker, P. E., y Tsai, J. H. 1999. Laboratory and field evaluation of Hyphomycete insect pathogenic fungi for control of brown citrus aphid (Homoptera: Aphydidae). *Environmental Entomology* 28: 315-321.
- Qureshi, A. J. y Stansly, A. P. 2007. Integrated approaches for managing the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Florida. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society* 120: 110-115.
- SAS. 1997. "SAS/STAT User's Guide," release 6.10 ed. SAS Institute, Inc; Cary, North Carolina.USA.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2014. Huanglongbing de los cítricos. Senasica. <http://www.senasica.gob.mx/?id=4512>. Accesado el 12 de agosto de 2014.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria SENASICA. 2014. Acciones contra el Huanglongbing o “HLB”. Informe mensual. Dirección de protección fitosanitaria. Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/?id=4512>. Consultado el 11 de septiembre de 2014.
- Stauderman, K., Avery, P., Aristizábal, L. y Arthurs, S. 2012. Evaluation of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Biocontrol Science Technology* 22: 747-761.



EVALUACIÓN DE *Isaria fumosorosea* (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE LA MOSCA MEXICANA DE LA FRUTA *Anastrepha ludens* (LOEW) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

Fatima Lizeth Gandarilla-Pacheco, Isela Quintero-Zapata, Rogelio Pérez-Flores, Katiushka Arévalo-Niño. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México. isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la patogenicidad de cuatro aislados de *Isaria fumosorosea* nativos de la zona citrícola del noreste de México, y una cepa de colección sobre la mosca mexicana de la fruta, *Anastrepha ludens*. Se utilizaron los aislados HIB-19, HIB-23, HIB-29, HIB-30 y la cepa Pfr-612 pertenecientes a la colección del laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Se utilizaron dos métodos de evaluación: aspersión de larvas y pupas y aspersión de suelo con suspensiones de 1×10^8 blastoesporas mL^{-1} . Los tratamientos fueron incubados bajo condiciones de laboratorio (25 ± 2 °C, $60 \pm 5\%$ H. R y 12:12 h L:O). Después del período de incubación las larvas y/o pupas se recuperaron para determinar la mortalidad. Enseguida se colocaron dentro de cajas petri (60 x 15 mm) sobre papel filtro y se incubaron durante 7 días. Diariamente se revisaron las cajas petri para observar signos y síntomas característicos de infección por hongos entomopatógenos. Los resultados obtenidos mostraron que en el método de aspersión directa sobre larvas los aislados HIB-23 y HIB-30 obtuvieron el mayor porcentaje de mortalidad con unos 87%, seguidos por el aislado HIB-19 con un 80 %. En el método de aspersión directa sobre pupas el aislado HIB-19 presentó el mayor porcentaje de mortalidad con un 44%, mientras que para el método de aspersión de suelo utilizando larvas de *A. ludens* el aislado HIB-23 obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad con un 80%. En el método de aspersión de suelo utilizando pupas de *A. ludens* el aislado HIB-23 presentó el mayor porcentaje de mortalidad con un 34%. Estos resultados indican que *A. ludens* es susceptible en al menos dos estadios a *I. fumosorosea*.

Palabras clave: *A. ludens*, *I. fumosorosea*, pupas, patogenicidad, larvas.



PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Isaria fumosorosea* (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) EN SUSTRATOS NATURALES

Isela Quintero-Zapata, Fatima Lizeth Gandarilla-Pacheco, **Elisa Nohemí Díaz-de la Fuente**, Carlos F. Sandoval-Coronado. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México.
isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de conidios de cuatro aislados nativos (HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33) y una cepa de *Isaria fumosorosea* (Pfr-612) sobre grano de arroz (*Oryza sativa* L.), grano y olote de maíz (*Zea mays* L.) proporcionadas por la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los resultados obtenidos mostraron que existió alta diferencia significativa en la producción de conidios ($p=0.0001$) entre los hongos evaluados en grano de arroz y grano y olote de maíz como sustratos, mientras que la comparación de medias mostró que el aislado HIB-9 obtuvo los mejores rendimientos en arroz y maíz (4.25×10^7 ; 4.30×10^7 conidios mL^{-1}) respectivamente entre los hongos evaluados. De acuerdo con los resultados obtenidos se considera evaluar otros sustratos para tratar de incrementar los rendimientos en la producción de conidios de hongos entomopatógenos.

Palabras clave. *Isaria fumosorosea*, *Oryza sativa*, conidios, *Zea mays*.

Introducción

Los hongos entomopatógenos son microorganismos de vital importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad que presentan para regular poblaciones de insectos (Pucheta-Díaz *et al.*, 2006). Entre los entomopatógenos más destacados se encuentra *Isaria fumosorosea* (Zimmerman, 2008), un hongo capaz de infectar a una gran variedad de insectos plaga en diferentes ordenes. Un factor que es considerado esencial en la selección de nuevas cepas de entomopatógenos como agentes de biocontrol, es que pueda ser producido en grandes cantidades (producción masiva) y tener un crecimiento rápido, por mencionar algunos (Feng *et al.*, 1994). En la actualidad existen diversos métodos para la producción comercial de esporas fúngicas, entre los que se encuentran la fermentación en sustrato sólido, utilizando sustratos naturales (arroz, maíz, trigo, soya, etc.), fermentación en cultivo sumergido (cultivo líquido) y cultivo bifásico (Assaf *et al.*, 2002). El proceso de fermentación sólida involucra sustratos sólidos en ausencia parcial o total de agua libre; el cual debe tener suficiente humedad para permitir el crecimiento y procesos metabólicos del microorganismo; además de servir como fuente de nutrientes y como soporte para que en ellos los microorganismos se puedan desarrollar. Generalmente se utilizan residuos agroindustriales de bajo costo para este fin, como bagazo de caña, trigo, melaza, arroz, residuos de café, entre otros. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la producción en fermentación sólida de cuatro aislados nativos y una cepa de *I. fumosorosea* utilizando como sustratos grano de arroz (*Oryza sativa* L.), y grano y olote de maíz (*Zea mays* L.).



Materiales y Métodos

Se utilizaron los aislados nativos HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33, y la cepa Pfr-612 de *Isaria fumosorosea* pertenecientes a la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los hongos almacenados en estado criogénico (glicerol al 10% a -80°C), se descongelaron a temperatura ambiente e inocularon en forma de estría en placas petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 14 días. Una vez transcurrido el tiempo de incubación a cada hongo, se le agregaron 10 mL de una solución Tween 80 al 0.1% (v/v) a las placas con medio PDA y se realizó un raspado superficial con un asa bacteriológica para desprender los conidios. Se determinó su concentración mediante un conteo en cámara de Neubauer y se ajustó cada inóculo a 1×10^6 conidios mL^{-1} . Para la preparación de los sustratos el grano de arroz, grano elote y olote fueron sumergidos en una solución con hipoclorito de sodio al 0.065% combinado con antibiótico (cloranfenicol) a 130 ppm durante 30 minutos, agitándose cada 10 minutos. Después se enjuagaron con agua bidestilada y se retiró el exceso de humedad. Se colocaron 50 g de cada uno de los sustratos en bolsas de plástico de alta densidad. Las bolsas se esterilizaron a 121°C , 15 lbs de presión durante 15 minutos. Una vez esterilizado el sustrato dentro de las bolsas, estas se abrieron en un ambiente estéril y se inocularon con 5 mL de cada una de las suspensiones de conidios y al terminar se cerraron nuevamente. Las bolsas se incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12:12 L:O. Una vez transcurridos los 14 días de incubación se procedió a determinar la concentración de conidios por gramo de sustrato. Se pesó 1g de cada uno de los sustratos y se colocó en tubos de ensayo con 9 mL de solución Tween 80 al 0.1% (v/v), y se realizaron las diluciones necesarias para posteriormente en una cámara de Neubauer determinar la concentración de conidios.

Resultados y Discusión

Para verificar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se realizó un ANOVA (análisis de varianza) y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Scheffé ($p \leq 0.05$). Para estos análisis se utilizó el programa IBM[®] SPSS[®] v.19 Inc., Nueva York, EE.UU. De acuerdo a los resultados obtenidos existió alta diferencia significativa en la producción de conidios ($p = 0.0001$) entre los hongos evaluados en grano de arroz, maíz y olote como sustratos. De acuerdo a la comparación de medias se encontró que el aislado HIB-9 obtuvo los mejores rendimientos en arroz y maíz (4.25×10^7 ; 4.30×10^7 conidios mL^{-1}) respectivamente (Figura 1). Según Mascarín *et al* (2010) *I. fumosorosea* posee la capacidad de crecer en múltiples fuentes de carbono y nitrógeno y de hecho este es uno de los factores por lo cual su producción en masa es barata y posible, sin embargo, en este estudio el olote de maíz obtuvo los menores rendimientos entre los hongos evaluados. Por otro lado, Michel-Aceves *et al* (2008) reportan valores de hasta 4.43×10^8 mL^{-1} con olote como sustrato en la producción de *Trichoderma harzianum*, lo cual coincide con lo reportado por Monzón (2001), quien menciona que el rendimiento de esporas por gramo de sustrato está determinado por la cepa y por el estado de la misma. Mientras que en trabajos similares Carr *et al* (2003) y Mar y Lumyong (2012) reportan valores de 10^8 - 10^9 con cepas de *Isaria spp.*, con cantidades mayores de inóculo inicial (1×10^7) y tiempos de incubación más prolongados (60 días) que los aquí reportados.

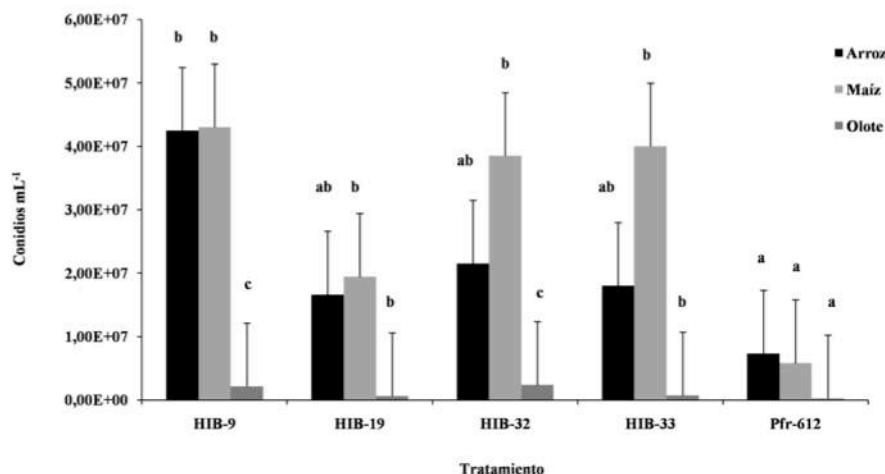


Figura 1. Producción de conidios de diferentes aislados de *I. fumosorosea* en sustrato sólido a los 14 días de incubación. 25±2°C; 12:12, L:O. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencia significativa según la prueba de Scheffé ($p=0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.

Agradecimientos. Al Proyecto PAICYT-UANL CN 1008-11 y PROMEP /103.5 /07 /1735.

Literatura Citada

- Asaff, T.A., Reyes, V.Y., López, L.V.E., De la Torre M.M. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva*. 21: 291-295.
- Carr, A., Elósegui, O., Bel-Padrón, N. 2003. Reproducción de dos cepas nativas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith, sobre Diferentes soportes líquidos y sólidos. *Fitosanidad*. 7: 7-11
- Feng, M.T., Poprawski, G., Khachatourians, G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Sci. and Technol.* 4:3-34.
- Mar, T.T., Lumyong, S. 2012. Conidial production of entomopathogenic fungi in solid state fermentation. *KKU Res. J.* 17:762-768.
- Mascarin, G. M., Alves, S.B., Lopes, R.B. 2010. Culture media selection for mass production of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53: 753-761.
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M.A., Martínez-Rojero, R.D., Rodríguez-Morán, N.L., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A. 2008. Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo*. 14: 185-191.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. 63: 95-103.
- Pucheta-Díaz, M., Flores Macías, A., Rodríguez-Navarro, S., De la Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31:856-860.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Sci. and Technol.* 18: 865-901



CULTIVO SÓLIDO Y BIFÁSICO PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Isaria fumosorosea* (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) EN GRANO DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)

Fatima Lizeth Gandarilla-Pacheco, Isela Quintero-Zapata, Lilia H. Morales-Ramos, Myriam Elías-Santos. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México. isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de conidios de cuatro aislados nativos (HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33) y una cepa de *Isaria fumosorosea* (Pfr-612) sobre grano de cebada (*Hordeum vulgare* L.) como sustrato mediante fermentación sólida y cultivo bifásico proporcionadas por la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los resultados obtenidos mostraron que existió alta diferencia significativa en la producción de conidios $p = (0.0001)$ entre los hongos evaluados en grano de cebada para ambos métodos de producción (fermentación sólida y cultivo bifásico). De acuerdo a la comparación de medias se encontró que los aislados HIB-9 y HIB-32 produjeron la mayor cantidad de conidios por gramo de cebada (1.42×10^6 y 7.10×10^6), mediante el método de fermentación sólida y cultivo bifásico, respectivamente.

Palabras clave. *Isaria fumosorosea*, fermentación sólida, cebada, conidios, cultivo bifásico.

Introducción

La producción de grandes cantidades de esporas se considera una de las características esenciales que debe poseer un aislado con potencial para ser utilizado como agente de biocontrol, actualmente la gran mayoría de estas especies de hongos pueden producirse fácilmente en medios sólidos, donde el hongo crece en forma de micelio superficial y produce conidios en hifas aéreas; algunos sustratos naturales constituyen medios de cultivo adecuados como el arroz o el salvado de trigo. Pero la producción de hongos en sustratos sólidos dificulta la automatización del proceso y carece de una economía de escala satisfactoria. Además, pocas especies de entomopatógenos pueden producir conidios en cultivo sumergido, y esta dificultad puede ser parcialmente resuelta en cultivo bifásico en el cual él o los cultivos sumergidos se utilizan para producir abundante micelio, que luego se transfieren a un sustrato sólido, como arroz, trigo, cebada, maíz, avena frijol, soya, entre otros para inducir la producción de conidios aéreos (Wraight *et al.*, 2001; Figueroa *et al.*, 2007). En los sistemas bifásicos se recomienda optimizar el cultivo de la fase líquida para que promueva un rápido crecimiento del aislado. Se considera a este tipo de cultivo como el más utilizado mundialmente por obtener estructuras infectivas de alta calidad y acortar el tiempo de producción cuando la fase líquida se hace por cultivo agitado (Elósegui, 2006).

En años recientes se ha incrementado la demanda comercial de bioproductos basados en *I. fumosorosea* con el objetivo de controlar diversas plagas de insectos debido a la capacidad de este entomopatógeno de causar epizootias (Zimmermann, 2008), además de la facilidad que



presenta para crecer y producir conidios en numerosas fuentes de carbono y nitrógeno que es uno de los factores esenciales para potenciar su producción masiva (Cliquet y Jackson, 1999). Por lo tanto y debido a la importancia de conocer la capacidad de diferentes aislados nativos para llevar a cabo el proceso de esporulación el objetivo del presente estudio fue evaluar cuatro aislados nativos y una cepa de *Isaria fumosorosea* sobre grano de cebada (*Hordeum vulgare* L.) como sustrato mediante fermentación sólida y cultivo bifásico.

Materiales y Métodos

Se utilizaron los aislados nativos HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33, y la cepa Pfr-612 de *Isaria fumosorosea* pertenecientes a la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los hongos almacenados en estado criogénico (glicerol al 10% a -80°C), se descongelaron a temperatura ambiente e inocularon en forma de estría en placas petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 14 días. Una vez transcurrido el tiempo de incubación a cada hongo, se le agregaron 10 mL de agua bidestilada estéril a las placas con medio PDA y se realizó un raspado superficial con un asa bacteriológica para desprender los conidios. Para la fermentación sólida se determinó su concentración mediante un conteo en cámara de Neubauer y se ajustó cada inóculo a 1×10^6 conidios mL^{-1} , mientras que para el cultivo bifásico se realizó el ajuste a la misma concentración (1×10^6 conidios mL^{-1}) para inocular 1000 μL en matraces Erlenmeyer bafleados de 250 mL conteniendo 100 mL de caldo dextrosa Sabouraud. Se incubaron por 72 h, a 28°C y 300 r.p.m en un incubador con agitación orbital. Para la preparación del sustrato el grano de cebada fue sumergido en una solución con hipoclorito de sodio al 0.065% combinado con antibiótico (cloranfenicol) a 130 ppm durante 30 minutos, agitándose cada 10 minutos. Después se enjuagaron con agua bidestilada y se retiró el exceso de humedad. Se colocaron 50 g de cada uno de los sustratos en bolsas de plástico de alta densidad. Las bolsas se esterilizaron a 121°C , 15 lbs de presión durante 15 minutos. Una vez esterilizado el sustrato dentro de las bolsas, estas se abrieron en un ambiente estéril y se inocularon con 5 mL de cada una de las suspensiones de conidios para el método de fermentación sólida, mientras que para el cultivo bifásico se inoculó la misma cantidad (5 mL) pero del micelio obtenido en el cultivo líquido y al terminar cada una de las bolsas se cerró nuevamente. Las bolsas se incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12:12 L: O. Una vez transcurridos los 14 días de incubación se procedió a determinar la concentración de conidios por gramo de sustrato. Se pesó 1g de cada uno de los sustratos y se colocó en tubos de ensayo con 9 mL de solución Tween 80 al 0.1% (v/v), y se realizaron las diluciones necesarias para posteriormente en una cámara de Neubauer para determinar la concentración de conidios.

Resultados y Discusión

Para verificar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se realizó un ANOVA (análisis de varianza) y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Scheffé ($p \leq 0.05$). Para estos análisis se utilizó el programa IBM® SPSS® v.19 Inc., Nueva York, EE.UU. De acuerdo a los resultados obtenidos existió alta diferencia significativa en la producción de conidios $p = (0.0001)$ entre los hongos evaluados en grano de



cebada para ambos métodos de producción (fermentación sólida y cultivo bifásico). De acuerdo a la comparación de medias se encontró que los aislados HIB-9 y HIB-32 produjeron la mayor cantidad de conidios por gramo de cebada (1.42×10^6 y 7.10×10^6), mediante el método de fermentación sólida y cultivo bifásico, respectivamente (Figura 1). Los resultados descritos en el presente documento muestran que la producción de conidios de los hongos evaluados en grano de cebada para este estudio se encuentran en el orden de 10^5 a 10^6 conidios por gramo de sustrato, mientras que Figueroa *et al.*, (2007) reporta valores de hasta 10^{10} conidios por gramo de cebada, ya que el rendimiento de la esporulación sobre un sustrato puede ser influenciado por factores como la técnica de cultivo, concentración del inóculo inicial, condiciones de temperatura, humedad, aireación, y tiempo de incubación, así como también a la variedad de cebada utilizada, y la habilidad de cada uno de los hongos evaluados para utilizar este grano como medio de propagación masiva ya que para ambos métodos (fermentación sólida y cultivo bifásico) los resultados fueron similares.

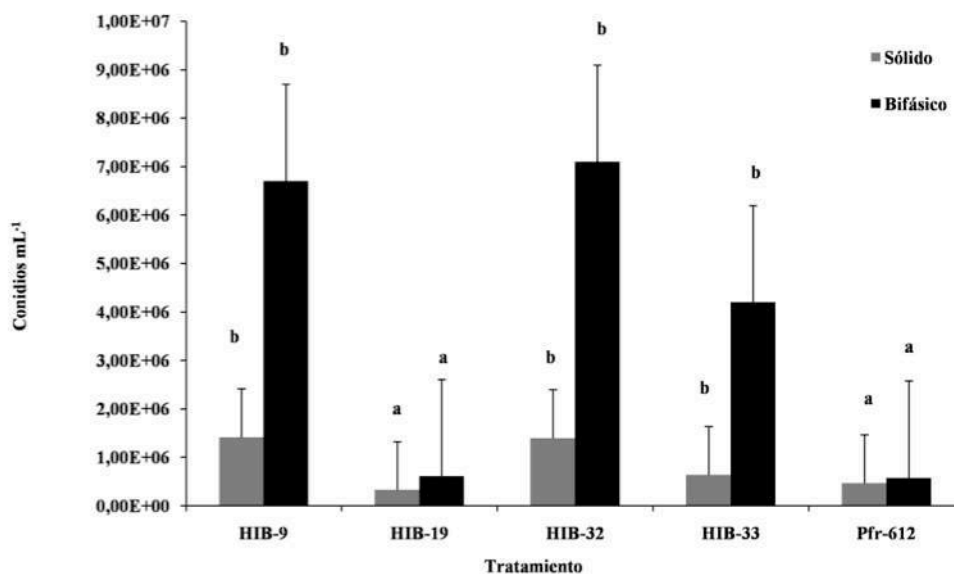


Figura 1. Producción de conidios en sustrato sólido y cultivo bifásico entre los diferentes aislados de *I. fumosorosea* (HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33 y Pfr-612) a los 14 días de incubación bajo condiciones de laboratorio, $25 \pm 2^\circ\text{C}$; 12:12 L: O. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencia significativa según la prueba de Scheffé ($p = 0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.

Agradecimientos. Al Proyecto PAICYT-UANL CN 1008-11 y PROMEP /103.5 /07 /1735.

Literatura Citada

- Cliquet, S., Jackson, M.A. 1999. Influence of culture conditions on production and freeze-drying tolerance of *Paecilomyces fumosoroseus* blastospores. J. Ind. Microbiol. Biot. 2: 97-102.
- Elósegui, O. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. INISAV. La Habana, Cuba. pp: 16-19.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Figuroa, L.M., Varela, A., Corredor, D. 2007. Evaluación de sustratos naturales para la propagación masiva del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromicotina: Hyphomycetes). Revista de Investigación, Universidad La Salle Bogotá, Colombia 7:127-131.
- Wraight, S., Jackson, M., Kock, S. 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: Butt TM, Jackson C, Magan N. (eds). Fungi as Biological Control Agent: Progress, Problems and Potencial. CABI Publishing Series. Wallingford, U.K. pp.253-280.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. Biocontrol Sci. Technol. 18: 865-901.



PRODUCCIÓN DE BLASTOESPORAS DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPTACEAE) EN CULTIVO LÍQUIDO

Isela Quintero-Zapata, Fatima Lizeth Gandarilla-Pacheco, Ma. Del Socorro Flores-González, Myriam Elías-Santos. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México. isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de blastoesporas de seis aislados nativos (HIB-8, HIB-10, HIB-14, HIB-15, HIB-16, HIB-17) y una cepa de *Beauveria bassiana* (GHA) en un medio de cultivo líquido con glucosa y casaminoácidos (medio casaminoácidos), como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente, proporcionadas por la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los resultados obtenidos mostraron que existió alta diferencia significativa en la producción de blastoesporas ($p=0.0001$) entre los hongos evaluados en el medio casaminoácidos. De acuerdo a la comparación de medias se encontró que el aislado HIB-15 obtuvo la mayor cantidad de blastoesporas (6.60×10^8) mientras que el aislado HIB-17 obtuvo la menor concentración de blastoesporas por mililitro (1.50×10^8) entre los hongos evaluados. De acuerdo a los resultados obtenidos se considera importante evaluar otras fuentes de carbono y/o nitrógeno y realizar variaciones en su concentración para optimizar la producción de blastoesporas en cultivo líquido.

Palabras clave. *Beauveria bassiana*, glucosa, blastoesporas, casaminoácidos.

Introducción

Los entomopatógenos son uno de los grupos con potencial para el manejo de plagas y entre los más destacados está *Beauveria bassiana* por su capacidad de infectar a más de 200 especies en nueve ordenes de insectos y ser la especie más ampliamente distribuida de su género alrededor del mundo (Zimmermann, 2007). La producción de esporas de *B. bassiana* se puede lograr utilizando diferentes metodologías, que se pueden clasificar en tecnologías artesanales, semi-industriales e industriales (Elósegui, 2006). Los cultivos líquidos o fermentaciones líquidas presentan ciertas ventajas con respecto a otros sistemas de producción como el que poseen un alto grado de automatización del proceso, son muy rápidos, y se logra un óptimo aprovechamiento de los nutrientes, incluso pueden llegar hasta niveles industriales (Lacey *et al.*, 2001). Uno de los aspectos a considerar para el incremento de la utilización de los agentes microbianos de control biológico es el mejoramiento de la eficiencia de los procesos de producción masiva, lo que debe incluir la optimización de los métodos de cultivo. La optimización de un medio líquido que garantice el rápido crecimiento de un determinado aislamiento es uno de los pasos en el desarrollo de un procedimiento de producción masiva. Estos medios deben contener fuentes de carbono y de nitrógeno, así como microelementos y factores de crecimiento (Jenkins *et al.*, 1998; Fargues *et al.*, 2002). El objetivo del presente estudio fue evaluar la producción de blastoesporas de seis aislados nativos y una cepa de *Beauveria bassiana* en un medio de cultivo líquido con glucosa y casaminoácidos, como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente.

Materiales y Métodos



Se utilizaron los aislados nativos HIB-8, HIB-10, HIB-14, HIB-15, HIB-16, HIB-17 y la cepa GHA de *Beauveria bassiana* pertenecientes a la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los hongos almacenados en estado criogénico (glicerol al 10% a -80°C), se descongelaron a temperatura ambiente e inocularon en forma de estría en placas petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 25±2 °C durante 14 días. Después se prepararon suspensiones de 5×10⁵ conidios mL⁻¹ con agua bidestilada estéril para inocular el medio casaminoácidos compuesto de: KH₂PO₄, 2.0 g; CaCl₂·2H₂O, 0.4 g; MgSO₄·7H₂O, 0.3 g; CoCl₂·6H₂O, 37 mg; FeSO₄·7H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 16 mg; ZnSO₄·7H₂O, 14 mg, glucosa (80 g L⁻¹) y casaminoácidos (25 g L⁻¹). Se utilizaron matraces bafleados de 250 ml conteniendo 100 mL de medio, se incubaron a 28 °C y 300 r.p.m durante 72 h en un incubador con agitación orbital. Al final del tiempo de crecimiento se determinó la concentración de blastosporas por mililitro.

Resultados y Discusión

Para verificar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se realizó un ANOVA (análisis de varianza) y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Scheffé ($p \leq 0.05$). Para estos análisis se utilizó el programa IBM® SPSS® v.19 Inc., Nueva York, EE.UU. De acuerdo a los resultados obtenidos existió alta diferencia significativa en la producción de blastoesporas ($p= 0.0001$) entre los hongos evaluados en el medio casaminoácidos. De acuerdo a la comparación de medias se encontró que el aislado HIB-15 obtuvo la mayor cantidad de blastoesporas (6.60×10^8) mientras que el aislado HIB-17 obtuvo la menor concentración de blastoesporas por mililitro (1.50×10^8) entre los hongos evaluados (Figura 1). Los resultados descritos en el presente documento muestran que la producción de blastoesporas de *B. bassiana* se mantuvo en el orden de 10⁸, lo cual coincide con lo reportado en un estudio reciente por Gandarilla-Pacheco *et al.*, 2013 donde reportan valores similares para aislados de *B. bassiana*. Las fermentaciones para la producción de blastoesporas pueden proveer ciertas ventajas con respecto a los medios de cultivo sólidos. Samson *et al* (1988) describen las fermentaciones líquidas como rápidas y sin problemas de contaminación, y una de sus ventajas radica en el hecho de poder controlar los parámetros durante el proceso. Existen estudios de fermentaciones para mejorar la producción de conidios o blastoesporas de diferentes hongos entomopatógenos los cuales varían el contenido de carbono y nitrógeno en los medios de cultivo, por ser los dos requerimientos nutricionales principales en el desarrollo de la esporulación (Jackson *et al.*, 2003).

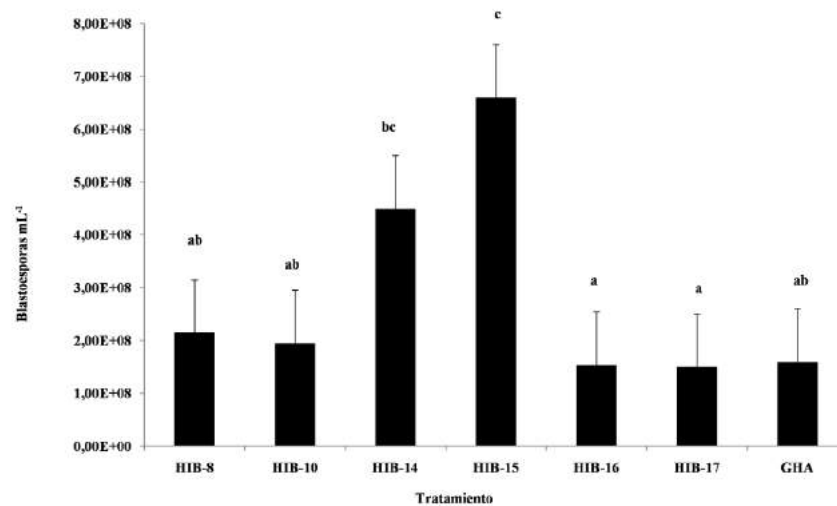


Figura 1. Producción de blastosporas de diferentes aislados de *B. bassiana* en medio casaminoácidos a las 72 h de incubación. Bajo condiciones de laboratorio, 28°C; 300 r.p.m. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencia significativa según la prueba de Scheffé ($p=0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.

Agradecimientos. Al Proyecto PAICYT-UANL CN 1008-11 y PROMEP /103.5 /07 /1735.

Literatura Citada

- Elósegui, O. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. INISAV. La Habana, Cuba. pp: 16-19.
- Fargues, J., Smits, N., Vidal, C., Vey, A., Veja, F., Mercadier, G., Quimby, P. 2002. Effect of liquid culture media on morphology, growth, propagule production, and pathogenic activity of the Hyphomycete *Metarhizium flavoviride*. Mycopathologia. 154: 127-138.
- Gandarilla-Pacheco, F.L., Galán-Wong, L.J., Arévalo-Niño, K., Elías-Santos, M., Quintero-Zapata, I. 2013. Evaluación de aislados nativos mexicanos de *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) provenientes de zonas cítricas para su producción masiva en cultivo sumergido y bifásico. Agrociencia 47: 255-266.
- Jackson, M.A., Cliquet, S., Iten, L.B. 2003. Media and fermentation processes for the rapid production of high concentrations of stable blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. Biocontrol Sci. Techn.13: 23 -33.
- Jenkins, N., Heviefó, G., Jürgen, L. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. Biocontrol News Inf. 19: 21-31.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K., Vail, P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? Biol. Control 21:230-248.
- Samson, R., Evans, H., Latgé, J. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag, Berlin. 300 p.
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Sci. Techn. 17: 553-596.



USO DE OLOTE DE MAÍZ PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*

Carlos Francisco Sandoval-Coronado, **Isela Quintero-Zapata**, Myriam Elías-Santos, Orquídea Pérez-González, María Guadalupe Maldonado-Blanco. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México. isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. El trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la factibilidad de producción de hongos entomopatógenos utilizando el olate de maíz, el cual es un subproducto agrícola y urbano. La preparación del olate incluyó el secado y fragmentación en piezas de tamaño de aproximadamente medio centímetro. Se utilizaron bolsas de plástico de alta densidad, en donde se colocaron los diferentes tratamiento, que incluyó: T1, 25g de olate + 10ml de agua destilada; T2, 25g de olate + 5ml de líquido de remojo de maíz + 5ml de agua destilada; T3, 10ml de líquido de remojo de maíz. Todas las bolsas fueron inoculadas con 1 ml de una suspensión de conidios de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Los resultados señalaron que la producción de conidios en las dos cepas y los tres tratamientos osciló entre $5.3 - 6.9 \times 10^8$ esporas/ml. La producción de estos dos hongos fue posible inclusive sin modificaciones fuertes, ya que la simple aplicación de agua fue suficiente para obtener buena conidiación (T1). Probar la adición de otros componentes como fuente de carbono económica como la melaza, podrían potenciar la productividad de los conidios en los hongos entomopatógenos.

Palabras clave: Olate de maíz, hongos entomopatógenos, conidios, *B. bassiana*, *M. anisopliae*

Introducción

El continuo crecimiento de la población humana requiere de la búsqueda de nuevos caminos para incrementar la producción de alimentos. Una forma de conseguir este objetivo es la reducción de las pérdidas en cultivos agrícolas provocadas por organismos causantes de enfermedades y plagas (fundamentalmente insectos, nematodos y hongos patógenos de vegetales). Anualmente se registran grandes pérdidas económicas en el sector agrícola ocasionadas por insectos plaga (Rodríguez y Arredondo, 2007).

De los diferentes microorganismos que se utilizan como agentes de control biológico, los hongos entomopatógenos son una alternativa prometedora debido a que la mayoría son específicos, persistentes, compatibles con otros insecticidas y poseen inocuidad ambiental. Algunos de los hongos que se utilizan en la mayoría de los productos comerciales son los géneros *Metarhizium* y *Beauveria*, ya que pueden tener actividad a más de 70 especies de insectos, entre los que se encuentran mosca blanca, áfidos, saltamontes, escarabajos, hormigas de fuego, etc. (Pham *et al.*, 2010; Alí *et al.*, 2012). Diversos esfuerzos se han enfocado para desarrollar técnicas costeables para la producción masiva de hongos entomopatógenos, entre las más estudiadas está el uso de diversos granos de gramíneas para la obtención de conidios estables (Bharati *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2010; Seema *et al.*, 2013. Latifian *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2013). La elección de un



medio adecuado y económico, que apoye el crecimiento rápido y sin la pérdida de virulencia por un número de generaciones, es uno de los requisitos básicos de la producción en masa de hongos para el control microbiano de plagas de insectos. La producción se puede lograr utilizando diferentes metodologías, que pueden clasificarse en bajos insumos y tecnologías industriales. Sin embargo, la mayoría de la producción de esporas de hongos en todo el mundo se lleva a cabo usando tecnologías sencillas que requieren de uso de soportes muy económicos (Prasad and Pal, 2014).

Las actividades agropecuarias y agroindustriales dan origen a una amplia gama de esquilmos y subproductos derivados en su mayor parte de cereales, en donde, el olote de maíz representa un subproducto significativo (González-Muñoz, ____). Este es el producto del desgranado del maíz, el cual es un tejido esponjoso y blanco que representa la médula donde se almacenan las reservas alimenticias del cereal. Está compuesto por celulosa (45%), hemicelulosa (35%) y lignina (15%), de los cuales, la hemicelulosa está compuesta por xilano (28-35% base seca) (Robledo-Olivo *et al.*, 2012). Estas características le confieren la posibilidad de ser empleado como sustrato en la producción de conidios de diversos hongos entomopatógenos, por lo cual, el objetivo del trabajo es observar la factibilidad utilizar el olote de maíz para la producción masiva de conidios de *B. bassiana* y *M. anisopliae*.

Material y Métodos

Obtención y preparación del Olote. El olote de maíz se obtuvo de forma gratuita de un punto de distribución en donde las personas se dedican a preparación del elote para su venta en diferentes presentaciones. El olote se colocó a secar por aproximadamente cinco días para eliminar el exceso el contenido de humedad. Una vez seco la mazorca se cortó en trozos grandes y se fragmentó en piezas más pequeñas de aproximadamente 1cm en una licuadora semindustrial. El olote se lavó una vez con agua de la llave en un recipiente, se dejó reposar durante 30 minutos con suficiente agua para cubrir el olote, y se agregaron 3 gotas de cloro comercial (70%). Posteriormente se realizaron dos lavados y se dejaron secando sobre una cama de papel secante durante toda la noche.

Preparación de los tratamientos. Para cada tratamiento se utilizaron 25g de olote previamente preparado y se colocaron en bolsas de plástico de alta densidad (25 x 30 cm) de 2 Kg de capacidad. Se realizaron los siguientes tratamientos: T1, 25g + 10ml de agua destilada; T2, 25g de olote + 5 ml líquido de remojo de maíz + 5ml de agua destilada; y T3, 10 ml de líquido de remojo de maíz. Para cada tratamiento se utilizaron cinco repeticiones (25 bolsas totales) y se repitió el experimento al menos dos veces. A cada bolsa se les realizaron tres dobleces en la parte superior y se graparon utilizando tres grapas una en el centro y dos en los extremos. Las bolsas fueron colocadas en la autoclave y se intercalaban entre cada una hojas de papel reciclado para evitar la unión entre las bolsas. Se esterilizaron por 15 minutos a 121 °C y se dejaron enfriar por 24 horas antes de ser inoculadas.



Preparación del inóculo. Crioviales conservados a -70°C en glicerol al 10% de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* fueron puestos a descongelar por una hora en el laboratorio. Cada criovial fue agitado en un vortex (Maxi Mix II 37600) y sembrado por estrías sobre platos (5 para cada cepa) de Papa Dextros Agar (PDA) y se incubaron por 14 días bajo condiciones de laboratorio ($24-26^{\circ}\text{C}$). Después del tiempo de crecimiento y bajo condiciones de esterilidad, los conidios fueron obtenidos agregando una pequeña cantidad de tween al 0.1% estéril, moviendo suavemente y regresando el contenido a una botella de 200ml con 100 ml de Tween 80 al 0.1% estéril. Este procedimiento se repitió al menos dos veces para asegurar la máxima colecta de esporas y se determinó la concentración de esporas utilizando una cámara de Neubauer, realizando diluciones seriadas de la suspensión.

Inoculación de las bolsas. Para la inoculación se limpió una sección (5 cm^2 aprox.) con alcohol al 70% en la parte media de cada una de las bolsas, se colocó un trozo de cinta adhesiva y se volvió a limpiar el área con alcohol, y posteriormente con una jeringa de 5 ml estéril se inoculó con 1 ml de la suspensión previamente preparada, se limpió con alcohol y se cubrió nuevamente cinta adhesiva. Una vez inoculadas todas las bolsas se realizaron movimientos en el sustrato para obtener una mayor distribución de las esporas en el sustrato (esto se realizó cada cuatro días después de la inoculación). Todo se efectuó bajo condiciones asépticas y las bolsas fueron puestas en incubación durante 14 días bajo condiciones de laboratorio en donde se observó el crecimiento fúngico.

Concentración de esporas y análisis estadístico. Finalizado el tiempo de incubación a cada una de las bolsas se determinó el número de conidios producidos. Se realizaron diluciones seriadas en base a 10, tomando de cada bolsa 1 gramo de soporte con crecimiento fúngico y se colocaron en tubos de $18 \times 150\text{ mm}$ con 9 ml de tween al 0.1%. Cada dilución se homogenizó en un vortex por 30 segundos y se tomó una muestra preferentemente de la dilución 10^{-3} para realizar los conteos (4 veces por bolsas). Los valores obtenidos de cada uno de los tratamientos se sometieron a un Análisis de Varianza con bloque completamente al azar y se les determinó Diferencia Mínima Significativa (DMS).

Resultados y Discusión

B. bassiana y *M. anisopliae* son los principales hongos entomopatógenos utilizados a nivel mundial en la mayoría de los productos comerciales. El ingrediente activo de estos productos por lo general es a base de conidios producidos a través de una fermentación sólida que en la mayoría de los casos utilizan granos de arroz. La producción de conidios que se obtuvo al utilizar un subproducto de la industria agropecuaria, fue entre $5.3 - 6.8 \times 10^8$ conidios/gr para *B. bassiana*, mientras que para *M. anisopliae* fue entre $5.9 - 6.9$ conidios/gr. No se encontró diferencia significativa ($dms=0.05$) entre los tres tratamientos utilizados con la cepa de *M. anisopliae*; para *B. bassiana* el tratamiento T1 fue mejor que los otros dos utilizados en el estudio (Tabla 1).

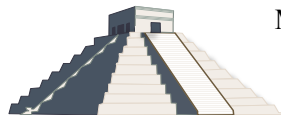


Tabla 1.- Producción de conidios de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* después de 14 días de incubación en olote de maíz.

Tratamiento	No de esporas x 10 ⁸	
	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
T1 (25 g + 10 ml de agua destilada)	6.8 A	6.1 A
T2 (25 g + 5 ml de agua destilada + 5 ml de LRM (5%))	5.3 B	5.9 A
T3 (25g + 10 ml LRM (5%))	5.3 B	6.9 A

Valores representan la media de dos experimentos con cinco repeticiones por tratamiento; conteo de los conidios se realizó cuatro veces de cada bolsa.

Los tratamientos fueron desarrollados en base a la presencias de ciertas fuentes de carbono que se tiene reportado para el olote de maíz y la adición de una fuente de nitrógeno como el líquido de remojo de maíz podrían potenciar el crecimiento micelial y la esporulación de las cepas. Aparentemente la producción no requiere el aporte de fuentes externas de nitrógeno, ya que la formación de conidios se sustentó por igual en el tratamiento que no incluía este nutriente. La producción encontrada en nuestro estudio refleja valores ligeramente bajos, al respecto Bharati, reporta producción de conidios para *Metarhizium* de 2.2×10^9 para mijo perla, 1.1×10^9 para sorgo, 8.4×10^8 para arroz y 6.76×10^8 para maíz. La inclusión de otros tratamientos como la incorporación de una fuente de carbono económica como la melaza a diferentes concentraciones podría potenciar la producción de conidios. La búsqueda de sustratos de desecho en los sistemas agrícolas que funcionen para la producción de conidios en los hongos entomopatógenos, representa una estrategia razonable para evitar el uso del arroz.

Agradecimientos. Al Proyecto PAICYT-UANL CN 1008-11 y PROMEP /103.5 /07 /1735.

Literatura Citada

- Ali, S.A., Qayyum, R.A., Bakhsh, A., Husnain, T. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: New insights into their virulence and pathogenicity. Arch. Biol. Sci., Belgrade. 64: 21-42.
- Bharati, T., Kulkarni, J.H., Krishnaraj, P.U., Alagawadi, A.R. 2007. Evaluation of Food Grains and Agro Wastes for Sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Ma2). J. Agric. Sci.20: 424-425.
- González-Muñoz, S.S. _____. Aprovechamiento de esquilmos y subproductos en la alimentación del ganado. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. pp. 1- 8.
- Latifian, M., Rad, B., Amani, M., Rahkhodaei, E. 2013. Mass production of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) by using agricultural products based on liquid- solid diphasic method for date palm pest control. Intl. J. Agri. Crop. Sci. 5: 2337-2341.
- Moura, M.G., Batista, A.S., Biaggioni, L.R. 2010. Culture Media Selection for Mass Production of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. Brazilian archives of Biology and technology. 53: 753-761.
- Pham, T.A., Kim, J.J., Kim, K. 2010. Optimization of solid-state fermentation for improved conidia production of *Beauveria bassiana* as a mycoinsecticide. Mycobiology. 38: 137-143.
- Prasad, C.S., Pal, R. 2014. Mass Production and Economics of Entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Verticillium lecanii* on agricultural and industrial waste. Sch. J. Agric. Vet. Sci. 1:28-32.
- Pratap, B.B., Puri, S., Singh, P.K. 2012. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products. The bioscan. 7: 229-232.
- Robledo-Olivo, A., Noé-Aguilar, C., Montañez-Sáenz, J.C. 2012. Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila. 4: 1-6.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Rodríguez L.A., Arredondo, H.C. 2007. Libro: Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. pp. 303.
- Seema, Y., Neeraj, T., Krishan, K. 2013. Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique. I.J.A.B.R. 3: 331-335.
- Taylor, B., S. Edgington, B. Luke, Moore, D. 2013. Yield and germination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* when grown on different rice preparations. Journal of Stored Products Research. 53: 23-26.



COMPARACIÓN DE CÁSCARA DE CACAHUATE Y GRANO DE ARROZ EN LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Isaria fumosorosea* (WIZE) BROWN & SMITH (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE)

Fatima Lizeth Gandarilla-Pacheco, Isela Quintero-Zapata, Ma. Del Socorro Flores-González, Myriam Elías-Santos. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México.
isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Resumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de conidios de cuatro aislados nativos (HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33) y una cepa de *Isaria fumosorosea* (Pfr-612) sobre grano de arroz (*Oryza sativa* L.) y cáscara de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) proporcionadas por la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los resultados obtenidos mostraron que existió alta diferencia significativa en la producción de conidios ($p=0.0001$) entre los hongos evaluados en grano de arroz y cáscara de cacahuete como sustratos, mientras que la comparación de medias muestra que los aislados HIB-9 y HIB-33 produjeron la mayor cantidad de conidios por gramo de arroz (1.60×10^7 y 1.90×10^7), mientras que para la cáscara de cacahuete el aislado HIB-19 obtuvo la mayor cantidad de conidios por gramo de sustrato (3.35×10^7) entre los hongos evaluados. De acuerdo con los resultados obtenidos se considera necesario evaluar otros sustratos para elevar los rendimientos en la producción masiva de conidios de hongos entomopatógenos.

Palabras clave. *Isaria fumosorosea*, hongos entomopatógenos, *Arachis hypogaea* conidios, *Oryza sativa*.

Introducción

La comprensión de los aspectos básicos del desarrollo de los hongos entomopatógenos y el conocimiento detallado de los requerimientos nutricionales para su crecimiento y esporulación es esencial para la producción masiva y comercialización (Gandarilla-Pacheco *et al.*, 2013). El proceso de desarrollo de un agente de control microbiano con lleva varias etapas desde el aislamiento hasta su uso, las cuales deben tener una secuencia determinada. La etapa inicial comprende el aislamiento del microorganismo y la evaluación de su actividad biocontroladora, seguida de su caracterización y conservación (Cotes, 1997); además de definir un medio de cultivo y un sistema adecuado para la obtención masiva del inóculo que permita una buena relación costo-rendimiento en la producción (Fernández y Juncosa, 2002). Un factor clave en la selección de nuevos aislados como potenciales agentes de control biológico, específicamente en hongos entomopatógenos, es la capacidad de la cepa para ser producida en grandes cantidades (altas tasas de esporulación), tener un rápido crecimiento y no perder su viabilidad e infectividad (Feng *et al.*, 1994). Entre los entomopatógenos más promisorios por sus características particulares de desarrollo se encuentra *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith el cual se ha destacado como un alternativa interesante para el control de insectos plaga debido a que no requiere alta humedad relativa para su desarrollo, puede infectar en temperaturas altas y no requiere grandes cantidades de inóculo (Figueroa *et al.*, 2007). Una de las alternativas para la



producción de micoinsecticidas en medio sólido consiste en utilizar sustratos naturales para la propagación masiva de las estructuras fúngicas, que proporcionan una matriz aérea de esporulación y un soporte para los conidios producidos por el hongo (Monzón, 2001). Los sustratos utilizados varían según la región y la finalidad de la multiplicación, así como su disponibilidad y costo. Debido a la importancia de conocer la capacidad de aislados nativos para llevar a cabo el proceso de esporulación en diferentes sustratos, el objetivo del presente estudio fue evaluar la producción de conidios de cuatro aislados nativos y una cepa de *Isaria fumosorosea* sobre grano de arroz (*Oryza sativa* L.) y cáscara de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.).

Materiales y Métodos

Se utilizaron los aislados nativos HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33, y la cepa Pfr-612 de *Isaria fumosorosea* pertenecientes a la colección del Laboratorio L-6 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL. Los hongos almacenados en estado criogénico (glicerol al 10%, -80°C), se descongelaron a temperatura ambiente e inocularon en forma de estría en placas petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 25±2 °C durante 14 días. Una vez transcurrido el tiempo de incubación a cada hongo, se le agregaron 10 mL de una solución Tween 80 al 0.1% (v/v) a las placas con medio PDA y se realizó un raspado superficial con un asa bacteriológica para desprender los conidios. Se determinó su concentración mediante un conteo en cámara de Neubauer y se ajustó cada inóculo a 5x10⁵ conidios mL⁻¹. Para la preparación de los sustratos el grano de arroz y la cáscara de cacahuate fueron sumergidos en una solución con hipoclorito de sodio al 0.065% combinado con antibiótico (cloranfenicol) a 130 ppm durante 30 minutos, agitándose cada 10 minutos. Después se enjuagaron con agua bidestilada y se retiró el exceso de humedad. Se colocaron 50 g de cada uno de los sustratos en bolsas de plástico de alta densidad. Las bolsas se esterilizaron a 121°C, 15 lbs de presión durante 15 minutos. Una vez esterilizado el sustrato dentro de las bolsas, estas se abrieron en un ambiente estéril y se inocularon con 5 mL de cada una de las suspensiones de conidios y al terminar se cerraron nuevamente. Las bolsas se incubaron a 25±2 °C, 12:12 L:O. Una vez transcurridos los 14 días de incubación se procedió a determinar la concentración de conidios por gramo de sustrato. Se pesó 1g de cada uno de los sustratos y se colocó en tubos de ensayo con 9 mL de solución Tween 80 al 0.1% (v/v), y se realizaron las diluciones necesarias para posteriormente en una cámara de Neubauer determinar la concentración de conidios.

Resultados y Discusión

Para verificar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se realizó un ANOVA (análisis de varianza) y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Scheffé ($p \leq 0.05$). Para estos análisis se utilizó el programa IBM® SPSS® v.19 Inc., Nueva York, EE.UU. De acuerdo a los resultados obtenidos existió alta diferencia significativa en la producción de conidios ($p= 0.0001$) entre los hongos evaluados en grano de arroz y cáscara de cacahuate como sustratos. De acuerdo a la comparación de medias se encontró que los aislados HIB-9 y HIB-33 produjeron la mayor cantidad de conidios por gramo de arroz



(1.60×10^7 y 1.90×10^7), mientras que para la cáscara de cacahuate el aislado HIB-19 obtuvo la mayor cantidad de conidios por gramo de sustrato (3.35×10^7) entre los hongos evaluados (Figura 1). Los resultados descritos en el presente documento muestran que la producción de conidias de los hongos evaluados en grano de arroz y cáscara de cacahuate se encuentran en el orden de 10^6 a 10^7 conidias por gramo de sustrato, lo cual coincide con lo reportado por Monzón (2001), quien menciona que el rendimiento de esporas por gramo de sustrato está determinado por la cepa y por el estado de la misma y puede variar desde 5×10^3 hasta 2.5×10^{11} conidias g^{-1} , Figueroa *et al* (2007) menciona que la elección del sustrato para la propagación puede influir también en la producción de conidios debido a las variaciones en su contenido de carbohidratos y nitrógeno y de otros microelementos, así como de vitaminas del complejo B y otros iones necesarios para el crecimiento y esporulación de los hongos.

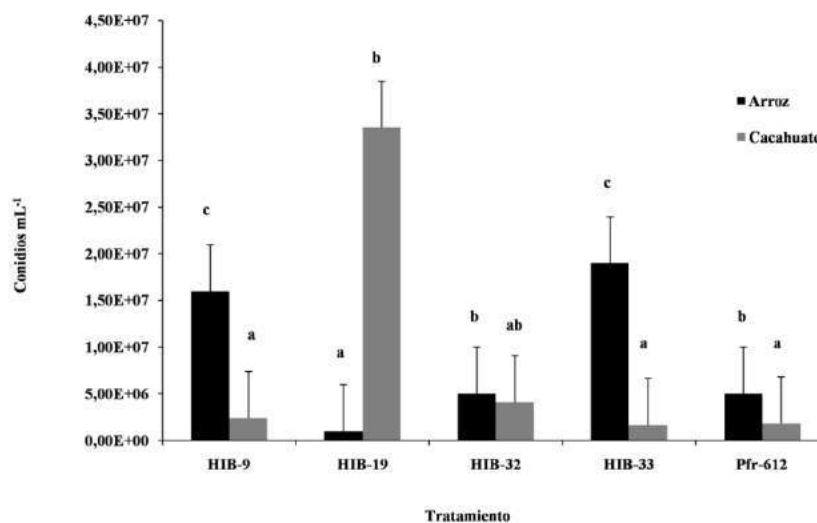


Figura 1. Producción de conidios en sustrato sólido entre los diferentes aislados de *I. fumosorosea* (HIB-9, HIB-19, HIB-32, HIB-33 y Pfr-612) a los 14 días de incubación bajo condiciones de laboratorio, $25 \pm 2^\circ C$; 12:12 L: O. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencia significativa según la prueba de Scheffé ($p = 0.05$). Líneas en las barras indican el error estándar.

Agradecimientos. Al Proyecto PAICYT-UANL CN 1008-11 y PROMEP /103.5 /07 /1735.

Literatura Citada

- Cotes-Prado, A.M. 1997. Producción masiva y formulación de microorganismos biocontroladores de fitopatógenos. En: Memorias del Seminario Internacional de Control biológico de fitopatógenos. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Santafé de Bogotá, Colombia. Pp : 18 – 23.
- Feng, M.T, Poprawski, G., Khachatourians. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Biocontrol Sci. Technol. 4:3-34.
- Fernández, C., Juncosa R. 2002. Biopesticidas: ¿La Agricultura del Futuro? Phytoma.141:14-19.
- Figueroa, L.M., Varela, A., Corredor, D. 2007. Evaluación de sustratos naturales para la propagación masiva del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina:Hyphomycetes). Revista de Investigación, Universidad La Salle Bogotá, Colombia 7:127-131.
- Gandarilla-Pacheco, F.L., Galán-Wong, L.J., Arévalo-Niño, K., Elías- Santos, M., Quintero-Zapata, I. 2013. Evaluación de aislados nativos mexicanos de *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuill. (Hypocreales:



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Cordycipitaceae) provenientes de zonas cítricas para su producción masiva en cultivo sumergido y bifásico. *Agrociencia*. 47: 255-266.

Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. 63: 95-103.



EFFECTO DE *Beauveria bassiana* SOBRE INSECTOS FITÓFAGOS PRESENTES EN CHILE HABANERO, CON MANEJO INTEGRADO EN CHUNHUHUB, QUINTANA ROO

Robin Ismael Estrella-Pacheco¹ y María de Jesús Méndez-Aguilar¹, ¹Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, CP 77890, José María Morelos, Quintana Roo, México. Cel 9971078331., estrella-pacheco@hotmail.com.

Resumen. La investigación se realizó en un cultivo de chile habanero con manejo integrado en 2013 en Chunhuhub, Quintana Roo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de una cepa nativa de *B. bassiana* en la mortalidad de *Erythrogonia* spp., *Bemisia tabaci* y *Anthonomus eugenii*; además de establecer otras técnicas agroecológicas que fortalezcan el manejo del productor cooperante. Se utilizó un diseño experimental de bloques con dos tratamientos más control de tres repeticiones; distribuidos de manera sistemática. El hongo se aplicó en intervalos de 20 días; se recolectaron los insectos antes mencionados a los 2, 5 y 8 días después de la aplicación. Todas las muestras se colocaron en cámara húmeda en recipientes individuales, debidamente etiquetados donde fueron observadas cada tercer día, durante 15 días. Las variables medidas fueron: número de insectos muertos por el hongo o por causas ajenas a este; rendimiento estimado de la producción, peso y número de frutos por planta y pérdida de frutos por *A. eugenii*. No se encontró diferencia estadística en la mortalidad de insectos por efecto del hongo *B. bassiana* por tratamiento con respecto al control. Sin embargo, el hongo *B. bassiana* presentó mayor patogenicidad hacia los insectos de *Erythrogonia* spp. en comparación con *B. tabaci* y *A. eugenii*. Por planta, en promedio, se cosechó 161 frutos de chile habanero cada uno con un peso de 9.7 gr.

Palabras clave. Cepa, *Beauveria bassiana*, Fitófagos, Manejo integrado, Agroecología.

Introducción

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es una de las hortalizas más cultivadas y consumidas en México, por ello su demanda aumenta y con ello su cultivo, producción y comercio (Huici, 2007). En la comunidad de Chunhuhub en Quintana Roo, este cultivo tiene gran importancia económica para los productores. Sin embargo, se realiza en sistemas simplificados con manejo convencional, con un excesivo uso de insumos externos. Recientemente, en dicha comunidad, los productores están optando por un sistema con manejo integrado en donde, además de continuar aplicando insumos químicos, utilizan algunos orgánicos comerciales y se están interesando por la implementación de barreras (maíz), rotaciones (sandía-maíz) e intercalados de cultivos (maíz-sandía o calabaza y maíz-chile). Independientemente del tipo de sistema y manejo estos presentan varios problemas, principalmente de fitosanidad como es el incremento de poblaciones de *Bemisia tabaci* Gennadius (Homóptera: Aleyrodidae), *Erythrogonia* spp. (Hemíptera: Cicadellidae) y *Anthonomus eugenii* Cano (Coleóptera: Curculionidae) que continuamente crean resistencia a los productos químicos usados



repetidamente por los productores; lo anterior provoca mayor inversión de recursos económicos, además de una baja calidad y cantidad en la producción.

El control de insectos con hongos entomopatógenos constituye un componente importante del control biológico. *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin es un agente natural que tiene alta efectividad, dependiendo de la procedencia de su cepa, además se han realizado varios estudios, en donde su uso constituye una alternativa viable dentro de un manejo integrado; ya que reduce el uso de insecticidas altamente tóxicos (Martínez, 2003), se ha registrado el uso del hongo con pirimifos-metil, fenitrotion, fentopen, clorpirifos, entre otros (Posada *et al.*, 2004). En 2011 se realizaron bioensayos preliminares de una cepa nativa de *B. bassiana* en laboratorio de José María Morelos, Quintana Roo (Tah, 2013); sin embargo se requieren realizar estudios a nivel de campo para evaluar la efectividad de la cepa sobre insectos plaga, así como fomentar la implementación de algunas técnicas agroecológicas potenciales para los sistemas productivos convencionales de la región. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de una cepa nativa de *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin sobre insectos fitófagos presentes en chile habanero, con manejo integrado en Chunhuhub, Quintana Roo.

Materiales y Métodos

La parcela de chile habanero se ubica en la comunidad de Chunhuhub, municipio de Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo, México; con dirección Avenida Carretera Chetumal-Mérida, vía corta. El terreno mide 2916 m² y no se había usado para cultivar hortalizas. La preparación del área se realizó respetando las actividades culturales del productor cooperante; el suelo fue removido con maquinaria y se instaló el sistema de riego por goteo. La siembra (variedad “jaguar”) se realizó en mayo de 2013; en charolas de plástico con sustrato comercializado. El trasplante se realizó un mes y medio después de la germinación. En general, la planta tenía una altura promedio de 10-15 cm. El productor sembró, además del chile, maíz y pepino para consumo. Dentro de la plantación se establecieron al azar plantas repelentes de albahaca y cilantro, y se colocaron trampas amarillas para el monitoreo de insectos. El productor empleó fertilizantes, pesticidas, productos orgánicos comerciales y el hongo *B. bassiana*. El riego fue por goteo. Se realizaron deshierbes manuales en toda la fenología del cultivo. Durante la producción de chile habanero a cielo abierto se registró temperaturas promedio de 26.7°C y humedad relativa del 93.5% según datos meteorológicos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

En el área experimental se establecieron 18 hileras (150 plantas en cada uno) de chile habanero con un marco de siembra de: 1.8 m entre hileras, y 50-60 cm de distancia entre plantas. El diseño experimental usado fue de bloques sistemáticos. La parcela se dividió en nueve bloques (cada uno 180 m²) con 167 plantas de chile; cada bloque estaba separado entre sí por 5 metros (efecto borde). Se manejaron dos tratamientos y el control (sin aplicación de hongo), con tres repeticiones cada una (Bustillo, 2008). Los tratamientos se conformaron con las dosis de aplicación y fueron distribuidas sistemáticamente evitando tener las repeticiones del mismo tratamiento con una cercanía entre sí (Figura 1). Las dosis fueron: 5 gr.l⁻¹ y 10.5 gr.l⁻¹ de de



hongo *B. bassiana* con sustrato de arroz más el control (solo agua). Las aspersiones de *B. bassiana* se realizaron por la tarde (17:00 hrs).

Tratamiento 1: 10.5 gr.l⁻¹ de hongo con sustrato.

Tratamiento 2: 5 gr. l⁻¹ de hongo con sustrato.

Control.

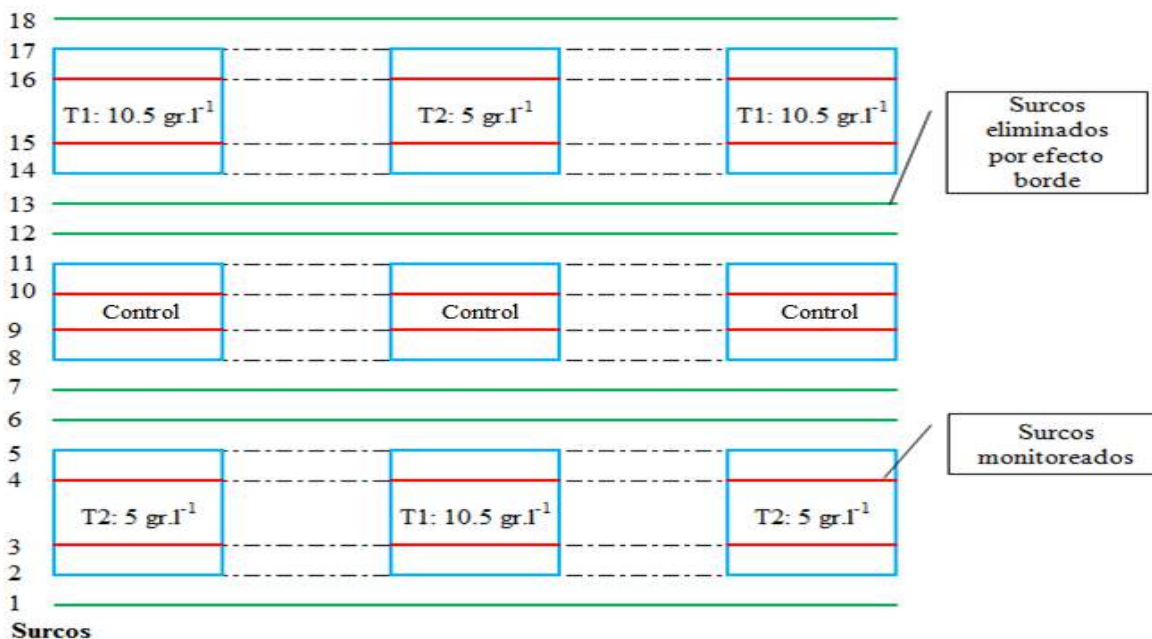


Figura 1. Distribución de tratamientos y unidad experimental del cultivo de chile habanero, Chunhuhub, Quintana Roo.

La cepa del hongo *B. bassiana* usada para el experimento, fue aislado² de una larva de *Phyllophaga* spp. (Coleóptera: Scarabaeidae) en 2010; esta cepa fue reproducida a una concentración de 7.8×10^8 conidias.ml⁻¹ en condiciones de laboratorio (25-28°C y 86% H.R.). Antes de las aspersiones, el hongo fue hidratado en tres litros agua de pozo durante 30 minutos. Las aspersiones se hicieron en la parcela cada 20 días (humedeciendo la planta completa y el suelo), esto varió por las aplicaciones de pesticidas realizadas por el productor. El hongo se aplicaba dos días después de la aspersión de algún pesticida y después de aplicar el hongo, el productor mantenía el cultivo sin pesticidas por ocho días; aunque si era necesario (por algún problema fitosanitario), el productor esperaba solo cinco días. Se recolectaron a *B. tabaci* y *A. eugenii*; debido a que en el cultivo de chile habanero se encuentra un complejo de dos especies del género *Erythrogonia*, las cuales fueron recolectadas indistintamente; en el presente documento se registra como morfoespecie. Las recolectas de insectos fueron directas y por la tarde (17:00 hrs), de acuerdo con la metodología de García y González (2010), estas se hacían a los 2, 5 y 8 días después de la aplicación del hongo. Las recolectas se realizaron en bloques

²Identificado, aislado y reproducido en el laboratorio húmedo de la Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo corroborado en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Tecomán, Colima.



diferentes (seleccionados al azar), para evitar sesgo en el muestreo por el horario. El periodo de recolecta abarcó desde el trasplante hasta la cosecha del chile habanero entre los meses de julio a octubre.

Las muestras recolectadas se colocaron en recipientes individuales (capacidad de 10 ml con tapa perforada), debidamente etiquetados y con papel filtro en el fondo (Méndez *et al.*, 2012); estas fueron trasladadas a la cámara húmeda del laboratorio de la Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo donde fueron observadas y humedecidas cada tercer día por 15 días (Carballo, 2001; Bustillo, 2008). Se registró la mortalidad del insecto a causa del hongo (presencia de hifas blanquecinas “momificación”) o ajenas a este. Durante las observaciones, la cámara húmeda del laboratorio registró, en promedio, 27°C y 89% H.R. Transcurrido el periodo de observación, las muestras sin presencia de hongo fueron desechadas y las que presentaron hongo en etapa de esporulación, se conservaron en refrigeración a 10°C, para su posterior manejo.

Se realizaron tres cosechas por semana. Previo a la primera cosecha, se eligieron 24 plantas (al azar) de cada tratamiento (2 plantas por surco), cada planta se marcó con una cinta azul para registrar cosechas posteriores (tres cosechas). Se registró peso total de chiles cosechados por planta. Por cosecha y tratamiento, al azar, se extrajeron tres chiles por planta, los cuales se pesaban y medían largo (cm) y ancho (cm) por fruto. Para conocer la pérdida en rendimiento por *A. eugenii* se realizaron recolectas de frutos caídos con síntomas de daño de este insecto. Los frutos dañados fueron pesados y una muestra fue disectada para conocer la etapa biológica del insecto, dentro del fruto. Para calcular el porcentaje de pérdida se multiplicó el total de frutos dañados ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) por 100% entre el total de frutos cosechados por hectárea durante los tres cortes. Se realizó un análisis de varianza ANOVA ($\alpha=0.05$) y una comparación de medias muestrales por Tukey (Polanco, 2010) usando el paquete estadístico *Statistica 7*.

Resultados y discusión

Se recolectaron: 183 adultos de *Erythrogonia* spp., 290 de *B. tabaci* y 17 de *A. eugenii* en campo entre los meses de julio a octubre (Figura 2).

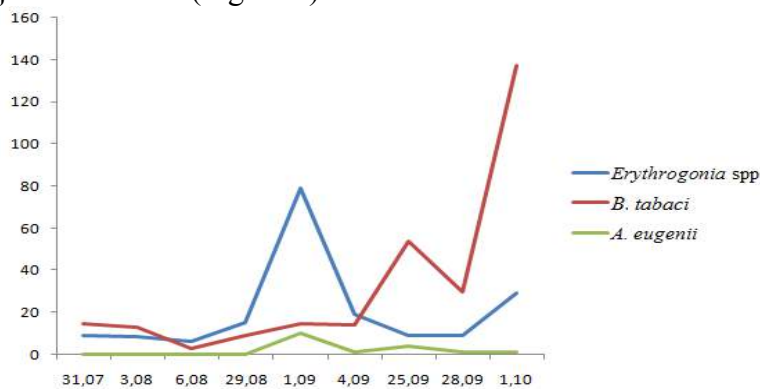


Figura 2. Cantidad de insectos capturados por recolecta, en el cultivo de chile habanero, Chunhuhub, Quintana Roo (2013).



La mortalidad de los insectos por hongo, en porcentaje, fue más alta para *Erythrogonia* spp. en comparación a los demás insectos (Cuadro 1); para el caso de *A. eugenii* únicamente se recolectaron tres insectos infectados por el hongo de un total de 17 insectos; por lo anterior no se incluye el porcentaje de mortalidad en dicho cuadro. Al comparar los promedios de mortalidad, por tratamiento con respecto al control no hubo diferencia significativa entre estos.

Cuadro 1. Porcentajes de mortalidad con y sin hongo, por tratamiento y especie en el cultivo de chile habanero, Chunhuhub, Quintana Roo.

Morfoespecie	Con Hongo			Sin Hongo		
	Tratamiento 10.5 gr. l ⁻¹	Tratamiento 5 gr. l ⁻¹	Control	Tratamiento 10.5 gr. l ⁻¹	Tratamiento 5 gr. l ⁻¹	Control
<i>Erythrogonia</i> spp.	29.0	21.3	15.8	7.7	11.5	14.8
<i>B. tabaci</i>	5.2	4.1	2.4	25.9	30.0	32.4

Se observa que el hongo tiene una tendencia de patogenicidad (“efecto”) hacia los insectos pertenecientes a la morfoespecie de *Erythrogonia* spp. no así para *B. tabaci* y *A. eugenii* (Figura 3). Al respecto, el hongo *B. bassiana* no ha sido probada sobre *Erythrogonia* spp. en condiciones de campo; solo se ha encontrado un registro en donde se usa *Dalbulus maidis* De Long & Wolcott (Hemiptera: Cicadellidae) en condiciones de laboratorio donde se reportó un 38.6% de mortalidad por *B. bassiana* (Ibarra *et al.*, 2005). Por ello, se cree que la familia Cicadellidae puede ser más susceptible a *B. bassiana*. Los valores bajos de infección para *B. tabaci* y *A. eugenii* pueden explicarse por el tipo de cepa usada, del ciclo biológico y de las características morfológicas y etológicas (aspectos comportamentales) de cada especie, lo cual dificulta el proceso de infección de los insectos; así como los factores ambientales (temperatura y humedad relativa) que influyen directamente en el proceso de germinación necesario para la infección (Orozco, 2011).

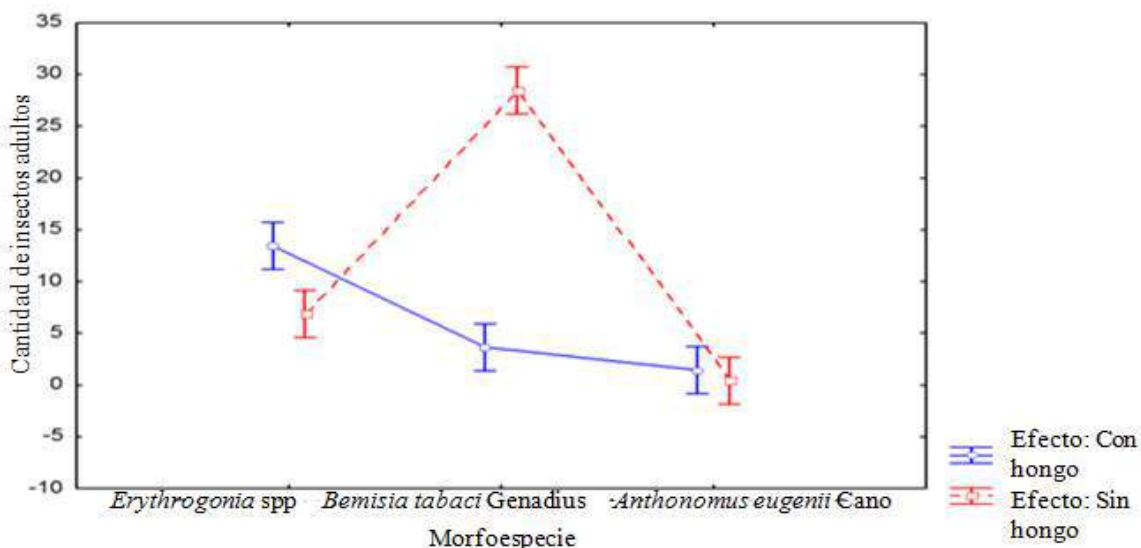


Figura 3 Efecto de *B. bassiana* sobre *Erythrogonia* spp., *B. tabaci* y *A. eugenii* recolectados en el cultivo de chile habanero, Chunhuhub, Quintana Roo (2013).

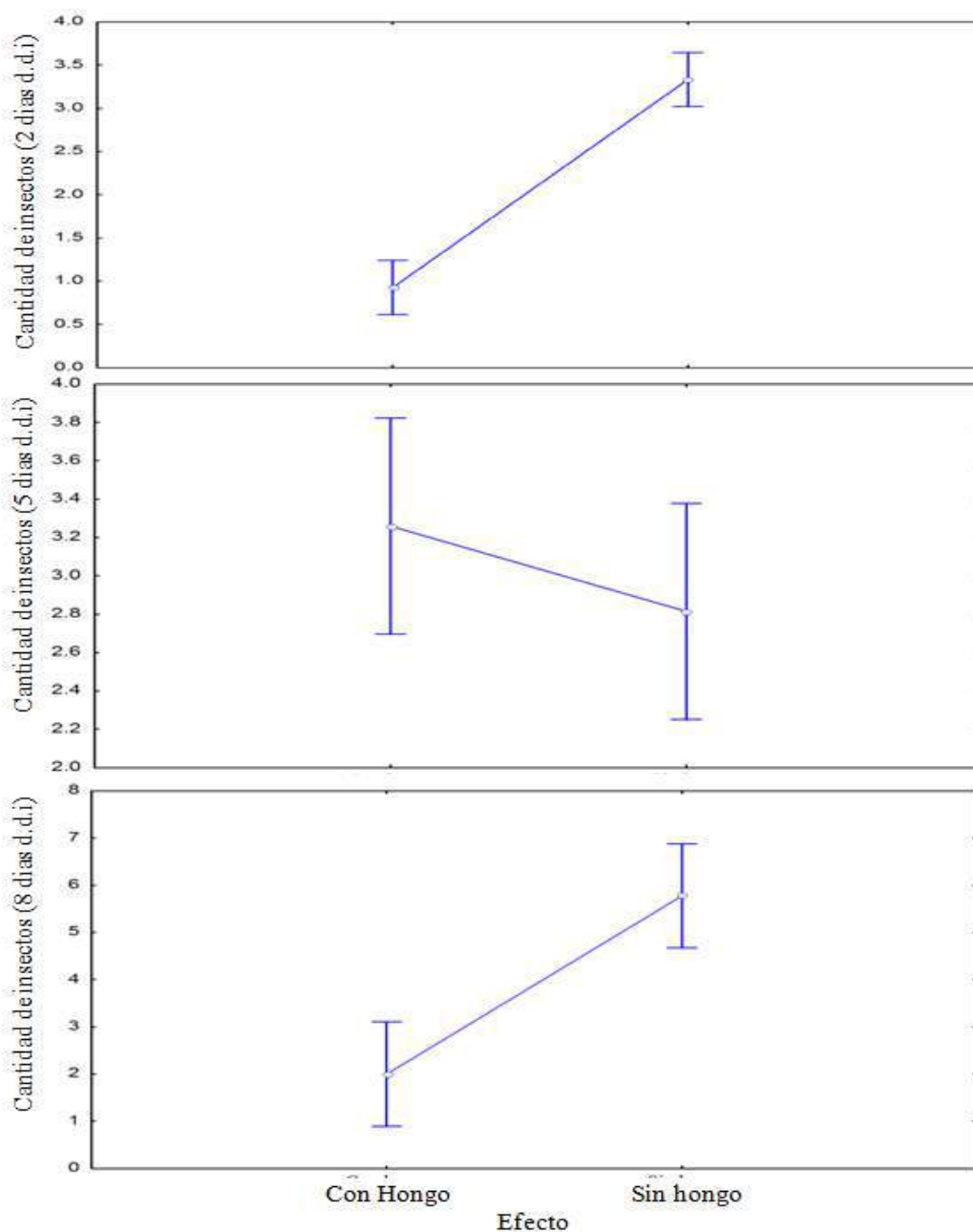


Figura 4. Efecto del hongo *B. bassiana* sobre insectos fitófagos recolectados a los 2, 5 y 8 días después de las aplicaciones del hongo en el cultivo de chile, Chunhuhub, Quintana Roo.

Al comparar la mortalidad por el hongo (“efecto”) con relación al intervalo de recolectas 2, 5, y 8 días después de las aplicaciones (dda) del hongo *B. bassiana*. Para los 2 y 8 dda se registraron menos insectos muertos por hongo, en comparación con las recolectas del día 5 (Figura 4). Estos resultados permiten considerar que la cepa de este hongo se mantiene presente en campo hasta



por cinco días y posterior a esto la efectividad disminuye (independientemente del tipo de insecto y dosis).

Por tratamiento, el rendimiento acumulado estimado no tuvo diferencia significativa con respecto al control. La producción estimada por hectárea (Figura 5), para las tres cosechas fue de 8,097 kg.ha⁻¹ a pesar de las altas precipitaciones y problemas fitosanitarios. Teh (2011) reporta una producción acumulada de 10,300 kg.ha⁻¹ (en 13 cortes), en cultivo de chile habanero con manejo agroecológico abonando el suelo por dos años consecutivos. Esta diferencia en rendimiento se debe a que el cultivo con manejo integrado tuvo alta presencia de *A. eugenii* caso contrario al cultivo evaluado por Teh.

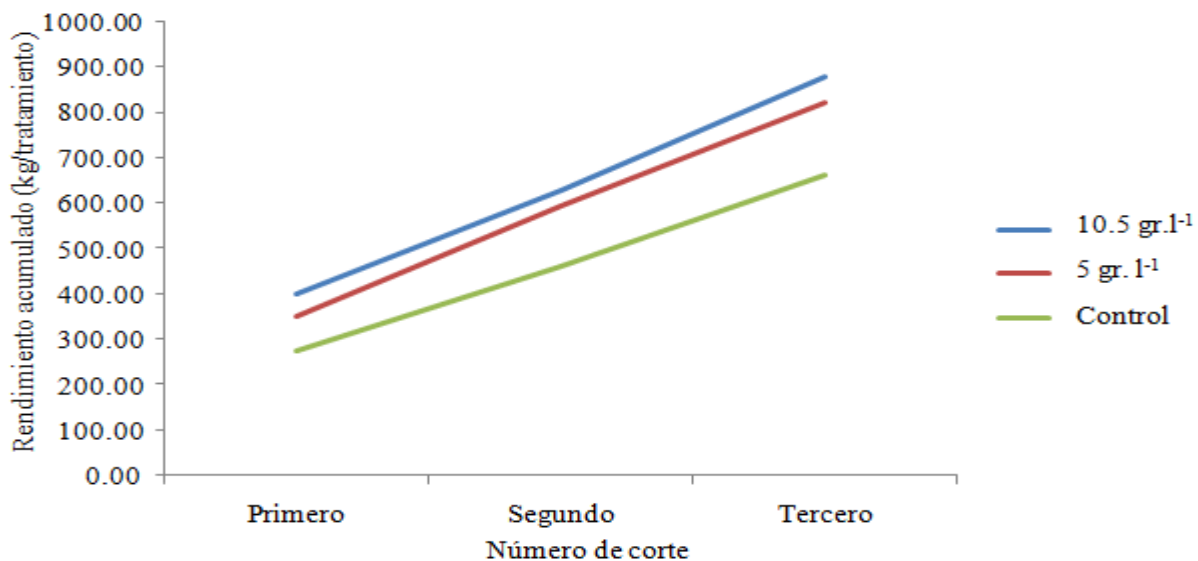


Figura 4. Rendimiento acumulado del cultivo de chile habanero, por tratamiento, en Chunhuhub, Quintana Roo (2013).

En promedio se obtuvieron frutos de 9.7 gr con una relación Largo: Ancho de 1.3 cm (largo: 3.9 cm y ancho: 3.1 cm). Por planta se obtuvo un estimado de 1.75 kg con una cantidad de 161 frutos. La producción agroecológica realizada por Teh (2011) reporta frutos con un peso aproximado de 9.4 gr y una relación Largo: Ancho de 1.2 cm. El manejo agroecológico para el cultivo de chile habanero es una alternativa viable para la zona, ya que después de dos ciclos agrícolas puede competir en rendimiento y calidad con frutos obtenidos en producciones con manejo integrado. Durante la etapa de cosecha se registró la pérdida de frutos de chile por daño de *A. eugenii*, en promedio fue de 56.7 kg por semana en toda la parcela. Los frutos recolectados tenían en su mayoría pupas (70%) y en menor medida larvas (20 %) y adultos (10%) de picudo de chile. La pérdida por *A. eugenii* representa el 9.6% del rendimiento total. Por su parte, Ucán (2010) reporta presencia de picudo de chile en bajas poblaciones durante la producción de chile habanero (10% plantas dañadas) con manejo agroecológico, en Santa Gertrudis, Quintana Roo.



Agradecimientos

A la Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, México, por el material proporcionado para llevar a cabo esta investigación.

Literatura citada

- Bustillo R., D.; Vanegas B., L. P.; Tofiño R., A. P. y Reyes B., C. A. 2008. Verificación del efecto de *Beauveria bassiana* sobre el gusano cabrito de la palma africana (*Opsiphannes cassina*) [Versión electrónica]. Consultado el 4 de junio de 2014 en <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/oferta/VERIFICACINDELEFECTO.pdf>
- Carballo (2001) Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio [Versión electrónica]. Consultado el 4 de junio de 2014 en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2114E/A2114E.PDF>
- González., C. y Suris., M. 2008. Especies de trips asociadas a hospedantes de interés en las provincias habaneras. *Iuv. Arvenses*. Pp. 2.
- Huici R., O. 2007. Manejo sostenible del cultivo de tomate: Guía de recomendaciones técnicas [Versión electrónica]. La Paz, Bolivia. Consultado el 4 de junio de 2014 en <http://plagbol.org.bo/files/Manejo%20sostenible%20del%20cultivo%20del%20tomate.pdf>
- Ibarra A., G.; Moya R., G. y Berlanga P., A. 2005. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Meterhizium anisoplia* sobre chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (DeLong y Wolcott, 1923) /Hemiptera: Cicadellidae). *Folia Entomológica Mexicana*. Año/vol. 44. Núm. 001. 6 p.
- Martínez de la C., J. 2003. Plagas en hortalizas. Mosquita blanca *Bemisia tabaci* [Versión electrónica]. Facultad de agronomía, UANL. Consultado el 4 de junio de 2014 en <http://www.agronuevoleon.gob.mx/oeidruss/hortalizas/6plagas.pdf>
- Méndez A., M. de J. y R. Ebel. 2012. Asociación de cultivos. En: Producción extensiva de chile habanero. Ebel, R. (Eds.). México. 29 p.
- Orozco P., S. C. 2011. Susceptibilidad de *Compsusn. sp. a Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Tesis de grado para obtener el título en Magíster en Ciencias-Entomología. Universidad Nacional de Colombia Sede de Medellín, Colombia. 80 p.
- Polanco. 2010. Patogenicidad de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos sobre el complejo “gallina ciega” (Coleoptera: Melonthidae) en Los Altos de Chiapas, México, pp. 266-282. En: Rodríguez del-Bosque, L. A. y M. A. Morón (eds.), Ecología y Control de Plagas Edafícolas.
- Posada F., F. J.; Villalba G., D. A. y Bustillo P., A. E. 2004. Los insecticidas y el hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café [versión electrónica]. Consultado el 4 de junio de 2014 en <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/141/1/arc055%2802%29136-149.pdf>
- Tah, S., A. G. 2013. *Beauveria bassiana* Agostino Bassi: Su efecto sobre la entomofauna presente en el cultivo de chile habanero, José María Morelos, Quintana Roo. Tesis de licenciatura para obtener el título en ingeniería en sistemas de producción agroecológicos. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, México. 28 p.
- Teh, H., J. L. 2012. Entomofauna presente en el cultivo de chile habanero con manejo agroecológico. Tesis de licenciatura para obtener el título en ingeniería en sistemas de producción agroecológicos. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, José María Morelos, México. 28 p.
- Ucán Y., C. M. 2010. Efecto del intercalado de *Tagetes erecta L.* y de la cobertura del suelo con aserrín sobre plagas severas en el cultivo de chile habanero (*C. chinense* Jacq.). Tesis de licenciatura para obtener el título en ingeniería en sistemas de producción agroecológicos. Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo, José María Morelos, México. 22 p.



NUEVA CEPA DE Bt, AF001 AISLADA DE *Aeneolamia postica* (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) PATOGENICA A *Diatraea magnifactella* (LAPIDOPTERA: CRAMBIDAE) Y *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).

Flores-Ricardez Alejandro¹, Peña-Chora Guadalupe², Torres-Quintero Mary Carmen². ¹Instituto Tecnológico de Comitán. Av. Instituto Tecnológico S/N, Km. 3.5, Yocnajib, El Rosario, Comitán de Domínguez, Chiapas. C.P. 30000. Alexo590509@gmail.com ²Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209

Resumen. Se colectaron 38 muestras de insectos muertos en la Región productora de caña de azúcar de Pujiltil y en una parcela de café orgánico. Una de las cepas aisladas de mosca pinta AF001, resultó virulenta a dos especies plaga del cultivo de caña, *D. magnifactella* y *S. frugiperda*. Los bioensayos con larvas neonatas después de los ensayos ventana a las dosis de 100 y 100 ng/μl, muestran que la CL₅₀ para *D. magnifactella* fue inferior a las reportadas en otros trabajos con la dosis encontrada de 7.72 ng/μl, y de 73.14 ng/μl para *D. magnifactella*. Quedaría pendiente probar la cepa encontrada con la especie de *D. saccharalis*, la que predomina en la Región cañera mencionada.

Palabras clave: Entomopatógenos, *B. thuringiensis*, *D. magnifactella*, *S. frugiperda*, cepa.

Introducción

La disminución del rendimiento debido a las plagas alcanza entre un 20-30% en la mayoría de los cultivos, a pesar del incremento substancial en el uso de plaguicidas (cerca de 500 mil de toneladas de ingrediente activo a nivel mundial) esto es un síntoma de la crisis ambiental que afecta a la agricultura. Por otro lado, las prácticas agrícolas modernas afectan negativamente a los enemigos naturales de las plagas, los que a su vez no encuentran las condiciones necesarias para reproducirse y así poder suprimir biológicamente a las plagas en los monocultivos (Altieri y Nicholls, 2000). Lo anterior, ha obligado a la búsqueda de alternativas amigables con el medio ambiente, y recurrir a los enemigos de las plagas que ya están presentes en los mismos cultivos que son afectados por éstas.

En 1911, Berliner en Turingia, Alemania, determinó que un bacilo esporulante y cristalífero, al cual denominó *Bacillus thuringiensis* (Bt), era el causante de la muerte de larvas de *Anagasta khuniella*. *B. thuringiensis* presenta un cristal parasporal de forma bipiramidal, romboide, cuadrado o amorfo, de naturaleza proteínica que es el responsable de la capacidad insecticida; su toxicidad es muy variada y depende del tipo de cristal. Los insecticidas derivados de esta bacteria constituyen el ejemplo más importante de este tipo de productos y ocupan la mayor parte del mercado mundial de bioinsecticidas. Estos productos se han utilizado comercialmente y han sido aceptados como productos biodegradables y seguros para los vertebrados y el ambiente (Fernandez, 2002).



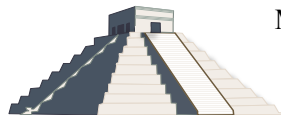
En México, la mayor parte de los bioproductos de Bt que se aplican en la agricultura proceden de los Estados Unidos y apenas actualmente se realizan los primeros intentos en la elaboración de este tipo de bioinsecticidas en nuestro país, por lo tanto, existe la necesidad de contar con cepas nativas para ello (Reynoso, *et al.* 2013). Dada esta necesidad, la búsqueda de nuevas cepas de Bt activas contra insectos plaga dio origen a este trabajo, ya que en la Región cañera de Pujilic, Chiapas, no se cuenta con cepas nativas de Bt que sean una alternativa en el manejo de plagas importantes del cultivo, como son *D. saccharalis* y *Spodoptera frugiperda*. Así mismo, el costo de producción del cultivo se eleva al controlar dichas plagas mediante el uso de insecticidas. El objetivo de la investigación fue la búsqueda de cepas nativas de Bt de la región con potencial insecticida hacia las plagas mencionadas.

Materiales y métodos

El trabajo con *Bacillus thuringiensis* se inició con una colecta de muestras de suelo en 2013, en la Región productora de caña de azúcar de Pujilic, en el Estado de Chiapas. Se visitaron áreas cuyas alturas aproximadas son de 600, 700, 750 y 800 msnm, aproximadamente. Al mismo tiempo, se tomaron muestras de insectos muertos, la mayoría sobre la planta y otros al nivel de suelo, ya que se tiene referencia de que hay más posibilidades de encontrar cepas de Bt virulentas a plagas si se aíslan de estos insectos. En la colecta, se tomaron muestras de 25 insectos muertos en diferentes partes de las plantas, tanto en el follaje como al nivel del suelo. Un segundo muestreo de 13 muestras más se realizó en una parcela de café orgánico, con el propósito de evitar áreas expuestas a plaguicidas.

Las muestras se llevaron al Laboratorio de Parasitología Vegetal del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM, para ser procesadas. A las muestras se les agregó 1 ml de medio de esporulación (SP). Con el propósito de eliminar las bacterias no esporulantes, las muestras se someten a choque térmico, el cual consiste en colocar los tubos en un Thermomixer, a la temperatura de 60 °C durante una hora con agitación. Una vez listas las muestras, se toma una asada de cada una de ellas y se siembran en estría en el medio de cultivo Luria-Bertoni (LB). Las cajas Petri sembradas se llevan a incubación por 72 horas a 28 ± 2 °C, tiempo en el que se forman las esporas y cristales para la identificación de las colonias con Bt. Las características que indican la presencia de Bt son bacilos alargados con una espora en su interior, así mismo, pueden estar presentes cristales redondos, bipiramidales, cuadrados, etc., en su interior se observan de color verde o fuera de las células. Otras muestras presentaron solo las esporas.

Las cepas seleccionadas por sus características de Bt, se siembran en cultivo puro, y el crecimiento correspondiente a $\frac{1}{4}$ de la caja, se vierte mediante asa de siembra a un tubo eppendorf con 1 ml de agua destilada estéril, se pasa por el vortex y queda listo para ser usado en los bioensayos. En tubos eppendorf aparte, se colocan 798 ml de agua destilada estéril, y se le agregan 2 μ l de la suspensión de espora cristal para cuantificar la cantidad de proteína de cada cepa. A cada tubo se le agregan 200 μ l del colorante Bradford, con lo que se completan 1000 μ l y se llevan al espectrofotómetro para medir la absorbancia. Este dato se mete a una ecuación de



regresión estandarizada para Bt y nos da la cantidad de $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de proteína que tiene cada muestra de Bt.

Para los bioensayos ventana, con el dato de la proteína $\text{ng}/\mu\text{l}$, se calculan las dosis de 100 y 1000 $\text{ng}/\mu\text{l}$, dosis a las que son sensibles a Bt las dos especies de insectos plaga, *S. frugiperda* y *Diatraea saccharalis*, de las cuales se ensayó con larvas neonatas. Los 24 pozos de 2 cm de diámetro de las charolas, se rellenan con la dieta de la larva, agregando 1.5 ml por pozo. Una vez gelificada la dieta, se agrega la dosis por pozo correspondiente a las dos dosis mencionadas. Para *S. frugiperda*, las dosis que permitieron evaluar la virulencia de la cepa AF001, a la cual fueron sensibles las dos especies, mediante el análisis probit con el programa Polo Plus, fueron de 0, 50, 100, 200, 400, 600, 1000 y 1500 $\text{ng}/\mu\text{l}$, con *D. saccharalis*, las dosis probadas fueron 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 $\text{ng}/\mu\text{l}$. Los resultados corresponden a la media de 3 repeticiones.

Resultados

El ensayo con larvas de *D. magnifactella*, se eliminó al 100% de las larvas con ambas dosis, lo que indicaba que la CL_{50} era inferior a los 100 $\text{ng}/\mu\text{l}$. Con respecto a *S. frugiperda*, la mortalidad con la dosis de 100 $\text{ng}/\mu\text{l}$, apenas alcanzó al 50% de las larvas y con la dosis de 1000 $\text{ng}/\mu\text{l}$, se eliminaron el 98% de las larvas, lo que hacía suponer que la CL_{50} sería superior a la dosis de 100 $\text{ng}/\mu\text{l}$. Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

Cuadro 1 – Concentración Letal Media (CL_{50}) de la Cepa de Bt AF0001 para el control de *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.

Dosis ($\text{ng}/\mu\text{l}$)	limites	0.90	0.95	0.99
LD50 BIO3 73.140	inferior	50.029	45.891	38.080
	superior	99.113	104.495	115.478

Como se observa en el cuadro 1, la CL_{50} fue de 73.14 ng/ml , es inferior a la esperada en el ensayo ventana. Lo interesante de esta especie es que a pesar de no ser muy activa, parece ser resistente a la exposición a Bt, al tolerar una mayor concentración de espora-cristal al ser consumidas en su alimento.

La exposición de *Diatraea magnifactella* a Bt en el ensayo ventana expresó una alta mortalidad de larvas a una concentración de espora-cristal más baja, comparada con la que se obtuvo con *Spodoptera frugiperda*, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2 – Concentración Letal Media (CL_{50}) de la Cepa de Bt AF0001 en el control de *Diatraea magnifactella* bajo condiciones de laboratorio.

Dosis ($\text{ng}/\mu\text{l}$)	limites	0.90	0.95
LD50 BIO Diat 7.728	inferior	1.673	0.399
	superior	13.144	14.632



De acuerdo a los resultados obtenidos, la CL_{50} de Bt obtenida para *D. magnifactella* con la cepa AF0001 resultó ser muy baja comparada con las reportadas con otras cepas de Bt, lo que la hace una cepa prometedora para ser usada para el control biológico de esta plaga.

Discusión

El resultado obtenido sobre la mortalidad las larvas de *D. magnifactella* al determinar la CL_{50} nos muestra que la dosis de 7.78 ng/ μ l encontrada es inferior a la que obtuvo Yaritza Reinoso-Pozo (2013) en sus bioensayos con *M. sexta* y *T. ni*, al obtener las dosis del complejo espora cristal de 10 y 12.5 ng/cm². La alta toxicidad de la cepa encontrada se refuerza por hecho de que la misma autora menciona algunas cepas como Bt HD-1, usadas tradicionalmente para el control de plagas de lepidópteros tienen una concentración letal media aproximada de 67 ng/cm².

Luna *et al.* (2003) reportan que varias cepas de *Bacillus thuringiensis* fueron probadas con *D. saccharalis*. En bioensayos, las cepas HD-133, HD-551, GM-7, GM-10, and GM-34 causaron más del 50% de mortalidad con una concentración de 50 μ g/ml del complejo espora-cristal, y fueron seleccionadas como cepas tóxicas. El valor más bajo en la CL_{50} correspondió a GM-34 con 33.21 μ g/ml. Los valores que se reportan son aún más altos que el encontrado en este trabajo, sin embargo, corresponden a *D. magnifactella*, y faltaría probar el efecto de la cepa AF001 contra *D. saccharalis*, especie que se encuentra en la Región de Pujilic, de donde fue aislada de mosca pinta.

Agradecimientos

La investigación es producto de una estadía técnica realizada en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. Guadalupe Peña Chora, investigador perteneciente al SNI.

Literatura citada

- Altieri, M., Nicholls C. I. 2000. Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable. Serie textos básicos para la formación ambiental. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. 250 p.
- Fernandez, O. , Vega, L. Tecnologías de producción de *Bacillus thuringiensis*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 64 p. 110 - 115, 2002.
- Luna Santillana, Erick de y Medrano Roldán, Hiram y Galán Wong, Luis Jesús y Arévalo Niño, Katiushka y Morales Ramos, Lilia H. (2003) *Desarrollo y evaluación de formulados de B. Thuringiensis contra Diatraea saccharalis*. Ciencia UANL, 6 (4). ISSN 1405-9177
- Reynoso, P.Y., Luévano, B. J. y Ibarra, J.E. Caracterización de una cepa de *Bacillus thuringiensis* altamente tóxica a lepidopteros. XXVI Congreso Nacional de Control Biológico. 7 y 8 de Noviembre de 2013. Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México. Ed. Alfonso Vásquez López, Rafael Pérez Pacheco.



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE CEPAS NATIVAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS AISLADOS DEL GUSANO COGOLLERO DEL MAÍZ *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE).

Juan Gerardo Marmolejo-Ramírez¹, Jonatan Carmen Rangel-Núñez¹, Margarita Ramírez Ramírez¹, Ana Martha Cruz-Ávalos¹ y María Cristina del Rincón-Castro¹. ¹Departamento de Alimentos, Posgrado en Biociencias, División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Apdo. Postal 311, 36500 Irapuato, Gto. cdelrincon@ugto.mx

Resumen. En el presente trabajo se aislaron e identificaron a nivel molecular siete aislamientos de hongos entomopatógenos a partir de larvas infectadas del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* aisladas en las comunidades de San Nicolás, Adjuntas y El Copal en Irapuato y de la comunidad de María Gómez en Salamanca, Guanajuato. Cada una de las larvas infectadas con hongos se colocó en una cámara húmeda, para que las estructuras reproductivas del hongo se desarrollaran. Posteriormente los hongos se purificaron en cajas Petri con medio PDA. La extracción de DNA se realizó a partir del micelio. Con éste se realizaron los PCR, utilizando los oligonucleótidos universales para hongos ITS4 e ITS5, con los cuales se obtuvieron amplicones de entre 540 y 600 Kb. Estos amplicones se secuenciaron y se analizaron en la base de datos del GeneBank. Se evidenció que los siete amplicones secuenciados de los diferentes aislados de hongos tenían un porcentaje de identidad del 98-100% con el hongo *Nomuraea rileyi*. También se comparó el porcentaje de identidad que guardaban los aislados entre sí, el cual fue de entre el 98-100%, con lo cual se concluye que no son cepas diferentes de dicho, sino re-aislamientos de la misma cepa.

Palabras clave: *Spodoptera frugiperda*, gusano cogollero, maíz, hongos entomopatógenos, PCR

Introducción

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) es una de las plagas de mayor importancia del Maíz (*Zea mays* L.) en Latinoamérica (Castillejos *et al*, 2004), llegando a causar pérdidas en el rendimiento que van desde un 30% hasta un 40% (Rodríguez y De León, 2008). En los últimos años la utilización de hongos entomopatógenos como control de esta plaga, ha ido en aumento, principalmente debido a su modo de acción y por la búsqueda de nuevas estrategias que eviten los casos de resistencia a insecticidas; ciertos hongos poseen características muy especiales que les permiten sobrevivir en forma parasítica sobre los insectos y en forma saprofita sobre material vegetal en descomposición. El hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, 1974 (Ascomycota:Hypocreales) tiene una distribución mundial y es un importante enemigo natural de especies de lepidópteros plaga. Se considera como candidato potencial para emplearse en el control microbiano, se ha estimado que una temprana introducción de conidias de *N. rileyi* en una baja población de lepidópteros puede ser suficiente para mantener niveles altos de inóculo infectivo y por medio de esto regular las poblaciones de insectos plaga (SENASICA, 2009). En el presente trabajo se aislaron e identificaron a nivel molecular, mediante PCR, a siete cepas nativas del hongo entomopatógeno



Nomuraea rileyi aisladas de larvas del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* recolectadas en campo en los municipios de Salamanca e Irapuato, Guanajuato.

Materiales y Métodos

Cepas. Se utilizaron siete cepas nativas, aisladas de gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* en las comunidades de El Copal, Irapuato, Gto., San Nicolás, Irapuato, Gto., Adjuntas, Irapuato, Gto., y María Gómez, Salamanca, Gto., las cuales fueron clasificadas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Municipios donde se colectaron las cepas y clave de identificación.

Clave de aislamiento	Lugar de Recolección
1H	El Copal, Irapuato, Gto.
3H	Adjuntas, Irapuato, Gto.
4H	Adjuntas, Irapuato, Gto.
5H	San Nicolás, Irapuato, Gto.
7H	Adjuntas, Irapuato, Gto.
8H	María Gómez, Salamanca, Gto.
9H	San Nicolás, Irapuato, Gto.

Colonia de *S. frugiperda*. La colonia de *S. frugiperda* se mantuvo bajo condiciones de insectario (25°C; 60% de humedad relativa y un fotoperíodo de 16:8 Luz/Oscuridad), alimentándose con dieta artificial a base de agua destilada, agar, maíz molido, levadura, germen de trigo, polvo de espiga de trigo, ácido ascórbico, ácido sórbico, metilparabeno, mezcla de sales, frijol de soya molido, formaldehído, antibiótico y mezcla de vitaminas, en el Laboratorio de Biotecnología Alimentaria y Vegetal de la División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, de la Universidad de Guanajuato.

Purificación en cámaras húmedas. Para el desarrollo y/o crecimiento de las cepas de hongos en cámaras húmedas, se tomaron las larvas, previamente colectadas en campo, las cuales presentaban sintomatología de hongos (cubiertas por micelio blanco), y se colocaron en cajas Petri, a manera de cámara húmeda, se colocó papel estraza estéril y agua destilada estéril, esto para mantener la húmeda, se colocaron en la incubadora, a 29° de 10 a 15 días, hasta que el micelio de cada muestra se desarrolló, y/o estas esporularon. Una vez que el micelio se desarrolló en las cámaras húmedas, se hizo la transferencia del micelio a una caja Petri con medio PDA (Papa, dextrosa y agar 39g/L de agua), se colocaron en incubación a 28°C por 10 a 15 días, para que el micelio se desarrollara.

Extracción de DNA. Para realizar la extracción de DNA se colocó el buffer de extracción (200mM Tris HCl pH:8, 250mM NaCl, 25mM EDTA Y 0.5% SDS) en el thermoblock a 70°C, se cosechó el micelio de las muestras con una espátula de acero (estéril) y se colocó en un mortero (estéril), se maceró el micelio, adicionando 500µl de buffer de extracción caliente, para que el micelio se pudiera macerar mejor, el micelio ya macerado se recuperó en tubos eppendorf de



1.5ml y se colocaron en el thermoblock a 70°C durante 1 hora, pasado este tiempo se les agregó 500µl de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) agitándolos suavemente por 10 minutos, se centrifugaron a 14000rpm durante 20 minutos, la fase acuosa se transfirió a un tubo eppendorf nuevo y se le agregó un volumen igual de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (500µl aproximadamente), la mezcla se vortexearon por un minuto y se centrifugaron nuevamente a 14000rpm por 10 minutos, se transfirió la fase acuosa en un tubo nuevo y se adicionaron 500µl de isopropanol frío, mezclándose por inmersión un minuto, se centrifugaron a 14000rpm por 5 minutos, se desechó el sobrenadante y se secó la pastilla, se re-suspendió la pastilla de DNA en una solución de resuspensión (EDTA 1mM, Tris 10mM pH:8) en un volumen de 20µl. Una vez realizadas las extracciones, se corrieron en geles de agarosa 0.7% (0.7 g Agarosa/100ml TAE 1x), se corrieron a 90 volts por un tiempo aproximado de 40 minutos o hasta que la banda avanzara hasta $\frac{3}{4}$ del gel, corriéndose del polo negativo hacia el polo positivo, ya que el DNA tiene carga negativa, los tubos eppendorf con las muestras de DNA se almacenaron a -20°C.

Cuantificación de DNA. Una vez realizadas las extracciones, se realizó también una cuantificación de DNA en Nanodrop (ThermoScientific, modelo 1815), el equipo primero se calibró, agregando un µl de agua destilada estéril (ADE), se hizo la lectura correspondiente, esperando que la pantalla del nanodrop marcara ingresar muestra, este paso se puede repetir más de una vez, una vez calibrado se tomó un µl de DNA y se realizó la lectura correspondiente.

PCR. Se realizó el PCR de las muestras utilizando las siguientes condiciones 94°C temperatura de desnaturalización durante cuatro minutos, y 35 ciclos de 94°C por 40 segundos con una temperatura de alineamiento de 50°C durante 40 segundos y una temperatura de extensión de 72°C por 45 segundos, finalmente una temperatura de 72°C por 10 minutos, los oligonucleótidos utilizados fueron los ITS 5 (directo) 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' y el ITS 4 (reverso) 5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3', la mezcla utilizada para realizar los PCR fue la siguiente 16µl de ADE, 2.5µl de Buffer 10x PCR MgCl₂, 2.5µl de dNTP's 10mM, un µl del oligo directo, un µl del oligo reverso, 1.5µl de MgCl₂, 0.3µl de Taq Polymerase y 1.2µl de DNA, para obtener un volumen final de 26µl. Esta mezcla se colocó en el termociclador BioRad modelo T100, y se corrieron en un gel de agarosa 0.7% a 90 volts por un tiempo aproximado de 45 minutos, o hasta que las bandas se veían más allá de $\frac{3}{4}$ del gel, los tubos Eppendorf se almacenaron a -20°C debidamente etiquetados. Los amplicones obtenidos se enviaron a secuenciar a Macrogen (Estados Unidos) y las secuencias obtenidas se analizaron y compararon en el Gene Bank.

Resultados y Discusión

Purificación en cámaras húmedas. Se purificaron siete aislamientos de hongos en cámaras húmedas (Fig. 1A), los cuales se obtuvieron a partir de larvas de *S. frugiperda*, que fueron recolectadas en las comunidades de San Nicolás, Adjuntas y El Copal de Irapuato, Gto., así como también en la comunidad de María Gómez perteneciente a Salamanca, Gto. Todos los aislamientos presentaron esporas con la morfología típica del hongo *N. rileyi* (Fig. 1B).

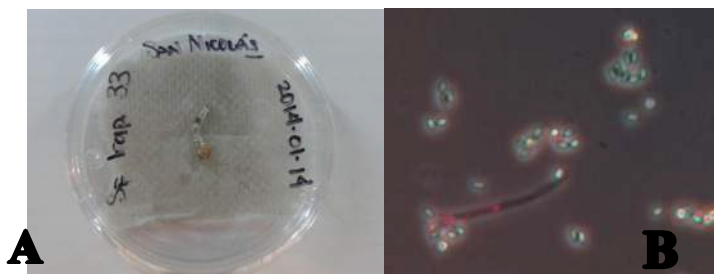


Figura 1.- A). Aislado 9H en cámara húmeda, con síntomas de infección con un hongo entomopatógeno. B). Esporas de *Nomuraea rileyi* teñidas con azul de algodón, observadas en el objetivo 40X en un microscopio de contraste de fases (Carl Zeiss, modelo axio Lab A1), la cual se obtuvo de la purificación en PDA de 9H.

Extracción de DNA. Como puede observarse en la figura 2 se logró extraer DNA total de buena calidad en los siete aislamientos de hongos en cantidades que fluctuaron entre los 40 y 2000 ng/ μ l.

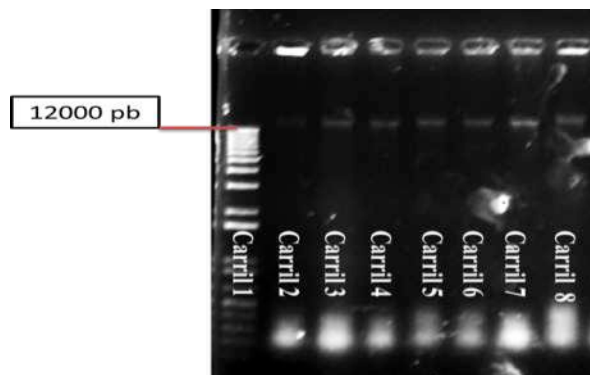


Figura 2. Extracción de DNA total de aislamientos de hongos. Carril 1: marcador de peso molecular Ladder 1kb Plus (Invitrogen), carril 2: 9H, carril 3: 8H, carril 4: 7H, carril 5 : 5H, carril 6: 4H, carril 7: 3H y carril 8: 1H.

Cuantificación de DNA. Para la muestra 1H se obtuvieron 1312.6 ng/ μ l de DNA, muestra 3H= 1050.8 ng/ μ l de DNA, muestra 4H= 45.5 ng/ μ l de DNA, muestra 5H= 658.1 ng/ μ l de DNA, muestra 7H= 1590.1 ng/ μ l de DNA, muestra 8H= 897 ng/ μ l de DNA, muestra 9H= 1934.7 ng/ μ l de DNA (Tabla 2).

Tabla 2. Cantidad de DNA en ng/ μ l de las siete cepas.

MUESTRA	ng/ μ l
1H	1312.6
3H	1050.8
4H	45.5
5H	658.1
7H	1590.1
8H	897
9H	1934.7

PCR. Se obtuvieron diferentes amplicones al realizar los PCR con los oligonucleótidos ITS4 e ITS5. Como puede observarse en la figura 3, para el aislamiento 9H se obtuvo un amplicón de



650pb (Fig. 2, Carril 2), para el aislamiento 8H éste fue de 600 pb (Fig. 2, Carril 3), para el 7H fue de 700 pb (Fig. 2, Carril 4), para el aislamiento 5 fue de 720 pb (Fig. 2, Carril 5), para el 4H no se obtuvo amplicón (Fig. 2, Carril 6), para el 3H fue de 600 pb (Fig. 2, Carril 7), y para el aislamiento 1H fue de aproximadamente 650 pb (Fig. 2, Carril 8).

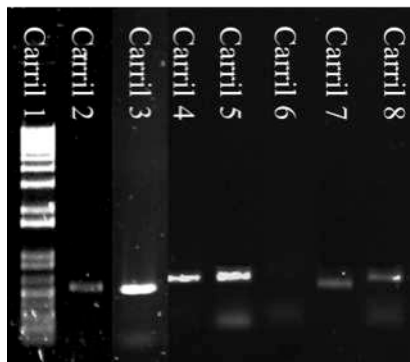


Figura 2. PCR de los diferentes aislamientos de hongos. Carril 1: marcador de peso molecular Ladder 1kb Plus DNA (Invitrogen), carril 2: 9H, carril 3: 8H, carril 4: 7H, carril 5: 5H, carril 6: 4H, carril 7: 3H y carril 8: 1H.

Es común encontrar en el campo aislamientos de hongos causando epizootias en larvas infectadas de *S. frugiperda* (Villamizar *et al*, 2004). En este trabajo se comprobó esto. No obstante, es importante continuar con la búsqueda de cepas más virulentas de este hongo, a fin de poder desarrollarlas como bioinsecticidas más potentes. En esta investigación se tuvieron diversos problemas para lograr la esporulación de los diferentes aislados, lo cual limitó la realización de bioensayos. En trabajos realizados por otros autores (Silva y Loch, 1987) ellos intentaron producir el hongo en granos de arroz suplementarios con extracto de levadura y observaron que el crecimiento del hongo en este medio fue muy pobre. En este trabajo se obtuvieron resultados similares utilizando como sustrato solamente Agar papa dextrosa. Por otro lado, entre los siete aislamientos a los que se les realizó PCR, se presentó en promedio un tamaño de amplicones entre 600 y 700 pares de bases. A pesar de que se observaron diferencias leves en las secuencias de estos amplicones, éstas podrían representar diferencias genéticas más marcadas en los aislamientos y esto podría relacionarse con diferencias en los niveles de patogenicidad de dichos hongos, pero es necesario realizar bioensayos cuantitativos para verificar esta hipótesis y evaluar el potencial real de dichos aislamientos.

Literatura citada



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Castillejos Vasty, Javier Trujillo, Laura D Ortega, J. Antonio Santizo, Juan Cisneros, Dora I Penagos, Javier Valle, and Trevor Williams. 2004. Granular phagoestimulant nucleopolyhedrovirus formulations for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Control*. 24 (3): 300-310.
- Rodríguez, M., R. y C. De León. 2008. El Cultivo del Maíz. Temas selectos. 1º ed. Editorial Colegio de Posgraduados, Mundi-Presna México. pp 29-45.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 1999. *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson en el control microbiano de lepidópteros plaga. Ficha Técnica CB-09. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Tecomán, Colima.
- Silva, L y Loch, L. 1987. Esporulacao do fungo entomopatogenico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em meio de cultura a base a graos de arroz polidos. *An. Soc. Entomol. Brasil* 16 (1): 213-222.
- Villamizar L, Carolina Arriero, Carlos Felipe Bosa y Alba Marina Cotes. 2004. Desarrollo de preformulados a base de *Nomuraea rileyi* para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 30 (1): 99-105.



CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS *IN VIVO* E *IN VITRO* DE DOS CEPAS DE BACULOVIRUS CON ACTIVIDAD INSECTICIDA HACIA EL GUSANO FALSO MEDIDOR DE LA COL, *Trichoplusia ni* (HÜBNER) (LEPIDÓPTERA:NOCTUIDAE).

Paloma Dávila-Álvarez¹; Mayra Chico-Andrade¹, Ingrid Zanella-Saenz¹, Ma. de los Ángeles Bivian-Hernández¹, y Ma. Cristina Del Rincón-Castro¹. ¹Departamento de Alimentos y Posgrado en Biociencias. División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Apdo. Postal 311, 36500. Irapuato, Guanajuato, México. cdelrincon@ugto.mx

Resumen: El Bajío mexicano es un importante productor de crucíferas, no solo para el mercado nacional sino también para exportación; dicho mercado tiene condiciones sobre los productos químicos y los insectos en el producto, por todo esto se busca encontrar baculovirus con potencial bioinsecticida. En el presente trabajo se analizaron las distintas proteínas que se expresan tanto en la línea celular High Five (BTI-TN-5B1-4), de *Trichoplusia ni*, como en larvas de la misma especie, después de ser infectadas con los baculovirus TnSNPV (LBIV-4) y TnGV (LBIV-12) a distintos tiempos pos-infección. Al analizar estos perfiles de proteínas, se detectaron algunas diferencias, sin embargo en la línea celular no se produjeron CO's de ninguno de los baculovirus, además se buscó comparar las proteínas que se expresan mediante una infección *in vivo*, e *in vitro* a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. También se determinaron las concentraciones letales medias (CL₅₀s) de estos baculovirus mediante la realización de bioensayos, se determinó como la cepa más virulenta fue la LBIV-4, con una CL₅₀ de 12,618 CO's/ml, más de 180 veces más virulenta que el granulovirus LBIV-12 con una CL₅₀ de 2'312,090 CO's/ml.

Palabras clave: *Trichoplusia ni*, High Five, baculovirus, bioensayos, proteínas.

Introducción

En México se siembran alrededor de cincuenta mil hectáreas de crucíferas. Entre las principales plagas de estos cultivo se encuentra el gusano falso medidor: *Trichoplusia ni* Hübner (1802) (Lepidóptera: Noctuidae), que se alimenta del follaje de estas (Bujanos, 2000) y afecta el rendimiento y calidad del producto comercial (Suárez, 2006). Los productores agrícolas tienen poco conocimiento de estrategias de control alternativas (Maxwell *et al.* 2006; Rojas *et al.* 2006), por lo anterior, continúan utilizando productos químicos como única forma de control (Bujanos 1999; Fernández & Vázquez 2003). Como consecuencia, los residuos químicos y heces o presencia de insectos afectan la calidad del producto (Santoyo y Martínez, 2011). Por todo esto se ha tratado de implementar el control biológico, mediante el empleo de entomopatógenos como lo son los virus. Existe una amplia diversidad de virus entomopatógenos, con alta efectividad como bioinsecticidas, pues cuentan con características deseables como alta patogenicidad, especificidad al huésped, bajo riesgo para los insectos no blanco, ausencia de residuos tóxicos, fácil aplicación, etc. (Williams, 2002). En el presente trabajo se evaluó la capacidad insecticida de las cepas TnGV (LBIV-12) y TnSNPV (LBIV-4) previamente caracterizadas por Del Rincón e Ibarra (1995). Además se evaluó la expresión de proteínas, *in vivo* e *in vitro* de las cepas TnGV (LBIV-12) y la cepa TnSNPV (LBIV-4) de baculovirus con actividad insecticida hacia el falso



medidor de la col, *Trichoplusia ni*, a distintos tiempos post-infección, para tratar de diferenciar a las proteínas que se expresan en los tejidos de los insectos, de las proteínas expresadas por una infección por baculovirus (Bivián, 2013), y realizar la comparación de la expresión proteica después de una infección *in vivo* contra *in vitro*.

Materiales y Métodos

Infección de la línea celular High Five (BTI-TN-5B1-4) con el virus TnSNPV (LBIV-4) y TnGV (LBIV-12) para evaluar la expresión de proteínas a distintos tiempos post-infección. Se emplearon 1×10^7 CO/ml para inocular sobre la dieta de *Trichoplusia ni*. Se colocaron 10 larvas de 4° instar por caja. Se incubó 48 horas, se colectó la hemolinfa, se sangraron unas gotas de hemolinfa de cada larva, y se resuspendieron en 2 ml de medio de cultivo Excel405 (Nalgene) con BSA y Glutathion, se filtró con filtro estéril de $0.22 \mu\text{m}$ y se almacenó a -20°C . 2 días antes de colectar la hemolinfa se prepararon botellas de cultivo con 1×10^6 células por frasco en 4-5ml de medio fresco. Una vez listas las células, se retiró el medio viejo y se agregaron los 2 ml de medio (medio ExCell405+hemolinfa+BSA+Glutathion) y se incubó por 2 horas con movimientos suaves cada 15 minutos, transcurridas las 2 horas se retiró el medio con VE y se agregó medio fresco. Se recolectó un stock a las 24, 48, 72, 96, 120 horas y con estas muestras se elaboran los geles de poliacrilamida, según el método descrito por Laemmli, en 1970. Se analiza el gel en el fotodocumentador (GEL DOC).

Infección de larvas de *Trichoplusia ni* con los baculovirus LBIV-4 y LBIV-12 para evaluación de la expresión de proteínas a distintos tiempos post-infección. Se prepararon soluciones con $100 \mu\text{l}$ de CO's de cada baculovirus, añadiendo $90 \mu\text{l}$ de agua destilada estéril, y $10 \mu\text{l}$ de miel de maíz. Se separaron 10 larvas para cada baculovirus y otras 10 larvas para el testigo negativo, se dejaron 24hrs sin alimento, posteriormente se ofreció una gota de una mezcla de miel más baculovirus de cada una de las cepas por separado. Se tomaron larvas para los distintos tiempos post-infección, se maceraron con ayuda de 1 mortero estéril. A partir de estas muestras se realizaron geles desnaturizantes de acrilamida para detectar las diferentes proteínas. Los geles se analizaron y fotografiaron en un fotodocumentador (Gel Doc, BioRad).

Bioensayos para determinar la CL_{50} de los baculovirus LBIV-4 y LBIV-12. Se partió de una dosis de 8.4×10^4 CO's para LBIV-4, con un factor de dilución de 0.5 y de 1.0×10^7 CO's para LBIV-12 con factor de dilución de 0.5, se prepararon 6 dosis de inóculo de cada cepa. Se repartió cada una de las 6 dosis de cada cepa en dos volúmenes iguales de $500 \mu\text{L}$ colocando un volumen de la dosis a 1 caja con dieta artificial de *Trichoplusia ni*, posteriormente se colocaron 10 larvas de primer instar de *Trichoplusia ni* por caja de Petri con dieta artificial, es decir 20 larvas por dosis, además se dejó un testigo negativo para cada cepa viral. El bioensayo se leyó a los 5 días, mediante la cuantificación de la mortalidad. Los bioensayos se realizaron hasta obtener tres repeticiones válidas que cumplieran con los parámetros estadísticos previamente establecidos. (Ibarra y Federici, 1987). Estos bioensayos se analizaron mediante el programa estadístico Probit.

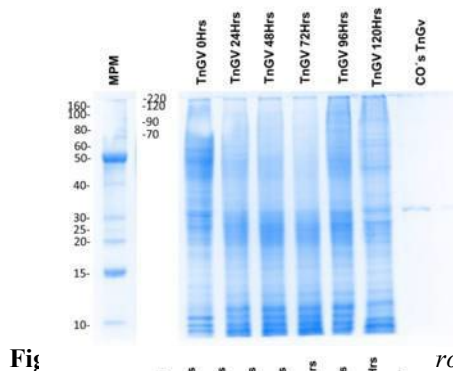


Resultados y Discusión

En las figuras 1 y 2 se muestran los geles de poliacrilamida realizados a partir de la infección de la línea celular High-Five, mientras que en las figuras 3 y 4 se incluyen los geles de poliacrilamida correspondientes a la infección *in vivo*, mediante el empleo de larvas vivas de *Trichoplusia ni*. En las figuras 1 y 3 se presenta al testigo positivo del baculovirus TnGV en los carriles 8 y 10 respectivamente, mientras que en las figuras 2 y 4 se encuentra el testigo positivo de Tn4 en el carril número 8 y 7 respectivamente; en los cuales se observa la proteína mayoritaria de los CO's; granulina en el caso del granulovirus y poliedrina en el caso de los nucleopoliedrovirus, en ambas figuras se detecta un peso aproximado de 30kDa para cada una, lo cual implica semejanza con lo establecido por Funk *et al.*, 1997 que indicó que la granulina y la poliedrina son proteínas que constan aproximadamente de 245 aminoácidos, o un peso de 29kDa, para la mayoría de los baculovirus. En las infecciones en la línea celular High Five, no se detectó la presencia de poliedros o gránulos, sin embargo se detectaron pequeñas diferencias en el perfil proteómico a los distintos tiempos, como por ejemplo en la Fig. 2 a las 0 h pi no se detecta la presencia de una proteína de entre 10 y 15kDa, que aparece y se va intensificando a las 96 y 120 hrs, sin embargo nunca llega a ser detectable la presencia poliedrina. En el caso de la Fig.1 a las 0 hrs pi se muestra la ausencia de una proteína de entre 10 y 15kDa que aparece desde las 24 hasta las 72 hrs. Todo esto nos hace suponer que puede presentarse una infección, sin embargo, no se llegan a producir CO's en la línea celular.

En el figura 4 se detecta la presencia de la poliedrina a partir de las 24 hrs pi, de acuerdo con lo reportado por Ojeda y colaboradores (2002), lo cuál indicó que cerca de las 24hrs pi en la replicación viral inicia la fase de oclusión, al igual que lo que ocurre con la figura 3, en la cual, se detecta la granulina a partir de las 24hrs posteriores a la infección.

En la Tabla 1 se presentan los resultados estadísticos obtenidos mediante el Análisis Probit de los bioensayos correspondientes a las cepas del TnGV (LBIV-12) y del TnSNPV (LBIV-4). En base a estos se determinó una CL_{50} para el TnGV de 2'312,090.33CO's/ml, mientras que para el TnSNPV se determinó una CL_{50} de 12,618.1367CO's/ml. Como puede observarse, la cepa LBIV-4 resultó ser 183 veces más virulenta que la cepa LBIV-12. Comparando estos resultados con los obtenidos por Rangel en 2014, quien encontró en su estudio de cepas de nucleopoliedrovirus contra *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) que la cepa SfNPV-Ar en larvas neonatas fue la más virulenta con una CL_{50} de 49,181.3 CO's/ml, que es casi cuatro veces mayor que la CL_{50} del TnSNPV (LBIV-4) obtenida mediante el presente estudio. Para el caso del granulovirus de *Pthorimaea operculella* (Lepidoptera - Gelechiidae) (Cortés *et al.*, 2013), obtuvo una CL_{50} de 460'000,000 CO's/ml una dosis casi 200 veces mayor que la obtenida mediante el presente estudio para el granulovirus TnGV de *Trichoplusia ni* (LBIV-12). Por ende se puede concluir que estas dos cepas de baculovirus tienen el suficiente potencial para su empleo como bioinsecticidas.



Fig

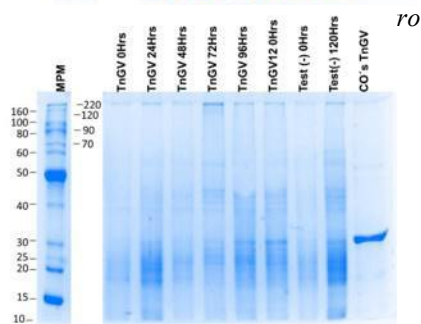


Fig.3 Perfil de proteínas de TnGV *in vivo*

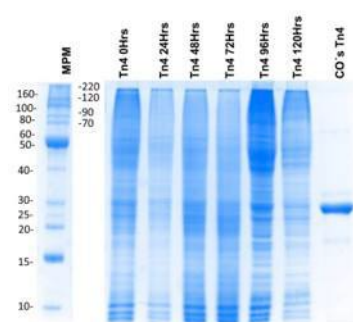


Fig.4 Perfil de proteínas de Tn4 *in vivo*

Tabla 1: Parámetros estadísticos para estimar la CL₅₀ de las cepas de Baculovirus, contra el falso medidor de la col *Trichoplusia ni*.

CEPA	CL ₅₀	CL ₉₅	LFI	LFS	LFS/LFI	P	X ²	MN	DM
LBIV-12	231209	2.06E+	1600471	3346526	2.11E+00	1.742	1.735804	0.000159	ACEPT.
	0.33	07				459	433	738%	
LBIV-4	12618.	93087.	9160.004	17378.69	1.8973859	1.895	0.758942	0%	ACEPT.
	1367	3133	667	667	5	593	9		

CL₅₀: Concentración letal media (CO's); CL₉₅: Concentración letal que mata al 95% de las larvas; LFI: Límite fiducial inferior; LFS: Límite fiducial superior; P: Pendiente; X²: ji-cuadrada; MN: Mortalidad natural; DM: Distribución de la mortalidad.

Agradecimientos

Rubí Dávila Alvarez y Mayra Chico Andrade y las de posgrado de Ingrid Zanella Saenz y Ma. de los Angeles Bivián Hernández y. Asimismo, por el financiamiento de la investigación a través del Proyecto de Ciencia Básica No.166586 "Estudio genómico y proteómico de baculovirus entomopatógenos del falso medidor de la col *Trichoplusia ni* en líneas celulares de insectos".

Literatura Consultada

Bujanos M., R. 2000. Manejo integrado de plagas en crucíferas. 47-61 pp. In: Bautista M., N., A. D. Suárez V. y O. Morales G. (eds.). Temas selectos en fitosanidad de hortalizas. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Bivián, M. A. 2013. Estudio genómico y proteómico *in vivo* del granulovirus TnGV en larvas del falso medidor de la col *Trichoplusia ni*. Irapuato, Gto. México: Tesis de Maestría en Biociencias. Universidad de Gto. 98 p.
- Cortés, V., León, M.F. & Del Rincón, M.C. 2013. Caracterización del granulovirus baculovirus phthorimaea (phopgv) contra una población mexicana de la palomilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). VEDALIA, 14(1), 5-15.
- Del Rincón, M.C.; Ibarra, J.E. 1995. Caracterización de cepas silvestres de virus de poliedrosis nuclear aisladas de *Trichoplusia ni* (lepidoptera: Noctuidae) en el Centro de México. VEDALIA 2:7-15.
- Funk, C. J., Braunagel, S. C. y Rohrmann, G. F. 1997. Baculovirus structure, p.7-32pp. En: L.K. Miller (ed.), The baculoviruses. Plenum Press, New York.
- Ibarra, J. E. and B. A. Federici. 1987. An alternative bioassay employing neonate larvae for determining the toxicity of suspended particles to mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association 3(2): 187-192.
- Lammler, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685pp.
- Ojeda Z.Z.; Pedro, J. R. S.; Hugo, C. G. 2002. Baculovirus as biological insecticides. PALMAS, Vol. 23, No.4, Colombia. 27-37pp.
- Rangel, J. 2014. Caracterización biológica y molecular de tres cepas de baculovirus con actividad bioinsecticida hacia larvas del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). Irapuato, Gto. México: Universidad de Gto.
- Santoyo, J.A. & Martínez, C.O. 2011. Tecnología de Producción de Brócoli. Enero 20, 2014, de Fundación Produce Sinaloa Sitio web: <http://www.fps.org.mx/divulgacion/attachments/article/995/tecnologia-produccion-brocoli.pdf>
- Suárez V., A. D. 2006. Fluctuación poblacional, disposición espacial, preferencia y especies de Usha, Ch., Bhala, P. & Sherma, K. C. 1997. Biology and seasonality of the diamondback moth *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) and its parasitoids a cabbage and cauliflower. Pest Management in Horticultural Ecosystem. 3: 7-12.
- Williams, Trevor. 2002. Página Personal. Insecticidas Basados en Baculovirus. Recuperado el 01 de Agosto del 2014, de http://trevorwilliams.info/index_es.htm



CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Bacillus thuringiensis*. PRODUCTORAS DE β -EXOTOXINA

Gabriela Ivonne Saavedra González¹, Arturo I. Sánchez Soto¹, Rubén Salcedo Hernández¹ y María Cristina Del Rincón-Castro¹. ¹División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km. 9.0, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Gto. cdelrincon@ugto.mx

Resumen. El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar y caracterizar cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* en relación a la producción de β -exotoxina (thuringiensina), a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), bioensayos contra nematodos *Caenorhabditis elegans*, y patrón de plásmidos. Las cepas fueron centrifugadas y se conservó el sobrenadante el cual fue esterilizado para su análisis en HPLC. La concentración del sobrenadante inyectado fue de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Los resultados del HPLC arrojaron que las cepas LBIT 507, 511, 515, 522, 536 y 537, producen β -exotoxina, debido a la presencia del pico de esta toxina en los cromatogramas a la altura de los 680 nm y a un tiempo de retención de 8 minutos aproximadamente. Los bioensayos contra *C. elegans* se realizaron inoculando 100 μL del sobrenadante, resultante del proceso de centrifugación de las cepas de *Bacillus thuringiensis* en 1mL de solución con Nematodos, demostrando que las cepas LBIT 507, 511, 515, 522, 536, 537 y el control HD-1 presentaban acción nematocida típica de la thuringiensina. Mientras que las cepas LBIT 521, 533, y 542, así como el control negativo BT 546, no presentaron acción nematocida y permitieron el desarrollo normal de las colonias de *C. elegans* inoculadas.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, β -exotoxina, HPLC, thuringiensina, plásmidos

Introducción

Bacillus thuringiensis es una bacteria Gram positiva, formadora de esporas capaz de producir un número de toxinas entre las que se incluyen, endotoxinas, exotoxinas, hemolisinas y enterotoxinas. Dentro de ellas las de mayor importancia por su poder insecticida son las denominadas alfa-endotoxinas y las β -exotoxinas. Debido a su especificidad y modo de acción, *B. thuringiensis* ha sido considerado históricamente, una opción segura en los programas de control biológico, además de ser el método de control preferido en los programas de manejo integrado de plagas (MIP). La eficiencia y especificidad de las diferentes cepas de *B. thuringiensis* y sus toxinas individuales en el control de plagas es tal, que un gran número (alrededor del 90%) de los insecticidas disponibles comercialmente en el mercado, están basados en esta bacteria y sus toxinas (Glare y O'Callaghan, 2000). La actividad tóxica de esta bacteria se debe, principalmente, a una estructura cristalina proteica que contiene a la llamada δ -endotoxina, y a un nucleótido liberado en la fase exponencial de crecimiento llamado β -exotoxina o thuringiensina. El cristal ha demostrado ser tóxico a lepidópteros, coleópteros, dípteros (mosquitos), ácaros y nematodos, mientras que la β -exotoxina es altamente tóxica a moscas y muchos otros insectos, pues bloquea la mitosis propiciando efectos teratogénicos. Es un potente inhibidor de la RNA polimerasa dependiente del DNA en bacterias y células de mamíferos (Rowe y Margaritis, 1987). Debido a sus propiedades teratogénicas y mutagénicas, su uso como



insecticida está prohibido en Norteamérica y la mayor parte de Europa (Rowe y Margaritis, 1987). En el presente trabajo se caracterizaron nueve cepas nativas de *B. thuringiensis* para verificar si producían δ -exotoxina, a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y bioensayos contra nemátodos *Cenorhabditis elegans*, y se caracterizaron por medio de patrón de plásmidos y proteínas.

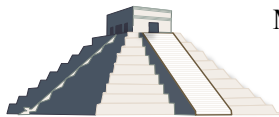
Materiales y Métodos

Extracción de plásmidos. Se sembraron las cepas LBIT 507, 511, 515, 521,5 22, 533, 56, 537 y 542 además de tres controles, Bt-546 y HD-1 como controles negativos y NRD-12 como control positivo, en 50 mL de Caldo Spizizen y se les agregó 1mL de Glucosa al 50%, se metieron a incubar a 28°C y 280 rpm durante 14 horas. Se separaron en tubos de policarbonato y se centrifugaron a 4 °C y 13,000 rpm durante 10 minutos. Se les realizaron dos lavados con 10 mL de agua destilada estéril y se centrifugarán nuevamente a 4°C y 13,000 rpm durante 10 minutos, se les realizo un tercer lavado con 20 mL TES y se les agregará 2 mL de TES-20% Sacarosa, 300 μ L de Lisozima 2mg/mL y 10 μ L de RNAasa y se incubarán durante 3 horas, se les agregan 3 mL de SDS al 8% y se colocaron en baño maría durante 10 minutos a 68°C, se les agregó 1.5 mL de Acetato de Sodio 3M pH 4.8 y se incubaron 30 minutos a -20°C, se centrifugaron nuevamente a 13,000 rpm y 4°C durante 20 min se filtró el sobrenadante se les extrae el DNA con 6 mL de isopropanol y se conservaron en el congelador por 10 horas, se centrifugaron nuevamente por 20 minutos se les desechó el sobrenadante se les agregó 200 μ L de agua destilada estéril y se conservaron a -20° C hasta el análisis en agarosa al 0.6%.

Patrón de proteínas. El análisis de proteínas se realizó en geles desnaturalizantes de poliacrilamida (SDS-PAGE), utilizándose un gel concentrador al 5.72% de acrilamida y gel separador al 10%, tiñéndose en solución de azul de Coomassie y desteñidos durante 24-48 h.

Detección y cuantificación de δ -exotoxina. Las cepas se cultivaron bajo la técnica descrita por Levinson y col. (1990). Se utilizó medio con leche peptonizada hasta la autólisis en un agitador a 30°C. Posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se esterilizó en autoclave a 15 lb de presión durante 20 min. Se dejó enfriar y se centrifugó nuevamente a 10,000 rpm a 4°C durante 30 min. Se tomaron 10 ml de sobrenadante de cada cepa y se vaciaron en tubos de 15 mL, se liofilizaron y se guardaron a -20°C. Para la detección de la toxina se inyectó al HPLC 50 μ l de las cepas control HD-1 (-) y NRD-12(+) y se compararon con el objeto de determinar el tiempo y el lugar en el que aparecería el pico de la toxina, así como el área. Tanto el estándar como los sobrenadantes de las cepas cuya δ -exotoxina se cuantificó, se cromatografiaron por HPLC en una columna Grase Smart RP-18-C₁₈, de 150 mm x 4.6 mm, utilizando una fase móvil de KH₂PO₄ 50mM pH 3.0 (acidificada con ácido fosfórico), filtrada a través de membrana de 0.22 μ m, la cual se desgasificó por filtración durante 10 min. Se utilizó un flujo isocrático de 1 ml/min a temperatura ambiente. El detector se ajustó a una longitud de onda de 254 nm, y el tiempo de corrida fue de 35 min.

Bioensayos contra nematodos. Para probar el efecto de la posible producción de δ -exotoxina, el sobrenadante del medio de cultivo donde se crecieron las diferentes cepas, se probó contra



nemátodos del género *C. elegans*. Para ello, se humedeció un papel filtro con 50 μ l del sobrenadante, estos se depositaron en frascos de cultivo celular de 50 ml y se colocarán 10 larvas de nemátodos por papel. Los bioensayos se incubaron a 20°C por tres días. Posteriormente la mortalidad de los nemátodos se evaluó.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestra el patrón de plásmidos obtenidos para las cepas de estudio. Las cepas LBIT 507, 511, 515, 536 y 537 (Carriles 3, 4, 5, 9 y 10) mostraron patrones de plásmidos similares, y las cepas LBIT 521, 522, 533 y 542 (Carriles 6, 7, 8 y 11) mostraron mayores similitudes en su patrón plasmídico.

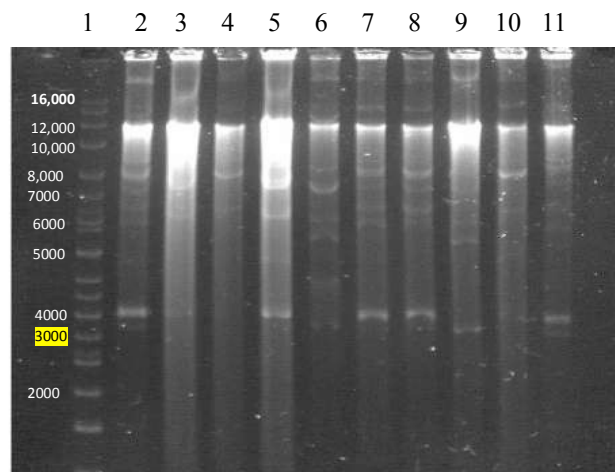


Figura 1: Extracción de DNA plasmídico en las cepas de *B. thuringiensis*. Carril 1: Marcador de peso molecular, Supercoiled INVITROGEN. Carril 2.: BT 546(-), Carril 3: LBIT 507, Carril 4: LBIT 511, Carril 5: LBIT 515, Carril 6: LBIT 521, Carril 7: LBIT 522, Carril 8: LBIT 533, Carril 9: LBIT 536, Carril 10: LBIT 537, Carril 11: LBIT 542.

La figura 2 se muestra el resultado de los perfiles proteicos de las cepas LBIT 507, 511, 515, 522, 536 y 537 (Carriles 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8). No se observaron mayores diferencias en cuanto a los perfiles de proteínas en todas las cepas estudiadas.

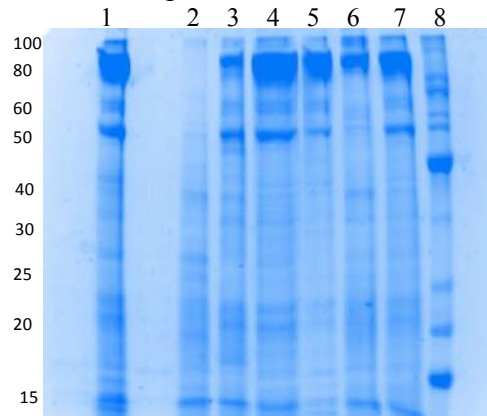


Figura 2: Perfil de proteínas en gel de Poliacrilamida. Carril 1: Bench Mark Protein Marker. Carril 2: LBIT 507, Carril 3: LBIT 511, Carril 4: LBIT 515, Carril 5: LBIT 522, Carril 6: LBIT 533, Carril 7: LBIT 536, Carril 8: LBIT 337



En la figura 3 se muestran los cromatogramas obtenidos para de las cepas control NRD-12(+) y HD-1(-), obtenidos mediante HPLC. Puede observarse que la β -exotoxina se mostró a un tiempo de retención entre los 7 minutos con 50 segundos y los 8 minutos en la cepa NRD-12, mientras que en la cepa HD-1, no se detectó a dicha toxina. Por otro lado en las figuras 4 a la 11 se muestran los cromatogramas de las nueve cepas analizadas. En las cepas LBIT 507 (Fig.12), 511 (Fig. 4), 515 (Fig.6), 536 (Fig.7) y 537 (Fig.10) se pudo detectar la β -exotoxina por HPLC y se mostró que todas presentaban actividad nematocida contra *C. elegans* (Tabla 1), por lo que debe manejarse con precaución su uso como posibles agentes de control biológico debido a la presencia de este nucleótido. Por otro lado, las cepas LBIT 521 (Fig.5), 522 (Fig.9), 533 (Fig.8) y 542 (Fig.11) pueden ser consideradas como agentes de control biológico seguras, ya que no se pudo detectar la β -exotoxina ni por HPLC ni en los bioensayos contra nematodos (Tabla 1).

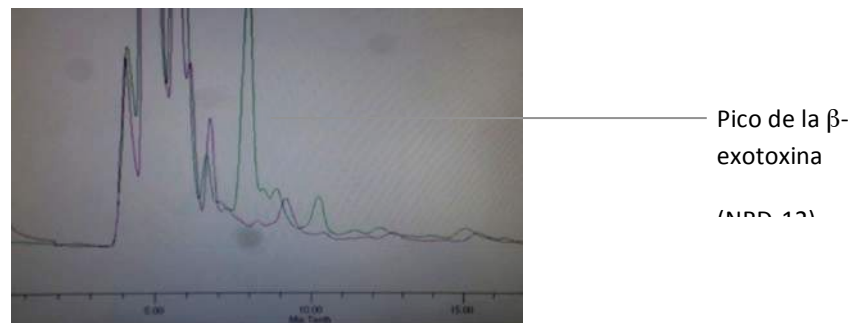


Figura 3: Cromatograma comparativo de las cepas de control HD-1(-) y NRD-12(+). En color verde se muestra el cromatograma de la cepa NRD-12 y en color morado el de la cepa HD-1.

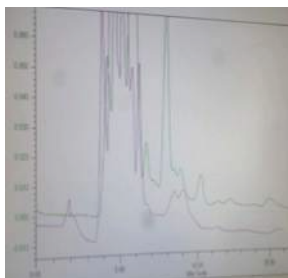


Figura 4. Cromatograma de cepas LBIT-511 y NRD-12

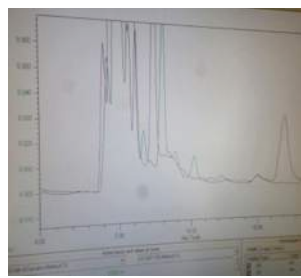


Figura 5. Cromatograma cepas LBIT-521 y NRD-12

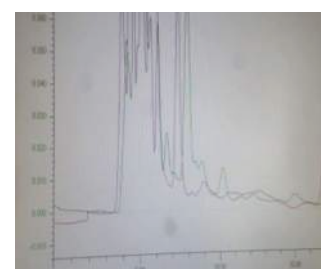


Figura 6. Cromatograma de cepas LBIT-515 y NRD-12

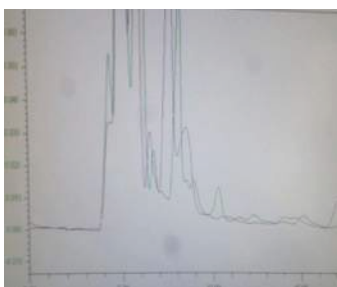


Figura 7. Cromatograma de cepas LBIT-536 y NRD-12

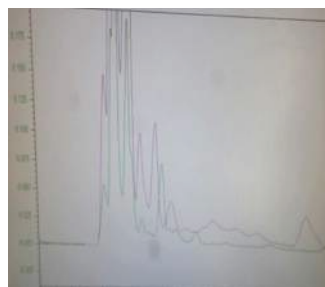


Figura 8. Cromatograma de cepas LBIT-533 y NRD-12

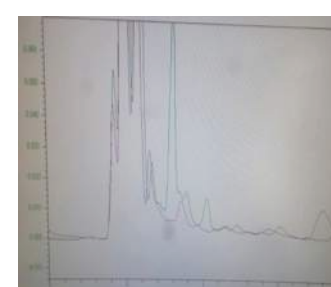


Figura 9. Cromatograma de cepas LBIT-522 y NRD-12

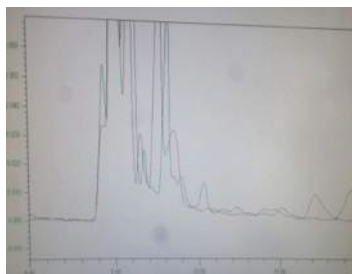


Figura 10. Cromatograma de cepas LBIT-537 y NRD-12

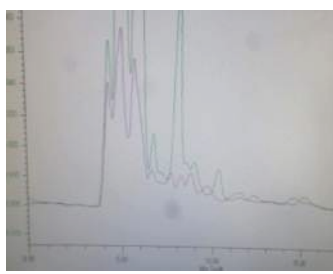


Figura 11. Cromatograma de cepas LBIT-542 y NRD-12

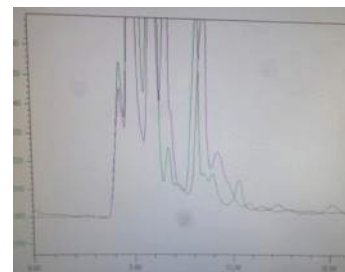


Figura 12. Cromatograma de cepas LBIT-507 y NRD-12

Tabla 1. Resultados de la evaluación de β -exotoxina en las diferentes cepas de *B. thuringiensis*

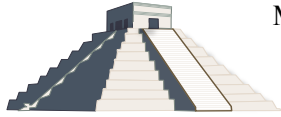
Nombre de la cepa	Detección HPLC	Mortalidad hacia <i>C. elegans</i>
LBIT 507	Si	Si
LBIT 511	Si	Si
LBIT 515	Si	Si
LBIT 521	No	No
LBIT 522	No	No
LBIT 533	No	No
LBIT 536	Si	Si
LBIT 537	Si	Si
LBIT 542	No	No

Es probable que el medio de cultivo tenga efectos en los niveles de producción de β -exotoxina. Se sabe que algunos medios de cultivo pueden afectar la producción de β -exotoxina de una misma cepa (Carreras *et al*, 1997), pudiendo diferir notablemente esa producción entre un medio y otro, dependiendo de la cantidad de materia orgánica que posea cada uno (Levinson *et al*, 1990). El medio de leche peptonizada, utilizado en este trabajo, es muy rico en materia orgánica, de ahí que la cepa estándar NRD-12 presentó una producción superior a la reportada por Levinson y colaboradores (1990) para la misma cepa. Por otro lado se observó una correlación perfecta entre aquellas cepas en las que se detectó por HPLC la β -exotoxina con su actividad nematocida.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la Dirección de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (DAIP) de la Universidad de Guanajuato, el financiamiento de esta investigación bajo el proyecto: “Cepas de *Bacillus thuringiensis* productoras de beta-exotoxina” así como las becas de los estudiantes de licenciatura Gabriela Ivonne Saavedra González y Arturo Ignacio Sánchez Soto.

Literatura Consultada

Carreras, B., Barquín, J., & Ricardo, C. 1997. Detección y evaluación de beta-exotoxina (s) en caldo de cultivo de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Fitosanidad 1(4): 1-4



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Glare, T. R., & O'Callaghan, M. 2000. *Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety* (Vol. 350). Chichester: Wiley., 289-300.
- Levinson, B.L., K.I. Kasyan, S.S. Chiu, T.C. Currier and J.M. González, Jr. 1990. Identification of β -Exotoxin Production, Plasmids Encoding β -Exotoxin, and a New Exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by Using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Bacteriology*. 172 (6): 3172-3179.
- Rowe, G.E. & A. Margaritis. 1987. Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by *Bacillus thuringiensis*. *CRC. Critical Reviews in Biotechnology*. 6 (1): 87-127.



CARACTERIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE δ -EXOTOXINA EN CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* POR DIFERENTES MÉTODOS

Arturo I. Sánchez-Soto, Gabriela I. Saavedra González, Rubén Salcedo Hernández, y Ma. Cristina Del Rincón-Castro. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex. Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao, Apdo Postal 311, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. cdelrincon@ugto.mx

Resumen: En la actualidad se cuentan por millares los microorganismos relacionados con la patogenicidad de insectos; de éstos existe alrededor de 100 especies y variedades de bacterias que en mayor o menor medida muestran potencialidad para controlar a los insectos. El objetivo de este trabajo fue la detección de δ -exotoxina de ocho cepas de *Bacillus thuringiensis* utilizando diferentes métodos, HPLC, bioensayos contra un nemátodo *Caenorhabditis elegans*, y realizando la caracterización molecular de las mismas a nivel de plásmidos. La cuantificación de la δ -exotoxina por HPLC se hizo por triplicado. En cinco de las ocho cepas de *B. thuringiensis* estudiadas, LBIT 438, LBIT 471, LBIT 491, LBIT 492, LBIT 497, se corroboró la producción de δ -exotoxina por HPLC y ésta se relacionó con una actividad nematocida. En tres de las cepas estudiadas, LBIT 436, LBIT 499, y LBIT500, no se detectó esta toxina ni mostraron actividad contra el nematodo probado.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, β -exotoxina, *C. elegans*, HPLC, plásmidos.

Introducción

Los insecticidas químicos son los productos más extensamente utilizados en el control de plagas, a pesar de que existen otros tipos de control conocidos, como son los insecticidas biológicos y el control biológico cultural (Waliszewski, 1992). El uso indiscriminado de estos productos químicos está repercutiendo desfavorablemente en el ambiente, la economía y la sociedad. El costo de desarrollo de un nuevo insecticida y los estudios que se requieran para establecerlos, es superior a los quince millones de dólares (U.S.). Por otra parte existe una amplia posibilidad de que disminuya su efectividad debido al desarrollo de resistencias en los insectos (Rodríguez *et al.*, 1991). En la actualidad, el control biológico ofrece una amplia gama de posibilidades para el manejo de plagas. El empleo de microorganismos como insecticidas (bacterias, virus, protozoarios y hongos) ha tomado tal relevancia que en la actualidad ya se emplean productos comerciales elaborados a base de éstos en distintos países. Dentro de este grupo, sin duda alguna la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) es la que presenta el mayor potencial como producto bioinsecticida. La actividad tóxica de esta bacteria se debe, principalmente, a una estructura cristalina proteica que contiene a la llamada delta-endotoxina, y a un nucleótido liberado en la fase exponencial de crecimiento llamado δ -exotoxina o “turingiensina”. La δ -exotoxina es altamente tóxica hacia un amplio rango de especies en muchos órdenes de insectos que incluyen: Lepidóptera, Díptera, Hymenóptera, Coleóptera y Orthóptera (Burgerjon, 1974); además de su efecto contra nemátodos (Noel, 1990) y ácaros (Hall *et al.*, 1971). En el presente trabajo se evaluó la producción de δ -exotoxina de cepas nativas de la zona del Bajío de *B. thuringiensis*,



realizando bioensayos contra el nematodo *C. elegans*, cuantificando su producción directa por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y caracterizándolas mediante patrones plasmídicos.

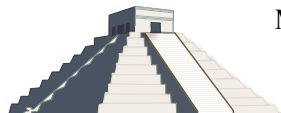
Materiales y Métodos.

Cepas. Se trabajó con un total de 11 cepas de *B. thuringiensis* donadas por el Dr. Jorge E. Ibarra (CINVESTAV) de las cuáles tres se utilizaron como controles, la cepa LBIT-423 (NRD-12) como control positivo, y las cepas LBIT-546 y LBIT-439 (HD-1) como controles negativos. Asimismo, se trabajó con ocho cepas nativas de esta bacteria, denominadas LBIT-436, 438, 471, 491, 492, 497, 499 y 500.

Bioensayos contra nemátodos. Se realizó un bioensayo cualitativo para probar el efecto de la posible producción de δ -exotoxina por parte de las diferentes cepas, el cual consistió en probar 50 μ l del sobrenadante del medio de cultivo donde éstas se crecieron, suministrándolos a los nemátodos del género *C. elegans*, en papel filtro e incubando posteriormente a los mismos en frascos de cultivo celular de 50 mL. Se utilizaron 10 larvas de nemátodos por papel. Los bioensayos se incubaron a 20°C por tres días. Posteriormente se evaluó la mortalidad.

Obtención de patrones plasmídicos. Las cepas de *B. thuringiensis* se sembraron en 50 mL de Caldo Spizizen y se les agregó 1mL de Glucosa al 50%, se incubaron a 28°C y 280 rpm durante 14 horas, se centrifugaron a 4°C y 13,000 rpm durante 10 minutos, se lavaron dos veces. Posteriormente se incubaron con 20 mL de TES y 2 mL de TES-20% Sacarosa, 300 μ L de Lisozima (2mg/mL) y 10 μ L de RNAasa y se incubaron durante 3 horas. Se agregaron 3 mL de SDS al 8%, se incubaron a baño María por 10 minutos a 68°C, se les agregó 1.5 mL de Acetato de Sodio 3M pH 4.8 y se incubaron 30 minutos a -20°C, se centrifugaron nuevamente a 13,000 rpm y 4°C durante 20 min y se filtró el sobrenadante. Se agregaron 6 mL de isopropanol, se incubaron a 4°C por 10 horas, se centrifugaron por 20 minutos, y se resuspendieron en 200 μ L de agua destilada estéril a -20° C.

Cuantificación de la δ -exotoxina por HPLC. Las cepas se cultivaron en medio de leche peptonizada hasta llegar a autólisis. Se centrifugaron a 10,000 rpm a 4°C, el sobrenadante se esterilizó a 15 lb de presión durante 20 min, se enfrió y centrifugó a 10,000 rpm a 4°C durante 30 min. 10 ml del sobrenadante de cada cepa se congeló, se liofilizó y almacenó a -20°C. El polvo liofilizado se resuspendió en 2 ml de H₂O desionizada, se filtró en membranas de 0.45 y 0.22 μ m. Se colocaron en el cromatógrafo 50 μ l de cada muestra tanto de las cepas problema, como de controles positivos y negativos. La producción de δ -exotoxina se realizó en una columna μ Bondapac, C₁₈, mediante el uso de una fase móvil conformada con 50mM de KH₂PO₄, pH 3.0 (acidificada con ácido fosfórico), filtrada a través de una membrana de 0.45 μ m. Previo a este experimento, a dicha columna se le extrajo el gas por sonicación durante 10 min. Asimismo, se ajustó el detector a una longitud de onda de 254 nm, se utilizó un flujo isocrático de 2 ml/min a temperatura ambiente y el tiempo de corrida se ajustó a un intervalo de entre 30 y 40 minutos. La producción de δ -exotoxina se realizó por triplicado. Para poder establecer la curva del



control positivo, se inyectaron 50 μ l de diferentes concentraciones de β -exotoxina: 100, 75, 50, 25, 5 y 2.5 μ g/ml. La curva se obtuvo graficando la cantidad de toxina pura inyectada contra el área.

Resultados y Discusión

Al realizar los bioensayos contra nematodos se pudo observar claramente que éstos presentaban mortalidades del orden promedio del 80% cuando las cepas probadas eran productoras de β -exotoxina, mientras que los que se trataron con cepas no productoras, mantenían su movilidad característica (Fig. 1). En la tabla 1 se observa que tanto la cepa usada como control positivo (LBIT-423 o NRD-12) como las cepas LBIT-438, 471, 491, 492, 497 presentaron actividad nematicida con niveles de mortalidad que fluctuaron desde el 50% (LBIT-438) hasta el 97%, (NRD-12), mientras que las cepas usadas como controles negativos (LBIT-546 y LBIT-439 o HD-1) y las cepas LBIT-436, 499 y 500 no presentaron actividad contra los nemátodos probados.

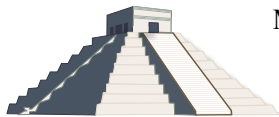


Fig. 1. Efecto de la β -exotoxina en cepas de *B. thuringiensis* contra el nemátodo *C. elegans*

Tabla 1. Mortalidad de cepas de *B. thuringiensis* contra el nemátodo *C. elegans*

Cepas	β -exotoxina	Mortalidad contra nemátodos	% Mortalidad
LBIT-423 (NRD-12+)	SI	SI	97
LBIT-546 (-)	NO	NO	0
LBIT 439 (HD -1)	NO	NO	0
LBIT 436	NO	NO	0
LBIT 438	SI	SI	50
LBIT 471	SI	SI	80
LBIT 491	SI	SI	87
LBIT 492	SI	SI	86
LBIT 497	SI	SI	89
LBIT 499	NO	NO	0
LBIT 500	NO	NO	0

En la figura 2 se observa el patrón de plásmidos de las ocho cepas estudiadas y los controles negativos y positivos. Como puede apreciarse existen claras diferencias entre las cepas control



LBIT-546 y la NRD-12 (Carriles 2 y 3) en cuanto al número y peso molecular de los plásmidos, mientras que en las cepas LBIT-438 (carril 5) y LBIT-500 (Carril 11) se encontraron similitudes en su patrón plasmídico, con la excepción de un plásmido pequeño en la última, menor de 2000 pb, que no estaba presente en la primera. Las cepas LBIT-497, 499 y 599 presentaron patrones de plásmidos casi idénticos (carriles 9, 10 y 11). Por su parte, la cepa LBIT-492 presentó un patrón de plásmidos diferente al resto de las cepas (carril 8).

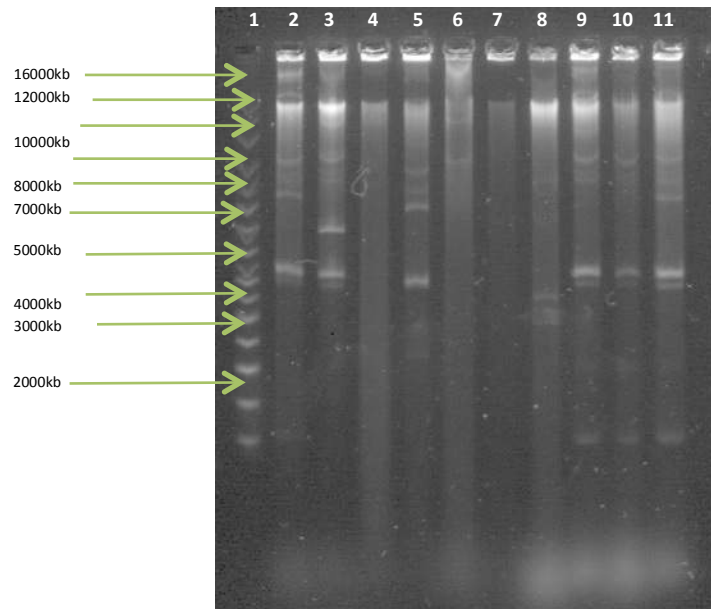


Fig. 2. Patrón de plásmidos de las cepas de *B. thuringiensis*. Carril: Marcador de pesos Molecular Supercoiled (Invitrogen). Carril 2: LBIT-546, Carril 3: LBIT-423 (NRD-12), Carril 4: LBIT-436, Carril 5: LBIT-438, Carril 6: LBIT-471, Carril 7: LBIT-491, Carril 8: LBIT-492, Carril 9: LBIT-497, Carril 10: LBIT-499 y Carril 11: LBIT-500.

Los resultados obtenidos en la detección de β -exotoxina por medio de HPLC, demostraron que el control positivo LBIT-423 o NRD-12 presentó un pico en los cromatogramas, entre los tiempos de retención de 7 minutos, 50 segundos y los 8 minutos, que evidenciaban la presencia de la β -exotoxina (Fig. 3a). Por otro lado, los controles negativos, LBIT-439 (HD-1) y LBIT-536 no presentaron esta señal en los cromatogramas a los mismos tiempos de retención (Fig. 3a y b).

Al obtener los cromatogramas por HPLC de las cepas de estudio, se encontró que en cinco de las ocho cepas estudiadas, se detectó la presencia de β -exotoxina: LBIT-438 (Fig. 4a), LBIT-471(Fig. 4b), LBIT 491(Fig. 4c), LBIT 492 (Fig. 4d), LBIT 497 (Fig. 4e). A su vez, todas estas cepas también demostraron tener actividad nematocida (Tabla 1)

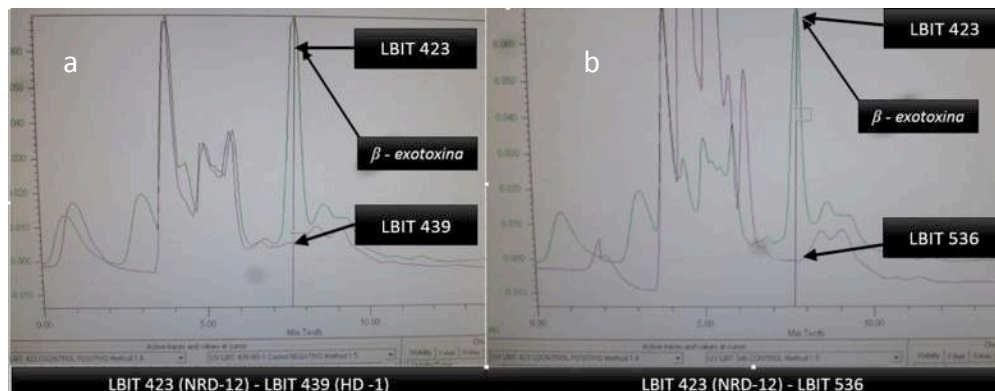


Fig. 3. Cromatogramas obtenidos por HPLC de las cepas de *B. thuringiensis*. a) Cepa Control Positivo LBIT-423 (NRD-12, línea verde) y control negativo LBIT-439 (HD-1, línea morada). b) Cepa Control Positivo LBIT-423 (NRD-12, línea verde) y control negativo LBIT-536 (línea morada).

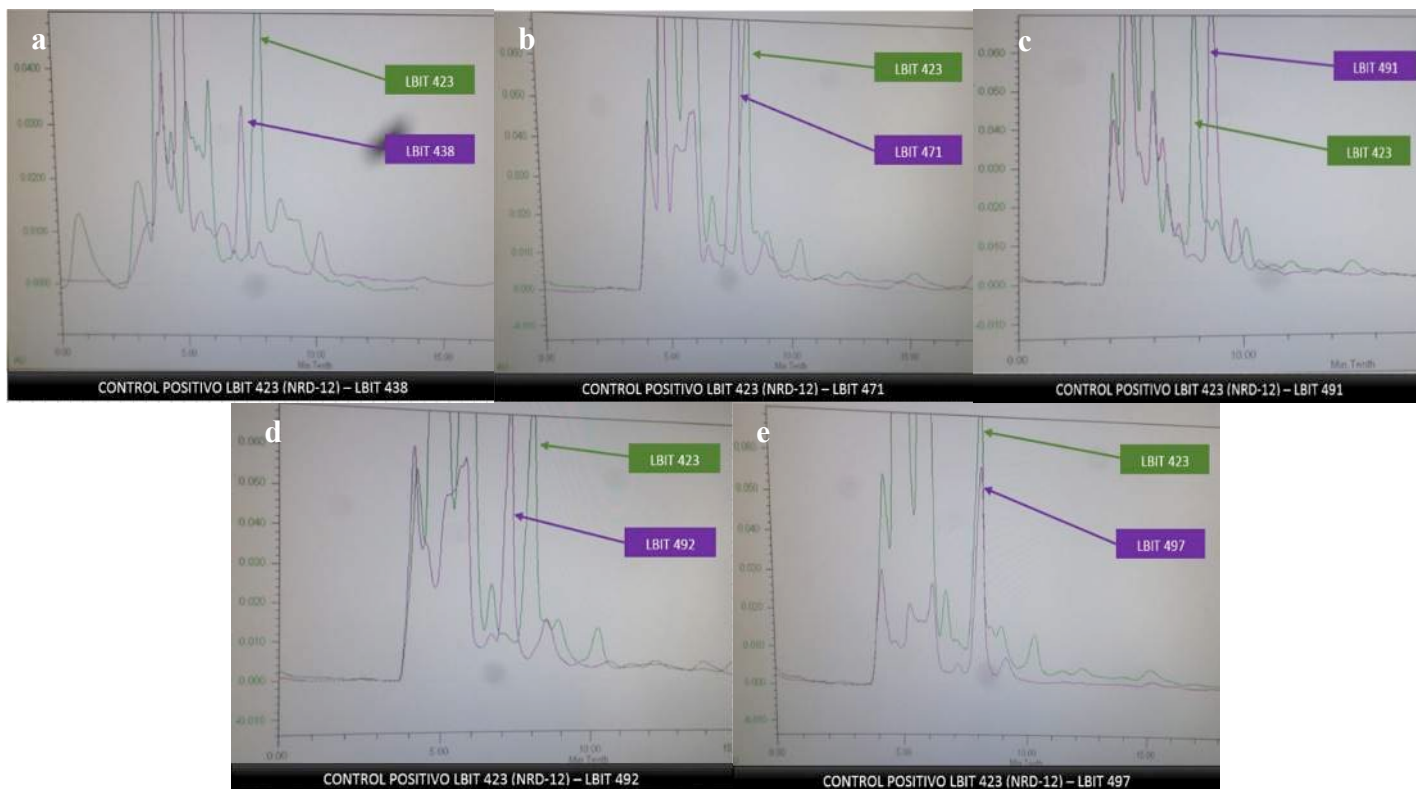


Fig. 4. Cromatogramas obtenidos por HPLC de las cepas de *B. thuringiensis*. a) Cepa CLBIT-438 b) Cepa LBIT-471, c) Cepa LBIT-491, d) Cepa LBIT-492, y e) Cepa LBIT-497.

Tres de las cepas evaluadas, LBIT-436 (Fig. 5a), LBIT-499 (Fig. 5b) y LBIT-500 (Fig.5c) no mostraron presencia de β -exotoxina en los cromatogramas obtenidos por HPLC y tampoco presentaron actividad nematocida (Tabla 1).

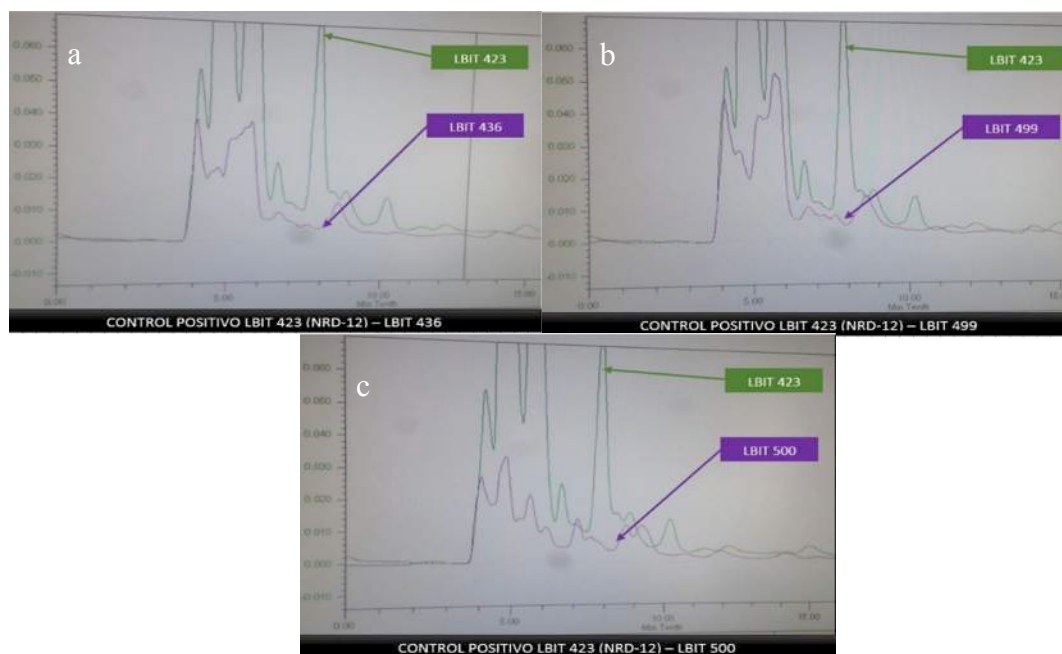


Fig. 5. Cromatogramas obtenidos por HPLC de las cepas de *B. thuringiensis*. a) Cepa CLBIT-436 b) Cepa LBIT-499 y c) Cepa LBIT-500.

Dunn (1960) incorporó cultivos completos de *B. thuringiensis* a dieta de ganado, obteniendo como resultado un excremento que mataba al 92% de las larvas de *Musca domestica*, mientras que en el testigo la mortalidad más alta fue del 19%. La mayor parte de la mortalidad ocurrió en estado de pupa, evidencia de la presencia de la β -exotoxina. Por otro lado, Cantwell y colaboradores (1964) incorporaron sobrenadante, esterilizado y liofilizado en estiércol de vaca como alimento de *Musca autumnalis*, en dieta para larvas de *Musca domestica* y en el alimento de larvas del mosquito *Aedes aegypti*, resultando ser tóxica para todos. En el presente trabajo, el sobrenadante de cepas productoras de β -exotoxina causó elevadas mortalidad en el nemátodo *C. elegans*, lo cual evidenció la eficiencia de este bionesojo para la detección indirecta de esta toxina, pero es necesario corroborar su presencia por HPLC para confirmar esta actividad.

Agradecimientos.

Los autores agradecen a la Dirección de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (DAIP) de la Universidad de Guanajuato, el financiamiento de esta investigación bajo el proyecto: “Cepas de *Bacillus thuringiensis* productoras de beta-exotoxina” así como las becas de los estudiantes de licenciatura Gabriela Ivonne Saavedra González y Arturo Ignacio Sánchez Soto.

Literatura Citada:

Bond, R.P.M., C.B.C. Boyce, M.H. Rogoff, and T.R. Shieh. 1971. The thermostable exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. In: Microbial control of insects and mites. H.D. Burges and N.W. Hussey (Eds.). Academic Press. London. pp. 275-303.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Burgerjon, A. 1974. Effets physiologiques et mutagènes sur les Insectes de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Annales de Parasitologie* 48 (6):835-844.
- Cantwell, G.E., A.M. Heimpel and M.J. Thompson. 1964. The production of an Exotoxin by Various Crystal-Forming Bacteria Related to *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. *Journal of Insect Pathology*. 6:466-480.
- Dunn, P.H. 1960. Control of House Flies in Bovine Feces by a Feed Additive Containing *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. *Journal of Insect Pathology*. 2:13-16.
- Hall, I.M., D.K. Hunter, and K.Y. Arakawa. 1971. The effect of the β -Exotoxin Fraction of *Bacillus thuringiensis* on the Citrus Red Mite. *Journal of Invertebrate Pathology*. 18:359-362.
- Noel, G.R. 1990. Evaluation of Thuringiensin for Control of *Heterodera glycines* on Soybean. Supplement to *Journal of Nematology*. 22 (4S): 763-766.
- Rodríguez, M.M., M. de la Torre M., & E. de Urguijo N. 1991. *Bacillus thuringiensis*: Características biológicas y perspectivas de producción. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 33: 279-292.
- Waliszewski, S. y V.T. Pardío. 1992. Plaguicidas en México. En: *Ciencia y Desarrollo*. XVIII (105): 139-144.



EFECTO DE LA POROSIDAD EN LA PRODUCCION DE CONIDIOS DE *Metarhizium anisopliae* EN CULTIVO EN SOPORTE SÓLIDO.

Alejandro Angel-Cuapio¹, Ernesto Favela-Torres¹, Isabelle Perraud-Gaime², Octavio Loera¹. ¹ UAM-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, México DF, México. ² Aix Marseille Université, Marseille, France

Resumen. El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* es comúnmente utilizado para la elaboración de micoinsecticidas, con fines de controlar el crecimiento de plagas agrícolas; dichos productos comercialmente disponibles son elaborados a base de conidios y una de las técnicas para producirlos en gran escala es el cultivo en soporte sólido (CSS). Cuando se utilizó una mezcla de arroz precocido; AP con lirio acuático; LA (%): 80-20, se alcanzó una producción de conidios de 6.8×10^8 conidios por gramo de arroz seco inicial en 8 días (con un porcentaje de porosidad del 45%), lo cual representó un incremento en la producción del 45% con respecto a un medio sin texturizante. Además, no se alteró la calidad de los conidios en ningún tratamiento, en todos los casos se obtuvo una viabilidad del 75 % con un porcentaje de germinación del 90%, que es deseable en lotes que se aplican en el campo. Es el primer reporte en utilizar el lirio acuático como un texturizante en cultivo en soporte sólido para la producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* CP-OAX.

Palabras clave: *Metarhizium anisopliae*, porosidad, cultivo en soporte sólido, germinación, viabilidad.

Introducción.

Los micoinsecticidas son productos elaborados a base de propágulos de hongos entomopatógenos (HE) con la intención de controlar o reducir las poblaciones de insectos plaga en el sector agrícola (Carrillo-Pérez *et al.*, 2013), además de ser inocuos para el ser humano y otros mamíferos (Zimmerman, 2008). El HE *Metarhizium anisopliae* tiene un amplio rango de hospederos que puede infectar (Glare, 2004; de Faria y Wraight, 2007), sus conidios aéreos (unidad infectiva) son producidos externamente sobre los insectos infectados o en superficies de sustratos sólidos (Jackson *et al.*, 2010; Vega y Kaya, 2012), siendo el cultivo en soporte sólido (CSS) una de las técnicas comúnmente utilizada para su producción en gran escala. En el CSS, el crecimiento y metabolismo de los hongos se ven influenciados por la transferencia de gases (Dorta y Arcas, 1999, Figueroa-Montero *et al.*, 2011), cuyo factor está asociado con el empaquetamiento del sustrato dentro del reactor, para disminuir esos inconvenientes se han utilizado soportes denominados texturizantes que incrementan la porosidad del medio, evitan la compactación del sustrato, se incrementa el área de contacto sustrato-microorganismo y se favorece el intercambio gaseoso (Dorta y Arcas, 1998; Nuñez-Gaona *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2005). En este trabajo se propone el uso del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) como un texturizante, ya que es una maleza debido al impacto ambiental negativo que ocasiona su presencia en diferentes cuerpos de agua en México (Villamagna y Purphy, 2010), del cual se puede obtener una fibra que podría utilizarse en CSS y que actualmente no hay reportes de su uso para la producción de conidios de HE. Además de realizar estudios sobre producción de conidios aéreos es importante determinar su viabilidad y germinación como parámetros de calidad



(Borman *et al.*, 2006). El objetivo de este trabajo fue evaluar las proporciones de arroz y lirio acuático sobre la producción y calidad (viabilidad y germinación) de los conidios producidos de la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX en CSS.

Materiales y métodos.

Se estudió la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX, obtenida del Colegio de Postgraduados (Texcoco, Estado de México). Se realizaron cinéticas de producción de conidios durante 8 días, se utilizaron frascos de vidrio sin tapa con un volumen (v) de 80 mL, un diámetro interno (\varnothing_i) de 5 cm y una altura (L) de 4.7 cm, en donde se pesó la materia sólida. Se utilizó arroz precocido (AP) como sustrato, marca Verde Valle y lirio acuático (LA) como texturizante, obtenido por la empresa *Tecnología Especializada en el Medio Ambiente* (TEMA, México), ambos materiales fueron tamizados y se seleccionó las partículas con un tamaño de 2 mm de ancho y 5 mm de largo (tamiz No 10); se probaron las siguientes mezclas de AP-LA (%): 100-0, 90-10, 80-20 y 70-30. Se esterilizó a 15 PSI durante 15 minutos. El medio se inoculó con 1 mL de una suspensión de conidios conteniendo 1×10^7 conidios $\cdot \text{mL}^{-1}$, por tanto, el inóculo inicial fue de 1×10^6 conidios por gramo de materia sólida inicial (conidios $\cdot \text{gmsi}^{-1}$) y se utilizó el 40% de humedad inicial, finalmente las unidades experimentales fueron colocados en un reactor de charolas con las siguientes dimensiones: 26.6 cm x 11.5 cm x 20 cm, se incubó a 28 °C con fotoperiodo 12:12 (hrs). Cada 24 hrs. se realizó la extracción de conidios empleando una solución de Tween 80 al 0.05 % (Amresco, Ohio USA); se contaron los conidios por medio de una cámara de Neubauer (Marienfield, Germany). La producción de conidios se reportó como conidios por gramo de materia seca inicial; C_t (conidios $\cdot \text{gmsi}^{-1}$) y en conidios por gramo de arroz seco inicial; C_a (conidios $\cdot \text{gasi}^{-1}$). Para evaluar la porosidad se calculó con la expresión descrita por Mitchell *et al.*, (2006). La viabilidad de los conidios se determinó usando la metodología descrita por Miranda-Hernández *et al.*, (2014). La germinación se determinó con base en (Ibrahim *et al.*, 2002).

Resultados y discusión

El lirio acuático se incorporó como texturizante con el propósito de evitar la compactación del arroz, incrementar la porosidad del lecho, favorecer la transferencia de oxígeno y con ello incrementar la producción de conidios. Al aumentar la proporción de lirio con la mezcla AP-LA (90-10), aumentó significativamente ($p < 0.05$) la fracción de espacio vacío (porosidad) a 43 %, posteriormente se mantuvo en 45% con las mezclas AP-LA (80-20 y 70-30), de forma opuesta disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la densidad de empaque (Gráfico 1). Para la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX se encontró un aumento en la producción de conidios al incrementar la porosidad del medio de cultivo, aunque hay un valor óptimo de porosidad (entre 43 y 45%) en el que se observó la máxima producción de conidios por gramo de materia sólida inicial o por gramo de arroz inicial (Cuadro 1). Estos resultados muestran el efecto positivo de añadir lirio acuático como agente texturizante en CSS.

Durante las cinéticas de producción de conidios se encontró un incremento en los rendimientos con respecto al tiempo, sin embargo, en todos los tratamientos la mayor producción de conidios



se observó en el día 8, se observó diferencia significativa ($p < 0.05$), siendo la mezcla AP-LA (80-20) con la que se alcanzó la mayor producción de conidios, observándose un incremento del 45% por gramo de arroz seco inicial.

La producción conidios es inherente a la cepa utilizada, ya que se han obtenido rendimientos entre 1×10^9 y 2×10^{10} conidios por gramo de sustrato seco inicial, tanto con diferentes cepas de *M. anisopliae* como sustratos (Arzumanov *et al.*, 2005; Dorta *et al.*, 1998). El sistema de producción propuesto, empleando lirio acuático como texturizante resultó ser una alternativa novedosa, ya que al modificar la porosidad del lecho de empaque la producción de conidios se mejora en un 45 %.

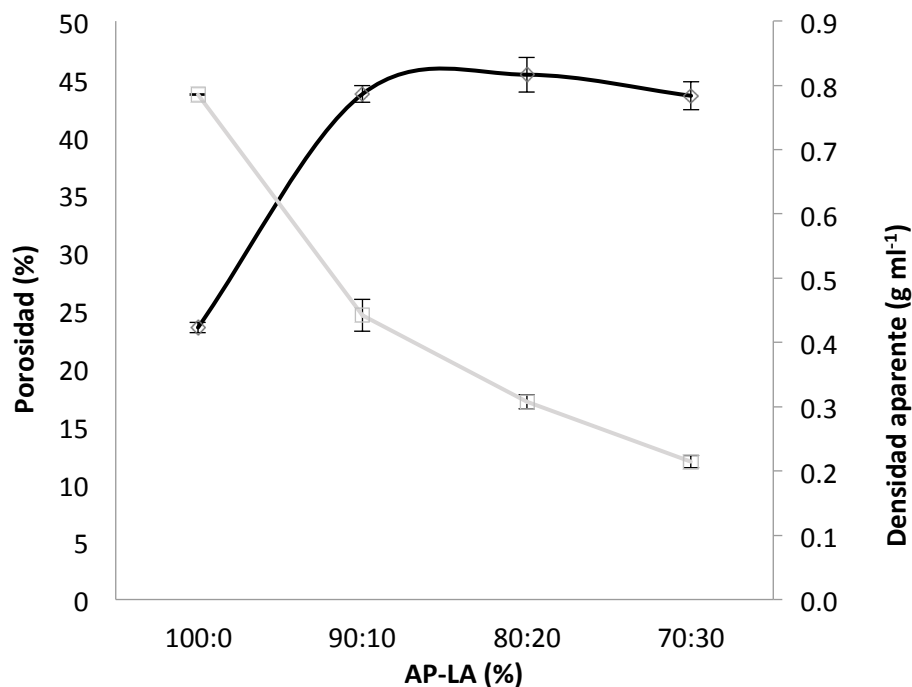


Gráfico 1. Porosidad y densidad aparente en mezclas de arroz precocido-lirio acuático.



Cuadro 1. Producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* en mezclas de AP-LA, obtenidos en el día 8.

Mezcla	C_t (conidios gmsi^{-1}) 1×10^8	C_a (conidios gasi^{-1}) 1×10^8	ε (%)	r_a ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
100-0	4.75 \pm 0.4 ^A	4.75 \pm 0.40 ^B	23.51 \pm 0.45 ^B	0.79 \pm 0.00 ^A
90-10	5.27 \pm 0.14 ^A	5.85 \pm 0.15 ^{A,B}	43.69 \pm 0.72 ^A	0.44 \pm 0.02 ^B
80-20	5.44 \pm 0.17 ^A	6.81 \pm 0.21 ^A	45.37 \pm 1.50 ^A	0.31 \pm 0.01 ^C
70-30	3.60 \pm 0.59 ^B	5.14 \pm 0.85 ^B	43.55 \pm 1.21 ^A	0.21 \pm 0.01 ^D

^{a,b,c} Medias en la misma columna con letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0.05$). C_t conidios por gramo de materia seca inicial. C_a conidios por gramo de arroz seco inicial. ε porcentaje de porosidad. ρ_a densidad aparente. \pm valores obtenidos por triplicado.

Se realizó la determinación del porcentaje de germinación y viabilidad de los conidios producidos en el día 8 (máxima producción). Por lo que, no se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en los porcentajes de germinación y viabilidad, siendo en promedio del 90% y del 75%, respectivamente (Cuadro 3). Para el control de calidad de los HE se llevan a cabo pruebas como la germinación y viabilidad, estas técnicas se realizan sobre los conidios que serán aplicados en campo (Borman *et al.*, 2006 Ibrahim *et al.*, 2002). Estos parámetros fueron determinados en esta investigación para conocer cómo se afectan al incorporar un texturizante (lirio acuático) en el cultivo. Como se pudo observar los parámetros de germinación y viabilidad no se afectaron por la incorporación del lirio acuático (agente para modificar la porosidad del lecho).

Cuadro 3. Porcentajes de germinación y viabilidad de los conidios producidos en el día 8.

Mezcla AP-LA	Germinación %	Viabilidad %
100-0	90.23 \pm 2.00 ^a	76.67 \pm 1.20 ^A
90-10	90.23 \pm 1.97 ^a	74.67 \pm 4.16 ^A
80-20	91.95 \pm 2.69 ^a	76.11 \pm 3.34 ^A
70-30	90.68 \pm 2.24 ^a	74.22 \pm 2.87 ^A

^{a,A} Medias en la misma columna con letras iguales indican que no hay diferencia significativa ($p < 0.05$).

Conclusiones

El lirio acuático puede ser usado como agente texturizante en cultivos en soporte sólido, para la producción de conidios de *Metarhizium anisopliae*, incrementando sus niveles de producción y más aún, la viabilidad y la germinación de los conidios no disminuye.



La porosidad es un factor importante a considerar para mejorar los procesos de producción de conidios.

Agradecimientos. Angel-Cuapio A (Registro No 237041) agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada, a la Red-Promep y a la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Referencias.

- Arzumanov T, Jenkins N, Roussos S. 2005. Effect of aeration and substrate moisture content on sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. *Process Biochemistry*. 40:1037-1042.
- Borman AM, Szekely A, Campbell CK, Johnson EM. 2006. Evaluation of the viability of pathogenic filamentous fungi after prolonged storage in sterile water and review of recent published studies on storage methods. *Mycopathologia*. 161:362-368.
- Carrillo-Pérez E, Acosta-Smith E, Montesinos-Cisneros RM, de la Torre M. 2013. Performance of two isolates of *Isaria fumosorosea* from hot climate zones in solid and submerged cultures and thermotolerance of their propagules. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29:309-317.
- De Faria MR, Wraight SP. 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological control*. 43:237-256.
- Dorta B, Arcas J. 1998. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* in solid-state fermentation with forced aeration. *Enzyme and Microbial Technology*. 23:501-505.
- Figuroa-Montero A, Esparza-Isunza T, Saucedo-Castañeda G, Huerta-Ochoa S, Gutiérrez-Rojas M, Favela-Torres E. 2011. Improvement of heat removal in solid-state fermentation tray bioreactors by forced air convection. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 86:1321-1331.
- Glare TR. 2004. Biotechnological potential of entomopathogenic fungi. En: Arora DK (ed). *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications*. Marcel Dekker Inc, New York. 79-90.
- Ibrahim L, Butt TM, Jenkinson P. 2002. Effect of artificial culture media on germination, growth, virulence and surface properties of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research*. 106:705-715.
- Jackson MA, Dunlap CA, Jaronski ST. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogenic for use in insect biocontrol. *Biocontrol*. 55:129-145.
- Kang SW, Lee SH, Yoon CS, Kim SW. 2005. Conidia production by *Beauveria bassiana* (for the biocontrol of a diamondback moth) during solid-state fermentation in a packed-bed bioreactor. *Biotechnology Letters*. 27:135-139.
- Miranda-Hernández F, Saucedo-Castañeda G, Alatorre-Rosas R, Loera O. 2014. Oxygen-rich culture conditions enhance the conidial infectivity and the quality of two strains of *Isaria fumosorosea* for potentially improved biocontrol processes. *Pest Management Science*.
- Mitchell D.A., von Meien O.F., Luz Jr L.F.L., Berović M. (2006). Substrate, Air, and Thermodynamic Parameters for SSF Bioreactor Models. In: *Solid-State Fermentation Bioreactors: Fundamental of Design and Operation*. Ed. Mitchell, D.A., Krieger N. and Berovic M., Springer, Germany. pp: 265-278.
- Núñez-Gaona O, Saucedo-Castañeda G, Alatorre-Rosas R, Loera O. 2010. Effect moisture content and inoculum level over growth and conidia production by *Beauveria bassiana* on wheat bran. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 53:771-777.
- Vega FE, Kaya HK. 2012. Insect pathology. 2nd edition. In: Vega FE, Meyling NV, Luangsa-ard JJ, Blackwell M (eds) *Fungal entomopathogens*. Academic Press. China pp 171-206.
- Villamagna AM, Murphy BR. 2010. Ecological and socio-economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): a review. *Freshwater Biology*. 55:282-298.
- Zimmerman G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinose* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology* 18:865-901.



AISLAMIENTO DE AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO PARA CONTROLAR EL BARRENADOR DE RAMAS DE AGUACATE *Copturus aguacatae* Kissinger (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

García-Granados Jesbi J¹, **Díaz-de la Rosa Fernando¹**, Romero-Moranchel Mario¹. ¹Programa Educativo de Agrobiotecnología, Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros. Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, México. C.P. 74420. Tel. 01 2434363895/325.
fer_diaz_dlrosa@hotmail.com

Resumen. El presente trabajo fue con el objetivo de aislar microorganismos entomopatógenos de la Región de Atlixco y estos sirvieran para el control del barrenador de ramas de aguacate *Copturus aguacatae* Kissinger (Coleóptera: Curculionidae), ya que a esta plaga cuarentenaria se le atribuyen las principales pérdidas de producción, y es difícil el control, debido al tipo de hábitat que presenta, pues pasa la mayor parte de su ciclo biológico dentro del hospedero provocando la caída de flores y frutos al obstruir el paso de los nutrientes.

Motivo por lo cual, se realizó el aislamiento de estos microorganismo autóctonos en las instalaciones de la UTIM, obteniendo como resultado el aislamiento de la bacteria del Género *Bacillus sp.* y el hongo *Lecanicillium sp.*, además se evaluó una cepa de *Beauveria sp.* nativa de Izúcar de Matamoros y posteriormente la evaluación de la patogenicidad sobre insectos plaga. Se realizaron pruebas *in vivo* las cuales mostraron los siguientes resultados: la bacteria *Bacillus sp.* mostró patogenicidad para Lepidópteros, mientras que para *C. aguacatae* no presentó algún daño y con respecto a los hongos, *Lecanicillium sp.* tuvo una patogenicidad de 83.6% en barrenador de ramas a una concentración de 1×10^7 , mientras que *Beauveria sp.* fue evaluado en tres concentraciones diferentes 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 , solo esta última, fue la óptima al mostrar una patogenicidad del 97.5% de *C. aguacatae*.

Palabras clave: *Copturus aguacatae*, control biológico, *Bacillus sp.*, *Lecanicillium sp.*, *Beauveria sp.*, patogenicidad.



DETERMINACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS ASOCIADOS A *Dendroctonus frontalis*. (Coleóptera: Scolytidae) EN QUERÉTARO, MÉXICO.

Adriana Rosalía Gijón-Hernández¹, Cindy Manuela López-Guzmán¹, Lidia Ramírez-Huerta¹, Iris Marley Pérez-Gálvez², Arriola Padilla Victor Javier¹. ¹CENID-COMEF, INIFAP. Avenida Progreso 5, Colonia Barrio de Santa, Delegación Coyoacán, C.P. 04010, D.F. México. gijon.adriana@inifap.gob.mx. ²Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Colonia Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, D.F. México.

Resumen. Los insectos descortezadores del género *Dendroctonus* son la principal plaga de los bosques de coníferas, provocando mayor daño especialmente al género *Pinus*. El objetivo de esta investigación fue determinar los hongos entomopatógenos asociados a *Dendroctonus frontalis* en el estado de Querétaro, México. Durante abril y mayo del 2014 se realizaron recorridos en el municipio de Landa de Matamoros, se ubicaron pinos con ataque de descortezador, la corteza fue inspeccionada para detectar insectos colonizados por hongos. En el laboratorio de Sanidad Forestal (CENID-COMEF-INIFAP) los insectos fueron desinfestados y sembrados en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), los hongos aislados fueron identificados con claves taxonómicas y por la técnica de PCR. Del municipio de landa de Matamoros se identificaron mediante características morfológicas cuatro cepas del género *Trichoderma* y su confirmación molecular con los primers BR1- BR2 específicos para este género, los cuales amplificaron un fragmento de 837 Pb. El género ha sido reportado como hongo entomopatógeno y antagonista en el control biológico.

Palabras clave: Control biológico, Descortezador, Pino, Coníferas, *Trichoderma*,

Introducción

Los bosques de pino en México son atacados por un grupo de insectos plaga llamados descortezadores entre los que destaca el género *Dendroctonus spp* que son pequeños escarabajos que habitan el interior de la corteza de ciertas especies de árboles donde se alimentan del floema y del cambium vascular al mismo tiempo que se reproducen (Pérez-Vera *et al.*, 2009). Estos insectos han evolucionado principalmente en los bosques de coníferas de México y Norteamérica donde cada una de las especies es hospedero de por lo menos una especie, a pesar de su tamaño son capaces de matar a sus hospedantes (Sturgeon y Mitton, 1982, Wood; 1982; Wood, 1985). Durante 2012 y 2013, la actividad de insectos descortezadores se ha incrementado en varios estados de la República Mexicana, entre ellos Querétaro en donde las especies con mayor actividad son *D. mexicanus* y *D. frontalis*, aparentemente en respuesta a una de las sequías más intensas en los últimos 20 años. En México, el control de estos insectos está regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2006, que establece medidas de control mecánico y químico (SEMARNAT, 2008). Sin embargo el uso de insecticidas en los bosques causa controversia y la sociedad civil demanda medidas alternativas de control que sean amigables con el ambiente, sobre todo para áreas cuyo objetivo es la conservación de la biodiversidad, por lo que se ha implementado el control biológico, que es la práctica agrícola que



busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga mediante el uso de sus enemigos naturales (Téllez-Jurado., *et al* 2009). Dentro del contexto del manejo integrado de plagas (MIP), una de las alternativas es usar insecticidas de naturaleza biológica. Existen numerosos reportes sobre la utilización de microorganismos entomopatógenos, como son los hongos que tienen un gran potencial como agentes controladores, porque son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos (Motta-Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011). Tienen mecanismos de invasión únicos que les permiten atravesar de forma directa la cutícula o la pared del tracto digestivo de los insectos, lo que los hace excelentes agentes de control biológico actuando como insecticidas de contacto (Charnley y Collins, 2007).

En la actualidad ya existe un avance notable en el conocimiento del efecto y el uso de entomopatógenos, incluso existen productos comerciales formulados con algunas de las principales plagas agrícolas (Faria y Wraight, 2007); sin embargo, para insectos descortezadores esta línea de investigación ha sido poco estudiada. A nivel laboratorio, Steinwender *et al.* (2010) determinaron que el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* provocó la muerte de 93% de las muestras del descortezador *Ips sexdentatus*, en un periodo de ocho días.

Materiales y métodos

Se realizaron recorridos en la Sierra Gorda de Querétaro, en el municipio de Landa de Matamoros, con el propósito de detectar árboles de pino atacados por descortezadores. Posteriormente se recolectó corteza con presencia de insectos descortezadores con evidencia de ataque de hongos. El material fue transportado al Laboratorio de Sanidad Forestal del CENID-COMEF INIFAP para su procesamiento. Los insectos con presencia de micelio se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1%, lavados con agua destilada estéril y sembrados en medio de cultivo PDA e incubados a 28 °C. La identificación morfológica se realizó con claves taxonómicas (Humber, 1997, Barnet y Hunter, 1999). La caracterización molecular fue mediante la técnica de PCR. La extracción de ADN se realizó por el método AP (Sambrook y Russell, 2001), la confirmación de cuatro cepas del género *Trichoderma*, se llevó a cabo usando el par de primers BR1 (5'-TGAA-GAGCGCCTCGACGA-3') y BR2 (5'-GGGTGAT-GATTTGCTGGC-3') (Rubio *et al.*, 2005). La amplificación se realizó con un termociclador T100 marca Biorad con el siguiente programa: un ciclo de desnaturalización de 2.5 min a 94°C, seguido de 40 ciclos cada uno de los cuales constará de tres pasos: desnaturalización de 30 s a 94°C, anillamiento de 30 s a 57°C, una de extensión de 1.5 min a 72°C. Las amplificaciones fueron visualizadas en un fotodocumentador marca Biorad.

Resultados y discusión

Se obtuvieron cuatro aislamientos de hongos a partir del cuerpo de *Dendroctonus frontalis*. Los resultados de los estudios de microscopía de luz de las cuatro cepas indicaron la presencia del género *Trichoderma* y se caracterizó por presentar conidióforos hialinos, blanquecinos, no verticilados, fialides simples o en grupos, conidias hialinas, unicelulares ovoides que yacen en pequeños racimos terminales, se les reconoce fácilmente por su rápido crecimiento y el color



verde de las conidias, estos resultados concuerdan con lo descrito por Chavez, 2006, Humber, 1997, Barnet y Hunter, 1999 (Figura 1A, B,C y D)

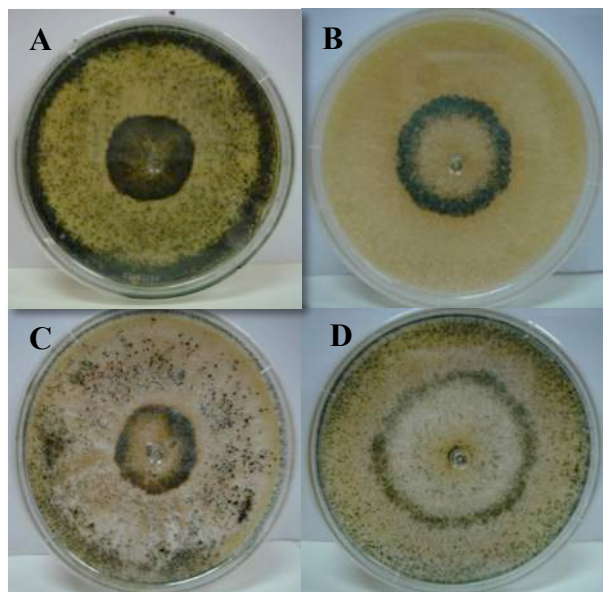


Figura 1. Cepas del genero *Trichoderma* aisladas de *Dendroctonus frontalis*, en el municipio de Landa de matamoros, Querétaro.

Los estudios moleculares indicaron que la banda del producto de PCR de los cuatro aislados fue de un peso aproximado de 832 Pb con los primers BR1 (5'-TGAA-GAGCGCCTCGACGA-3') y BR2 (5'-GGGTGAT-GATTTGCTGGC-3') reportado por Rubio *et al* (2005) (Figura 2), confirmando que las cuatro cepas aisladas a partir del cuerpo de *D. frontalis* corresponden al género *Trichoderma*.

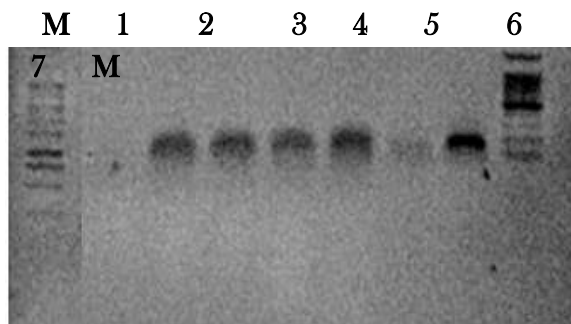


Figura 2. Amplificación del producto de aproximadamente 832 Pb de *Trichoderma*. Línea 1, testigo negativo (agua libre de nucleasas), Línea 2 a la 5, cuatro diferentes cepas de *Trichoderma* aisladas de *Dendroctonus frontalis*, Línea 6 y 7, control positivo de *Trichoderma*. M, Marcador molecular (Izquierda 100 Pb y derecha 1 Kb).

Se ha reportado *Trichoderma chilonis* que se alimenta internamente o exteriormente de su hospedante, *Trichoderma viridae* como hongo entomopatógeno para controlar insectos, malas hierbas y para controlar otros hongos (Ajit *et al.*, 2013).



Estos resultados preliminares, son importantes, ya que se puede desarrollar nuevas estrategias para el manejo de descortezadores, con un método de control más racional y respetuoso con el medio ambiente.

Agradecimientos. Al Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación con N° de Proyecto SIGI 16433532511 del Proyecto “Generación de nuevas estrategias de monitoreo y control de los insectos descortezadores *Dendroctonus mexicanus*, *Dendroctonus frontalis* e *Ips lecontei*, mediante el uso de semioquímicos y entomopatógenos” (Año 2014-2016).

Literatura citada

- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1999. Illustrated genera of imperfect fungi. The American Phytopathological Society Press. USA. 218 p.
- Charnley, A.K., S.A. Collins, 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. In: Kubicek, C.P., I.S. Druzhinina (eds.), Environmental and Microbial Relationship. The Mycota IV. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 159-187.
- Chávez, G. M. 2006. Producción de *Trichoderma sp.* y Evaluación de su efecto en Cultivo de Crisantemo (*Dentranthema grandiflora*). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Faria, M. R. and S. P. Wraight. 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43: 237–256.
- Humber, R. A. 1997. Fungi: Identification. In: Lacey L. (ed.) Manual of Techniques in insect pathology. San Diego, California. Academic Press. pp. 153-185.
- Sambrook, J., D.W. Russell, 2001. Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Third edition. 1:1.32-1.34. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Pérez-Vera, O., Alvarado-Rosales, D., Cárdenas-Soriano, E., Equihua-Martínez, A., Cibrián-Tovar, D., Álvarez-Moctezuma, J. 2009. *Ophiostoma ips* asociado al insecto descortezador (*Dendroctonus adjunctus*) del pino de las alturas (*Pinus hartwegii*). *Revista mexicana de micología*. 30: 9-18.
- SEMARNAT. 2008. Norma Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2006, que establece los lineamientos técnicos de los métodos para el combate y control de insectos descortezadores. Diario Oficial. México, D. F. 23 de Julio de 2008.
- Sturgeon K. B and J. B. Mitton. 1982. Evolution of bark beetle communities. In: Mitton, J. B. y K. B. Sturgeon (eds.). Bark beetles of North American conifers: A system for the study of evolutionary biology. Austin, TX: University of Texas Press. pp 350-384.
- Rubio, M.B., Hermosa, M.R., Keck, E. and Monte, E. 2005. Specific PCR Assays for the Detection and Quantification of DNA from the Biocontrol Strain *Trichoderma harzianum* 2413 in Soil. Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias, Universidad de Salamanca. Salamanca, España.
- Steinwender, B. M., H. W. Krenn and R. Wegensteiner. 2010. Different effects of the insectpathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota) on the bark beetle *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and on its predator *Thanasimus formicarius* (Coleoptera: Cleridae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 117 (1): 33-38.
- Wood, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. Great Basin Naturalist Memories. Provo, Utah. 1359 p.
- Wood, S. L. 1985. Aspectos taxonómicos de los Scolytidae. En: SARH. Memoria de los Simposia Nacionales de Parasitología Forestal. México, D. F. pp. 170-174.
- Motta-Delgado, P y Murcia-Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Revista Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*. 6 (2).
- Téllez-Jurado, A., Cruz-Ramírez, M., Mercado-Flores, Y., Asaff-Torres, A., Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología* 30: 73-80.



FLUFENOXURÓN NO POTENCIA LA INFECCIÓN DE LOS NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) Y *Spodoptera exigua* (SeMNPV)

Ehdibaldo Presa-Parra, Dulce María Rebolledo-Morán, Gabriel Mercado-Vidal, Rodrigo Lasa, Instituto de Ecología, A.C., Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, Carretera Antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México. ehdibaldo.presa@inecol.edu.mx

Resumen. El uso de los nucleopoliedrovirus (NPV) como bioplaguicidas ha despertado gran interés por su especificidad y virulencia. Con la finalidad de disminuir los costos de aplicación, algunas investigaciones están orientadas a la formulación de NPV con otros productos que produzcan sinergia en la actividad insecticida del baculovirus. El objetivo de este trabajo fue evaluar la mortalidad producida por los nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) y *Spodoptera exigua* (SeMNPV) en larvas del cuarto estadio de sus especies homólogas, que previamente habían consumido una dieta tratada en superficie con una solución de 1 parte por millón de flufenoxurón. Esta mortalidad fue comparada de manera similar con la del virus pero con larvas que no habían consumido ese producto con anterioridad. No se observó potenciación de la actividad de los baculovirus con la ingesta previa de flufenoxurón para ninguno de los dos baculovirus, a pesar del efecto que tiene en la inhibición de la síntesis de la quitina, la cual representa un componente muy importante de la membrana peritrófica en el intestino medio del insecto. Los resultados indican que la mortalidad ocasionada por los nucleopoliedrovirus evaluados sobre larvas (L4) no se incrementa cuando éstas consumen una baja concentración de flufenoxurón. Se sugiere que el uso de bajas concentraciones de flufenoxurón en formulaciones de nucleopoliedrovirus no es factible para el desarrollo de estrategias de control de *S. exigua* y *S. frugiperda* con baculovirus.

Palabras clave: gusano cogollero, gusano soldado, mortalidad, baculovirus, bioplaguicidas.



AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DE SUELOS AGRÍCOLAS DE ABASOLO, GUANAJUATO

Ana Martha Cruz-Avalos^{1,2}, Adriana Griselda Fernández-Martínez¹, Cesar Andrés Angel-Sahagun³, Laura Alejandra Arriola-Mosqueda⁴, Roberto Lezama-Gutierrez⁵. ¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato Extensión Abasolo. ²Posgrado en Biociencias. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km. 9.0, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Gto. cruz20_5@hotmail.com ³Departamento de Agronomía, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C.P. 36500, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México. ⁴Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, sede Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C.P. 36500, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México. ⁵Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Km 40 Autopista Colima-Manzanillo, C.P. 28100. Tecomán, Colima, México.

Resumen. En el estado de Guanajuato se conoce poco sobre la presencia y abundancia de enemigos naturales para el control de plagas agrícolas, las cuales afectan de manera importante los cultivos agrícolas. En la actualidad, el control de plagas agrícolas se basa, principalmente, en el control químico. No obstante, este método no siempre resulta eficaz, además, elimina especies beneficiosas para la planta, provocando infertilidad cada vez mas al suelo, así mismo, efectos nocivos al medio ambiente.

Por tal motivo se realizó este trabajo con el objetivo de aislar e identificar hongos entomopatógenos nativos de suelos agrícolas de Abasolo, Guanajuato. Así mismo evaluar la efectividad de los aislados sobre los insectos de *Acanthoscelides obtectus* y *Sitophilus zeamais*. La detección del hongo se realizó mediante la técnica de insecto trampa *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), de las cuales se hicieron los aislamientos e identificación del hongo entomopatógeno.

Se obtuvieron veintinueve muestras de suelos agrícolas de las cuales, siete mostraron la presencia de hongos entomopatógenos. Se encontraron tres cepas de *Metarhizium anisopliae* y cuatro de *Beauveria bassiana*. Las cepas se aislaron de los cultivos de Sorgo, Napa baby, Maíz, Trigo, Garbanzo, Brócoli y Col de brúcelas. También se realizó una prueba de efectividad de los aislados (Bb11), (Bb12), (Bb13), (Bb14) y (Ma14), sobre los insectos *A. obtectus* y *S. zeamais*. Se obtuvieron micosis entre 46.1 y 100% para *A. obtectus*, presentando el porcentaje más alto (100%) el aislado *B. bassiana* (Bb14). Para *S. zeamais* se obtuvieron valores entre 87.1 y 100%, donde el aislado *M. anisopliae* (Ma14), presentó el mayor porcentaje de micosis para este insecto (100%).

Palabras clave: Control Biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana*, *Galleria mellonella*.

Introducción

Los cultivos agrícolas son afectados por diversos tipos de plagas, debido a esto se reduce la vitalidad y capacidad de la producción de las plantas (Carrillo y Blanco, 2009); las plagas están



formadas principalmente por insectos, ácaros, nematodos, aves y roedores. La mayoría de los insectos que atacan a las plantas de cultivo tienen enemigos naturales que los parasitan (Cañedo y Ames, 2004), entre los diversos enemigos naturales que existen se destacan los hongos entomopatógenos que cuentan con un gran potencial como agentes de control biológico (Pucheta *et al.*, 2006).

Los hongos entomopatógenos han sido una de las mejores alternativas para el control de plagas de insectos presentes en los cultivos agrícolas en los últimos años, al hacer uso de estos agentes de control biológico se obtienen numerosas ventajas como seguridad tanto para la salud humana como para la fauna útil, una reducción de la presencia de residuos insecticidas en los alimentos y un incremento de la biodiversidad del medio (Quesada *et al.*, 2008). En la República Mexicana, se cuenta con escasos reportes de efectividad de hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas en cultivos agrícolas en condiciones de campo (Alonso-Díaz *et al.*, 2007).

Estos hongos han sido estudiados por diferentes autores en donde los reportan como agentes para el control biológico sin peligro para la salud humana y sin efecto nocivo para los numerosos componentes del medio ambiente (Polar *et al.*, 2005).

Lezama *et al.* (2001) aíslan a los hongos *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*), *Cordyceps bassiana* (= *Beauveria bassiana*) y *Metarhizium anisopliae*, de suelo cultivado con maíz y sorgo, en los estados de Michoacán, Colima y Jalisco, usando larvas de *Galleria mellonella* (Linnaeus) como insecto trampa.

En Abasolo, Guanajuato, no se cuenta con reportes de hongos entomopatógenos nativos, ni de su evaluación en plagas agrícolas, por lo que el presente estudio es relevante, ya que contribuyen a sentar los antecedentes de la presencia de hongos entomopatógenos con potencial para su uso en el control biológico de plagas en campo y que son nativos de dicha región lo que están mejor adaptados comparados con cepas no nativas. El objetivo del presente estudio fue aislar, identificar y evaluar hongos entomopatógenos sobre plagas de importancia agrícola del municipio de Abasolo, Guanajuato.

Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en dos etapas; la primera etapa se desarrolló en diferentes cultivos agrícolas del municipio de Abasolo, Guanajuato, de donde se muestrearon suelos, la segunda etapa se desarrolló en el Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la Universidad de Guanajuato, ubicado en el Departamento de Agronomía de la Ex Hacienda El copal, km 7 carretera Irapuato-Silao.

En el laboratorio a cada muestra de suelo se pasó por un cedazo de 2 mm de separación de malla para eliminar materia orgánica e impurezas y de él se tomaron 600 g, mismos que se colocaron en un recipiente de plástico de 1 litro de capacidad. El suelo se humedeció a capacidad de campo y se le colocaron cinco larvas de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758). Cada uno de los recipientes



con suelo y sus cinco larvas se invirtió incubándolo por 7 días a una temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ (Hernández *et al.*, 2011).

Pasado el tiempo de incubación, las larvas se recuperaron y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.2%, posteriormente se enjuagaron 3 veces en agua destilada estéril (Hatting *et al.*, 1999), luego fueron colocadas en forma individual dentro de cajas Petri de 60 x 10 cm de diámetro y alto, respectivamente, sobre una capa de papel filtro Whatman No. 1 (Whatman Internacional Ltd, England). Las cajas se taparon y sellaron con cinta adhesiva, para evitar la entrada de polvo y se incubaron a una temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$. Cada 48 horas y durante al menos ocho días, se revisaron para detectar el crecimiento de los hongos sobre el cadáver de las larvas (Hernández *et al.*, 2011).

Cuando se detectó el desarrollo de algún hongo en la superficie de las larvas, se tomó una pequeña parte del mismo y se sembró en cajas de Petri con Agar Dextrosa Sabouraud, más 1% de extracto de levadura con 500 ppm de cloranfenicol incubando a $25\pm 1^\circ\text{C}$ (Elósegui, 2006). Lo anterior se repitió hasta que se logró un cultivo puro de cada uno de los hongos. Una vez que se obtuvieron los cultivos puros se identificaron considerando las estructuras reproducidas, de acuerdo con Bidochka *et al.* (1998) y las claves de Samson (1981).

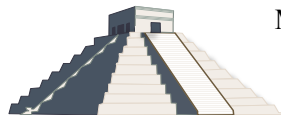
Para la realización de la evaluación de patogenicidad se obtuvieron insectos de *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) y *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae), pertenecientes al Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la Universidad de Guanajuato.

Por cada uno de los hongos aislados, se prepararon 4 cajas petri a la que se le colocó 10 insectos sobre una capa de papel filtro húmedo, para realizar la inoculación de hongos entomopatógenos inicialmente se multiplicaron en Agar Dextrosa Sabouraud más 1% de extracto de levadura con 500 ppm de cloranfenicol incubando a $25\pm 1^\circ\text{C}$ durante 21 días (Elósegui, 2006), las conidias fueron obtenidas con agua destilada estéril con 0.1% de Tween 80 para romper la tensión superficial de las conidias, posteriormente se determinó la concentración con ayuda de una cámara de Neubauer y por dilución se ajustó a la concentración 1×10^8 conidios/ml, misma que fue utilizada para la inoculación de los insectos. A cuatro cajas de petri con insectos se les inoculó con agua destilada estéril con Tween 80 y se les consideró como testigos. Una vez que se realizó la inoculación se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Cada 48 horas se registró el número de insectos muertos e insectos micosados.

Resultados

En total se colectaron 29 muestras de los cultivos: Chícharo, Maíz (2), Calabaza (2), Sorgo, Kailan, Trigo (2), Huichol, Shanghai, Brócoli (3), Napa Baby, Alfalfa (2), Cebolla (2), Ajo, Chile serrano, Tomate, Jitomate, Lechuga, Cebada (2), Garbanzo, Col de Brúcelas y Esparrago.



En total se aislaron e identificaron dos especies de hongos entomopatógenos, tres aislados de *M. anisopliae* y cuatro de *B. bassiana*. De acuerdo a las condiciones que se presentaron se logró evaluar, sobre *A. obtectus*, cuatro cepas (Bb11, Bb14, Bb12 y Bb13) y cuatro cepas sobre el insecto *S. zeamais* (Ma14, Bb11, Bb14 y Bb12). Las micosis sobre *A. obtectus* variaron de 46.1 a 100% y de *S. zeamais* de 75.8 a 100 % (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de micosis de *Acanthoscelides obtectus* y *Sitophilus zeamais* con hongos entomopatógenos nativos de Abasolo, Guanajuato.

Aislado	Micosis (%) de <i>A. obtectus</i>	Micosis (%) <i>S. zeamais</i>
Bb11	95	-----
Bb14	100	-----
Bb12	46.13	-----
Bb13	97.5	-----
Ma14	-----	100
Bb11	-----	87.12
Bb14	-----	75.83
Bb12	-----	96.15

Discusión

De acuerdo a las condiciones en que se llevó a cabo el desarrollo de esta investigación se comprueba la hipótesis que en suelos agrícolas de Abasolo, Guanajuato se encuentran diversos géneros y especies de hongos entomopatógenos, los cuales pueden ser utilizados como agentes de control biológico de diferentes plagas. En el presente estudio se detectaron dos especies de hongos entomopátogenos (*M. anisopliae* y *B. bassiana*), fenómeno que observó Allendes (2007), quienes señala que a nivel mundial, las dos especies más frecuente y estudiadas de hongos entomopátogenos son *M. anisopliae* y *B. bassiana*, debido a su eficiencia y facilidad de multiplicación. Hernández *et al.* (2011), realizaron un muestreo en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz del estado de Morelos para aislar hongos entomopátogenos, encontrando de igual manera que el presente estudio a *M. anisopliae* y *B. bassiana*, sin embargo en su estudio reportan que *Isaria fumosorosea*=*Paecilomyces* (Wize) Brown & Smith, especie que no se aisló de las muestras de suelo de Abasolo, Guanajuato. Del mismo modo Elósegui *et al.* (2006), reportan la presencia de hongos entomopátogenos, al realizar aislamientos a partir de especies de insectos, plagas de importancia económica y de muestras de suelo, los autores reportan a las especies de hongos entomopátogenos de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y una especie de *Paecilomyces lilacinus* (Thom).

Otros autores han reportado resultados similares en muestras de suelo de los estados de Colima, Michoacán, Nayarit, Veracruz, Jalisco y Sinaloa, donde no se encontró a *Paecilomyces* y que *M. anisopliae* fue la especie dominante (Molina-Ochoa *et al.*, 2002). Lezama-Gutiérrez *et al.* (2001) también reportaron a *M. anisopliae* con mayor abundancia en muestras de suelo de Michoacán, Colima, Jalisco y Tamaulipas. Esto es importante de resaltar, ya que en los sitios en los cuales se ha reportado a *M. anisopliae* con mayor frecuencia en México son zonas costeras tropicales en las cuales la humedad relativa y la temperatura son más altas. 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 infección.

Literatura citada

- Angel-Sahagún, C. A. 2004. Patogenicidad y Virulencia de aislados de hongos entomopatógenos: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* (Hyphomycete) Sobre diferentes estados biológicos de la mosca del cuerno *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) en laboratorio. Tesis profesional, Maestría en Ciencias Pecuarias, Universidad de Colima. Tecomán, Colima. 97p.
- Allendes, G.L. 2007. Evaluación de ocho cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sorokin, para el control de *Aleurothrixus floccosus* Maskell. Tesis, pontifica Universidad Católica de Valparaíso. Facultad agrónoma.
- Alonso-Díaz, M. A., García, L., Galindo-Velasco, E., Lezama-Gutiérrez, R., Angel-Sahagún, C. A., Rodríguez-Vivas, R. I., Fragosó-Sánchez, H. 2007. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol*, 147: 336-340.
- Bidochka, M.J., Kasperski, J.E. Geoffrey, A.M. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. *Canadian Journal of Botany*, 76: 1198-1203.
- Cañedo, V y Ames, T. 2004. Manual de Laboratorio para el manejo de hongos Entomopatógenos. Centro internacional de la papa, p. 62.
- Carrillo, R.M.T y Blanco, L. A. 2009. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. *Acta Universitaria*, 19 (2): 40-49.
- Elósegui, C.O., Jiménez, R.J., Carr, P.A. 2006. Aislamiento, identificación y caracterización morfológica de aislados nativos de hongos mitosporicos con potencialidad para el control de especies de insectos plaga. *Fitosanidad*, 10: 265-272.
- Hatting, J.L., Humber R.A., Poprawski T.J., y Miller, R.M. 1999. A survey of fungal pathogens from South Africa with special reference to cereal aphids. *Biocontrol*. 16: 1-12.
- Hernández-Velázquez, V.M., Cervantes-Espíndola, Z., Villalobos, F.J., García, L.L y Peña, C. G. 2011. Entomopathogenic fungi isolated from soil and immature white grubs (Coleoptera: Melolonthidae) in corn agrosystems. *Acta Zoológica Mexicana*, 27(3): 591-599.
- Lezama-Gutiérrez, R., Ham, J., Molina-Ochoa, J., López-Edwards, M., Pescador-Rubio, A., González Ramírez, M y Styler, E. 2001. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican states of Michoacán, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomologist*, 84: 23-30.
- Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutiérrez, R., González-Ramírez, M., López-Edwards, M., Rodríguez-Vega, M y Arceo-Palacios, F. 2002. Pathogens and parasitic nematodes associated with populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in México. *Florida Entomologist*, 86: 244-253.
- Polar, P., Kairo, M. T. K., Moore, D. 2005a. Comparison of water, oils and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarhizium anisopliae* for use in control of *Boophilus microplus*. *Mycopathol*. 60:151-157.
- ucheta, D. M., Flores, M. A., Rodríguez, N. S y De la Torre, M. 2006. Mecanismos de acción de los hongos Entomopatógenos. *Interciencia*, 31: 856-860.
- Quesada, E., Martin, I., Garrido, I y Santiago, C. 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 47(1): 115-124.
- Samson, R. A. 1981. Identification: entomopathogenic Deuteromycetes. *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*, pp. 1970-1980.



EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) NATIVAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO SOBRE *Tetranychus urticae* (PROSTIGMATA: TRETANYCHIDAE)

Sandra Yazmín Jiménez-Hernández¹, José Ignacio Hernández-Moreno², Héctor Gordon Núñez-Palenius², Laura Alejandra Arriola-Mosqueda², Ana Martha Cruz-Avalos^{1,4}, Roberto Lezama-Gutiérrez³, Cesar Andrés Angel-Sahagun². ¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5 C. P. 36821 Irapuato, Guanajuato, México. ²Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato Ex Hacienda El Copal, km 7 C. P. 36500, Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México; sahaun01@yahoo.com.mx. ³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecomán, Colima, México. ⁴Posgrado en Biociencias. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km. 9.0, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Gto.

Resumen. La producción de fresa es afectada por plagas como *T. urticae* que puede provocar pérdidas de hasta el 30% del cultivo. Se controla principalmente utilizando productos químicos, sin embargo éstos dañan al medio ambiente, organismos no blanco y, al acumularse en el producto, al consumidor final, por lo que la ciencia busca y evalúa métodos amigables con el medio ambiente y los consumidores. Los hongos entomopatógenos se utilizan para controlar una diversidad de plagas, no obstante no existe, hasta nuestro conocimiento, suficiente información de la evaluación de hongos entomopatógenos nativos del estado de Guanajuato sobre el ácaro *Tetranychus urticae*. Se evaluó la micosis del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre el ácaro plaga *T. urticae* en laboratorio. Las hojas de fresa se inocularon por inmersión a la concentración de 1×10^8 conidios/ml de las diferentes cepas de *B. bassiana*, se registró la micosis cada 48 horas. Las micosis provocadas por las cepas de *B. bassiana* variaron de 26 a 100%. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos y la prueba de Tukey formó cuatro grupos, el primero y más sobresaliente, lo formó la cepa Cb12 con micosis de *T. urticae* del 100%; y el grupo menos sobresaliente lo formó el grupo testigo.

Palabras clave: Hongo entomopatógeno, micosis, ácaro, fresa.



EVALUATION OF *Beauveria bassiana* (BALM VUILLEMIN) NATIVE TO THE STATE OF GUANAJUATO ON *Tetranychus urticae* (KOCH) GROWING ON STRAWBERRY LEAVES (*Fragaria x ananassa* DUCHESNE)

Abstract: The strawberry production is affected by pest like *T. urticae* that causes losses of the crop of up to 30%, it is mainly controlled using chemical products that damage the environment, non-target organisms and can accumulate in the product and reach the final consumer, reason for which science researches evaluate methods that are friendlier with environment and consumers. Entomopathogenic fungi are used to control a diversity of pest, nonetheless, up to our knowledge; there is not enough information of the evaluation of the entomopathogenic fungi native to the state of Guanajuato about the mite *Tetranychus urticae*. Mycosis of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* on the *T. urticae* mite was evaluated at the laboratory. The strawberry leaves were inoculated by immersion in the concentration of 1×10^8 conidia/mL of the different strains of *B. bassiana*, mycosis was registered every 48 hours. The mycosis caused by strains of *B. bassiana* varied from 26% to 100%. The variation analysis showed significant difference between the treatment and the Tukey test forming four groups, the first and most outstanding was the strain Cb12 with mycosis of *T. urticae* of 100%; the least group was the control treatment.

Key words: entomopathogenic fungi, mycoses, mite, strawberry.

Introducción

La producción de fresa es reconocida en el mercado nacional e internacional debido a la importancia comercial y beneficios económicos que otorga entre los agricultores. Debido a las necesidades de consumo entre la población, es importante el cuidado y desarrollo de los cultivos por lo que se debe evitar que se vean perjudicados por organismos plaga como insectos, malezas y fitopatógenos los cuales repercuten en un bajo rendimiento y baja calidad de los cultivos (Vega *et al.*, 2009). Los problemas más importantes que llega a presentar el cultivo de la fresa son los daños que causan las plagas, quienes pueden causar la disminución en el rendimiento final de hasta un 30% (Nava-Pérez *et al.*, 2012). Debido a ello la búsqueda de un control de plagas que permita mantener el equilibrio ecológico y biológico, y que a su vez no resulte dañino para el consumo humano, ha originado que investigadores opten por buscar mejores estrategias con el fin de disminuir el uso excesivo de plaguicidas y a su vez evitar los daños al medio ambiente, así como a la población humana. Los agentes de control biológico, como los hongos entomopatógenos de las especies *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, se ha comprobado que debido a su eficiencia y facilidad de propagación, resultan eficaces para su uso y control biológico contra la plaga *Tetranychus urticae* (Koch) (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013). Debido a los daños ocasionados por este ácaro se han evaluado y determinado que la especie *M. anisopliae* resulta efectiva para su uso como agente de control biológico contra el ácaro plaga *T. urticae* en condiciones de laboratorio (Jiménez-Hernández, 2014). No obstante lo anterior, en el estado de Guanajuato existen pocos estudios sobre la evaluación de cepas nativas de hongos entomopatógenos de *B. bassiana* sobre el ácaro



plaga *T. urticae*, considerando que si bien las cepas de éstos hongos no sustituyen el uso de agroquímicos, por lo menos pueda disminuirse su aplicación en cantidad y frecuencia de uso, y con ello beneficiar a la población humana, el medio ambiente y a los agricultores (Suresh y Chandrasekaran, 1999; Jandricic *et al.*, 2014). Por lo antes expuesto, el objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes cepas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre el ácaro plaga *T. urticae* en condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Los hongos entomopatógenos utilizados en la presente investigación pertenecen al Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la División Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, ubicado en Ex-Hacienda El Copal, Km. 7 carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato.

El insecto plaga, se obtuvo de un cultivo en invernadero de fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne) ubicado en las instalaciones del Campus Universitario. Inicialmente los hongos entomopatógenos que se utilizaron, fueron cultivados en Agar Dextrosa Sabouraud, con extracto de levadura, y 500 ppm de cloranfenicol, posteriormente los hongos se incubaron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 21 días (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013).

Para realizar las evaluaciones se utilizaron conidios de 21 días, los cuales fueron obtenidos con agua destilada y Tween 80 al 0.1%, ajustando la concentración de 1×10^8 conidios/mL para la evaluación sobre adultos de *T. urticae* (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013).

Para obtener los adultos de *T. urticae* se muestrearon plantas infectadas a través de la valoración por observación en las hojas que evidenciaban daños, una vez seleccionadas las plántulas dañadas se confirmó la presencia de la plaga en el laboratorio, con ayuda de un microscopio estereoscópico, posteriormente se transfirieron 10 ácaros adultos con ayuda de un pincel a cajas Petri 90x100 mm sobre una hoja de fresa previamente desinfectada con hipoclorito de sodio al 0.1% y posteriormente inoculada por inmersión con el hongo correspondiente a una concentración de 1×10^8 conidios/mL. Las cajas de Petri contenían una capa doble de papel filtro húmedo para favorecer el desarrollo de la micosis y se incubaron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante al menos 8 días. Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones, cuatro cajas de Petri fueron inoculadas con agua destilada con Tween IDEM, posteriormente se colocaron los ácaros y se consideraron como testigos.

La micosis se registró cada 48 horas y con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza previa transformación angular de los porcentajes al arcoseno con ayuda del software estadístico SAS (SAS, 1997).

Resultados



De acuerdo a los resultados obtenidos en el laboratorio se observó que todas las cepas fueron patógenas sobre al ácaro *T. urticae* sobre hojas de fresa en condiciones de laboratorio.

Los resultados de la micosis variaron de 26 a 100%, la cepa Cb12 obtuvo el mayor porcentaje de micosis, mientras que ocho cepas (Cb8, Cb6, Cb2, Cb3, Cb11, Cb1, Cb9 y Cb7) obtuvieron entre 28 y 68%, las cepas menos sobresalientes fueron Cb4 y Cb5 obteniendo 26% de micosis (Cuadro 1).

Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($p < 0.0001$, $F = 36.88$) y la prueba de Tukey formó cuatro grupos donde el grupo más sobresaliente se formó con la cepa Cb12, el segundo grupo más sobresaliente y que no compartió igualdad estadística con el primero, se formó con las cepas Cb8, Cb6, Cb2, Cb3, Cb11, Cb1, Cb9 y Cb7; y el grupo menos sobresaliente se formó con el testigo.

Cuadro 1. Resultados de la micosis por *B. bassiana* sobre *T. urticae* en hojas de fresa y prueba de Tukey al 95% de confianza.

Cepas	Porcentaje de micosis
Cb12	100a
Cb8	68b
Cb6	67bc
Cb2	59bc
Cb3	59bc
Cb11	57bc
Cb1	44bc
Cb9	31bc
Cb7	28bc
Cb4	26c
Cb5	26c
Testigo	0d

* Datos con literales diferentes por columna son estadísticamente diferentes.

Discusión

De acuerdo a las condiciones en que se desarrolló el experimento se encontró que todas las cepas evaluadas de *B. bassiana* son patógenas sobre *T. urticae* en hojas de fresa en condiciones de laboratorio.

Los resultados del presente estudio concuerda con los desarrollados por Jandricic *et al.* (2014) quienes concluyen que la efectividad de micosis de hongos entomopatógenos sobre diferentes insectos varía de acuerdo a la cepa utilizada como agente de control biológico, en el presente estudio se encontraron variaciones entre aislados y solo uno de ellos micosó el 100% de los ácaros desafiados, probablemente la cepa Cb12 produce más o eficientes metabolitos efectivos sobre *T. urticae*.



Existen estudios que han evaluado las cepas *M. anisopliae* y *B. bassiana* principalmente y determinan que *M. anisopliae* tiene mayor efectividad respecto a micosis (Sun *et al.*, 2003), no obstante lo anterior en el presente estudio se encontró una cepa de *B. bassiana* probablemente efectiva como agente de control biológico y pese a que no todas las cepas resultan 100% se recomienda continuar evaluando cepas para obtener más candidatos como agentes de control biológico de *T. urticae*.

Se recomienda que la evaluación de *B. bassiana* se realice en condiciones de invernadero y posteriormente en campo debido a que las condiciones ambientales pueden provocar que su efectividad disminuya o aumente.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento del proyecto apoyado por la SEP a través del Programa del Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) con el Apoyo a la Incorporación de Nuevos PTC, en la convocatoria PROMEP 2012 titulado: Control Biológico de la Araña Roja (*Tetranychus urticae* Koch), Mediante la Aplicación de Cepas de Hongos Entomopatógenos, en Fresa (*Fragaria x ananassa* Duchesne) Producida en Sistema Acuapónico.

Literatura citada

- Jandricic, S.E., Filotas M., Sanderson J.P., Wraight S.P. 2014. Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Invertebrate Pathology* 118: 34-46.
- Jiménez-Hernández, S.Y., Hernández-Moreno J.I., Nuñez-Palenius H.G., Arriola-Mosqueda L.A., Jiménez-Lara Y., Angel-Sahagun C.A. 2014. Evaluación de cepas nativas del estado de Guanajuato de *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF SOROKIN) sobre *Tetranychus urticae* (KOCH) en condiciones de laboratorio. Memoria del XLIX Congreso Nacional de Entomología y IV Congreso Latinoamericano de Aracnología. Organizado por la Sociedad Mexicana de Entomología A. C. del 20 al 25 de Julio 2014 en la Cd. de Morelia, Michoacán, México, 310-314.
- Lezama-Gutiérrez, R., Gómez-Nuñez N., Angel-Sahagún C.A., Manzo-Sánchez G., Rebolledo-Domínguez O., Molina-Ochoa J., 2013. Patogenicidad de cepas mexicanas de *Cordyceps bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Ascomycetes) sobre adultos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Organizado por la Sociedad Mexicana de Control biológico del 3-9 de Noviembre del 2013 en la ciudad de Oaxaca de Juárez, Oaxaca, 477-480.
- Nava-Pérez, E.; García-Gutiérrez C., Camacho-Báez J.R., Vázquez-Montoya E.L., 2012. BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS. *Ra Ximhai*, 17-29.
- Ojeda-Chi, M.M., Rodríguez-Rivas R.I., Galindo-Velasco E., Lezama-Gutiérrez R., 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology* 170, 348-354.
- SAS, Institute, 1997. SAS/STAT software: change and hancements through relase 6.12. SAS Institute, Cary, NC.
- Sun, J., Fuxa R.J., Henderson G. 2003. Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 84:38-46.
- Suresh, P.V. y Chandrasekaran M. 1999. Impact of process parameters on chitinase production by an alkalophilic marine *Beauveria bassiana* in solid state fermentation. *Process Biochemistry* 34: 257-267.
- Vega, F.E., Goettel M.S., Blackwell M., Chandler D., Jackson M.A., Keller S., Koike M., Maniania N.K., Monzón A., Ownley B.H., Pell J.K., Rangel. D.E.N., Roy H.E., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology* 2, 149-159.



VIRULENCIA DE CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) NATIVOS DEL ESTADO DE GUANAJUATO SOBRE LARVAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (IXODIDA: IXODIDAE)

Arriola-Mosqueda Laura Alejandra^{1,2}, Hernández-Ramírez Citlalli¹, Prieto-Avella Eugenia del Carmen¹, Nuñez-Palenius Héctor Gordon¹, Lezama-Gutiérrez Roberto³, Gutiérrez-Chávez Abner Josue¹, Angel-Sahagún César Andrés¹. ¹Departamento de Agronomía, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C.P. 36500, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México; email: sahagun01@yahoo.com.mx ²Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, sede Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C.P. 36500, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México. ³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecoman, Colima, México.

Resumen. La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* es un ectoparásito hematófago, se consideran responsables de enfermedades en humanos y animales. El control de la garrapata se basa en el uso de acaricidas químicos, sin embargo su utilización inadecuada genera problemas por lo que se requiere de métodos alternativos sostenibles que sean ambientalmente seguros y rentables.

El control biológico es una de las opciones a elegir, ya que no contamina productos de origen animal, medio ambiente y las plagas no desarrollan resistencia. El objetivo del presente estudio fue determinar las Concentraciones Letales 50% (CL₅₀) de cepas de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* nativos del estado de Guanajuato sobre larvas de garrapatas *R. sanguineus*. Las cepas fueron seleccionadas en pruebas de patogenicidad con una mortalidad del 100%. Se utilizaron larvas *R. sanguineus* de 7 días, colocadas en un caja Petri con doble papel filtro y agua destilada. La inoculación se realizó por inmersión durante 5 segundos con registros cada 48 horas. El análisis PROBIT mostró que la cepa más sobresaliente con valores de CL₅₀ fue la Ma4 con 1.78x10⁶ conidios/mL⁻¹ y la menos sobresaliente fue la Ma8 con 5.49x10⁸ conidios/mL.

Palabras clave: *M. anisopliae*, ectoparásitos, control biológico, canideos.

Introducción

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) es un ectoparásito hematófago obligado, y está en el grupo más importante de los vectores de patógenos de los artrópodos, ya que pertenecen a la clase Arácnida; de la familia Ixodidae (Márquez-Jiménez *et al.*, 2005). Las garrapatas se consideran responsables de enfermedades en humanos, animales salvajes y domésticos; dentro de los patógenos que pueden transmitir se encuentran virus, bacterias, protozoarios y nematodos, además pueden provocar daños en el animal como toxicosis, heridas de las picaduras, molestias y pérdida de sangre (Shaw *et al.*, 2001).

El control de la garrapata se basa principalmente en el uso de acaricidas químicos sin embargo, la utilización inadecuada de estos productos químicos tienen consecuencias severas sobre la salud



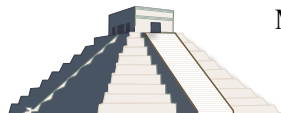
humana, animal, residuos químicos en leche, carne, contaminación del ambiente y generando resistencia en las diferentes especies de garrapatas (Domínguez-García *et al.*, 2010). Por lo anterior se requiere de métodos alternativos sostenibles que sean ambientalmente más seguros y rentables

El control biológico es una de las mejores opciones a elegir, ya que no contamina productos de origen animal, medio ambiente y las plagas no desarrollan resistencia ya que se utilizan enemigos naturales (Dantas-Torres, 2008; Campos *et al.*, 2010). A nivel mundial los hongos entomopatógenos han demostrado alta virulencia en condiciones de laboratorio, de todos los géneros y especies de hongos que se han evaluado, *M. anisopliae* y *B. bassiana* han demostrado ser los más sobresalientes, por lo tanto estos son los más investigados para el control de diferentes especies de garrapatas (Kaaya y Hassan, 2001; Polar *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2011). Cruz-Vázquez *et al.* (2010) evaluó una cepa *M. anisopliae* sobre larvas de garrapata *R. microplus* obteniendo valores de CL₅₀ de 2.5×10^4 y 5.2×10^4 conidios/ml.

Recientemente aislamientos de hongos entomopatógenos nativos del estado de Guanajuato se han evaluado en el laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la División Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato. Hernández-Ramírez *et al.* (2012) obtuvieron resultados de 98 hasta 100% de mortalidad de larvas de garrapata. Lo anteriormente descrito permite justificar la necesidad de que se realicen las evaluaciones de la virulencia de aislados de hongos entomopatógenos de las especies de *M. anisopliae* sobre larvas de garrapatas *R. sanguineus* que permitan seleccionar, al menos un aislado, para utilizarlo en condiciones de campo. Por lo tanto, el objetivo general del presente estudio fue determinar *in vitro* las Concentraciones Letales 50% (CL₅₀) de hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* nativos del estado de Guanajuato sobre larvas de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*.

Materiales y métodos

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Parasitología y Control Biológico, perteneciente a la División Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato. Inicialmente se colectaron garrapatas *R. sanguineus* hembras, de perros domésticos del municipio de Irapuato; se colocaron en cajas de Petri sobre una capa doble de papel filtro húmedo con agua destilada estéril. Las garrapatas fueron incubadas a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Una vez que ovipositaron, los huevos se trasladaron a cajas de Petri y se incubaron hasta su eclosión; las larvas se mantuvieron en cajas de Petri por 7 días, y se utilizaron posteriormente en la evaluación (Ocón *et al.*, 2001). Se utilizaron cepas de *M. anisopliae* (Ma3, Ma4, Ma7 y Ma8) (Tabla 1), las cepas fueron seleccionadas de un estudio previo que obtuvo mortalidades del 100% a una concentración de 1×10^8 conidios/mL (Hernández-Ramírez *et al.*, 2011). Previo al experimento los hongos fueron cultivados en Agar Dextrosa Sabouraud enriquecido con 1% de Extracto de Levadura y 500 ppm de Cloranfenicol; se incubaron por 21 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con 12 horas de luz/oscuridad (Angel-Sahagún *et al.*, 2010). Del experimento reportado por Hernández-Ramírez *et al.* (2011) se realizó la selección de aislados y se tomaron las cepas más sobresalientes en pruebas de patogenicidad con una mortalidad del 100%.



Posterior a la incubación de los hongos, se colectaron los conidios por raspado del medio de cultivo con ayuda de agua destilada estéril con 0.1% de Tween 80, y se cuantificaron en una cámara hematimétrica de Neubauer y por dilución se formaron las concentraciones de 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 conidios/ml⁻¹ (Ocon *et al.*, 2001). Se utilizaron 25 larvas de *R. sanguineus* para cada tratamiento con 4 repeticiones y un grupo de larvas se inoculó con agua destilada estéril con Tween 80 que se consideraron como tratamiento control. La inoculación se realizó por inmersión durante cinco segundos, para facilitar su manipulación las larvas de garrapatas se colocaron en una cinta masking de 5 cm, posteriormente se colocaron en una caja de Petri con doble papel filtro y agregándole agua destilada estéril y se incubaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con 12 horas de luz/oscuridad. Cada 48 horas se registró el número de larvas micosadas con la ayuda de un microscopio estereoscópico, a los resultados obtenidos se les realizó un análisis Probit, relacionando el número de larvas micosadas y el logaritmo de la concentración de conidios, lo anterior para determinar las concentraciones letales 10, 50 y 90% (Torres *et al.*, 2001)

Resultados

De acuerdo a las condiciones en que se desarrollaron los experimentos se logró determinar la virulencia con los valores de CL₁₀, CL₅₀ y CL₉₀ de las cepas de *M. anisopliae* (Ma3, Ma4, Ma7 y Ma8) sobre las larvas de garrapatas *R. sanguineus* de siete días de edad.

Se encontraron diferencias entre las cepas de *M. anisopliae* que fueron capaces de micosar a las larvas de *R. sanguineus*; donde las cepas Ma3 y Ma4 resultaron ser las más virulentas. Los valores de CL₅₀ de los diferentes aislados de hongos varió (Tabla 1), la cepa más sobresaliente fue la Ma4 con 1.78^6 conidios/mL⁻¹ y la menos fue la Ma8 sobresaliente con 5.49×10^8 conidios/mL¹.

Tabla 4. Valores de CL₅₀ de hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* sobre larvas de garrapata *R. sanguineus* de 7 días de edad.

Cepa	CL ₅₀ (conidios/mL)	IC* (Conidios/mL)	Ecuación	X ²
Ma 3	2.35^6	$1.06 \times 10^6 - 6.57 \times 10^6$	$Y = .4 X + 1.62$	9.787
Ma 4	1.78^6	$4.59 \times 10^5 - 6.68 \times 10^6$	$Y = .29 X + 2.68$	18.219
Ma7	2.88^7	$1.25 \times 10^7 - 6.30^8$	$Y = .41 X + .9$	1.542
Ma 8	5.49^8	$1.64 \times 10^7 - 1.82^{10}$	$Y = .25 X + 2.27$	1.064

Discusión

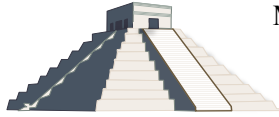
De acuerdo a las condiciones en que se desarrolló el experimento, los resultados permiten corroborar que existen diferencias en las Concentraciones Letales 50% (CL₅₀) de cepas de *M. anisopliae* nativos del estado de Guanajuato sobre larvas de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*.



En el presente estudio demostró las cepas de hongos más virulentas sobre *R. sanguineus* fueron Ma4 y Ma3 (1.78×10^6 conidios ml^{-1} y 2.35×10^6 conidios ml^{-1} , respectivamente), a diferencia de resultados superiores en diferentes especies de garrapatas como los encontrados por Angel-Sahagún *et al.* (2010) quienes reportaron CL_{50} que variaron de 1.1×10^4 y 9.2×10^4 conidios ml^{-1} con aislados de *M. anisopliae* sobre larvas de *R. microplus*, probablemente las larvas de la garrapata *R. sanguineus* sean más resistentes a los hongos entomopatógenos que las de *R. microplus* o los hongos entomopatógenos aislados de algunas regiones poseen más características biológicas favorables para matar a las garrapatas, fenómeno que probablemente se repite con los resultados de CL_{50} obtenidos por Quinelato *et al.* (2012), quienes determinaron una CL_{50} de 1.14×10^7 conidios/mL al utilizar el hongo entomopatógeno de *M. anisopliae* sobre la garrapata *R. microplus*, sus resultados fueron superiores a los encontrados en el presente estudio. Hasta donde se tiene conocimiento en la literatura científica no se cuenta con muchos estudios que determinen las CL_{50} de hongos entomopatógenos sobre la garrapata *R. sanguineus*, en el estado de Guanajuato es el primer reporte de CL_{50} de cepas nativas por lo que se recomienda evaluar más cepas que puedan poseer unas CL_{50} menores a las encontradas en el presente estudio.

Literatura citada

- Angel-Sahagún, C. A., Lezama-Gutiérrez, R., Molina-Ochoa, J., Pescador-Rubio, A., Skoda, S.R., Cruz-Vázquez, C., Lorenzoni, A.G., Galindo-Velasco, H., Fragoso-Sánchez, E.H., Foster, J.E. 2010. Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus = Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. *Veterinary Parasitology*. 170. 278–286
- Campos, R.A., Boldo, J.T., Pimentel, I.C., Dalfovo, V., Araújo, W.L., Azevedo J.L., Vainstein, M.H., Barros, N.M. 2010. Endophytic and entomopathogenic strains of *Beauveria* sp to control the bovine tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Genetics and Molecular Research* 9, 1421-1430.
- Cruz-Vázquez, C., Cruz-Avalos, A., Lezama-Gutiérrez, R., Vitela, M.I., Medina, E.L., Ramos, P.M. 2010. Patogenicidad de diferentes aislados de hongos entomopatógenos en larvas de la garrapata del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Monterrey, N. L.; XXXIV Congreso Nacional de Buiatría Memorias Científicas. Pag 426-430
- Dantas-Torres, F. 2008. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control, *Veterinary Parasitology* 152: 173–185.
- Domínguez-García, D. I., Cruz, R. R., Almazán, G.C., Saltijeral, O.J.A. y Fuente de la J. 2010. Tropical and *Boophilus microplus*: aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal. *Subtropical Agroeco systems*. 12: 181–192.
- Hernández-Ramírez, C., Prieto-Avellana, E. C., Angel-Sahagún C. A., Cruz-Avalos, A. M., Molina-Ochoa, J., Valencia-Posadas, M. 2012. Patogenicidad de hongos entomopatógenos nativos del estado de Guanajuato sobre larvas de garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (acari: ixodidae). Congreso Latinoamericano de Acaraología. Pp 197-201.
- Kaaya, G. P y Hassan S. 2001. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and Applied Acarology* 24: 913–926.
- Márquez-Jiménez, J.F., Pontiverosa, H. A., Chovab, F. C., Rodríguez, J. J., Liébanaa y Muniain, E. M. Á. 2005. Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*. 23:94-102.
- Ocón, T.N.B., Galindo, V.E y Lezama, G.R. 2001. Virulencia de los hongos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria Bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en huevos de garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Seminario de investigación. Universidad de Colima Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Seminario de Investigación.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Polar, P. Aquino de Muro, M. Kairo T.K.M. Moore, D. Pegram, R. Sally-Ann, John. Roach-Benn, C. 2005. Thermal characteristics of *Metarhizium anisopliae* isolates important for the development of biological pesticides for the control of cattle ticks. *Veterinary Parasitology* 134. Pag. 159–167.
- Quinelato, S., Golo, S.P., Perinotto. M.S.W., Sá, A. F., Camargo, G.M., Angelo, C. I., Moraes, M.L. A., Bittencourta, R.E.P. V. 2012. Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Veterinary Parasitology* 190. Pag. 556– 565.
- Shaw, S.E., Day, M.J., Birtles, R.J., Breitschwerdt E. B. 2001. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology* Vol. 17 No.2: 74-80.
- Sun, M., Ren, Q., Guan, G., Liu, Z., Ma. M., Gou, H., Chen, Z., Li, Y., Liu, A., Niu, Q., Yang, J., Yin, H., Luo, J. 2011. Virulence of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* to the engorged female *Hyalomma anatolicum anatolicum* tick (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 180. Pag. 389–393.
- Torres, G.F.J., Galindo, V.E., Lezama, G.R. 2001. Virulencia de los hongos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria Bassiana* y *Paecylimices fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en huevos de *Amblyomma* sp. (Acari: Ixodidae). Universidad De Colima Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Seminario De Investigación.



EVALUACIÓN DE *Metarhizium anisopliae* Y *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE HUEVOS DE GARRAPATA *Rhipicephalus sanguineus* (IXODIDA: IXODIDAE) DE DIFERENTE EDAD

Eugenia del Carmen Prieto-Avella², Misael Silva-Azpeitia¹, Laura Alejandra Arriola-Mosqueda^{2,5}, Sandra-Yazmin Jiménez-Hernández³, Roberto Lezama-Gutiérrez⁴, Rosario Martínez-Yáñez², César Andrés Ángel-Sahagún².¹Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nayarit. ²Departamento de Agronomía, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda El Copal, km 7 carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México CP 36500. sahagun01@yahoo.com.mx. ³Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5 C. P. 36821 Irapuato, Guanajuato, México. ⁴Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. KM 40 Carretera Colima-Manzanillo, C.P. 28930, Tecmán, Colima, México. ⁵Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, sede Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C.P. 36500, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México.

Resumen. El objetivo del presente trabajo fue la evaluación de 10 diferentes cepas de hongos entomopatógenos de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre huevos de garrapata *Rhipicephalus sanguineus* de 5, 8 y 12 días de edad. Se utilizaron las 10 cepas como tratamientos, más un Testigo, en el cual se usó agua destilada estéril con 0.1% de Tween 80[®], con 4 repeticiones cada tratamiento y cada uno con 50 huevos por repetición, utilizando una concentración de 1×10^7 conidios/mL para la inoculación a cada grupo de huevos aplicando un volumen de 500 μ L. Obteniéndose como resultado que todas las cepas de hongos fueron patógenas para los huevos de garrapata *R. sanguineus* de 5, 8 y 12 días de edad; los mayores porcentajes de micosis se encontraron en los huevos de 5 días de edad, siendo la edad del huevo un factor que interviene en la micosis del mismo. Entre los porcentajes de micosis obtenidos para *M. anisopliae* para los huevos de 5 días se obtuvo de un 83.2% hasta un 100%. Mientras para *B. bassiana* se encontró un porcentaje menor de 63.8% para los huevos de 5 días, disminuyendo conforme la edad de huevo era mayor. Los hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* son eficaces en el control biológico de huevos de garrapata *R. sanguineus* y varía su patogenicidad de acuerdo con la edad de los huevos de garrapata.

Palabras clave: *Rhipicephalus sanguineus*, Garrapata, Hongos entomopatógenos, Control biológico, *Metarhizium anisopliae*.

Introducción

Las garrapatas son artrópodos chupadores de una gran variedad de mamíferos, aves y anfibios, son arácnidos del orden Acari (Fernandes *et al.*, 2012). *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (ACARI: IXODIDAE), la garrapata marrón del perro o garrapata perrera probablemente evolucionó como parásito de carnívoros en climas cálidos con la domesticación del perro.

Es de suma importancia en medicina veterinaria y humana, por su rol como vector de muchas enfermedades, en perros provoca anemia, lesiones cutáneas y parálisis (Gray *et al.*, 2013). Las enfermedades más importantes transmitidas por la garrapata son Babesia (*Babesia vogeli*) y



Ehrlichiosis por (*Rickettsia conorii*), por lo que es importante contar con un programa de prevención, identificación y control de la garrapata ya que *R. sanguineus* es de distribución mundial y puede sobrevivir en diferentes nichos ecológicos (Gray *et al.*, 2013).

Estudios de laboratorio demuestran que los hongos entomopatógenos pueden causar la muerte de una gran variedad de garrapatas, reduciendo la ovoposición e infección de las mismas, son susceptibles a hongos entomopatógenos por su alto efecto como controladores biológicos. *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sorokin y *Beauveria bassiana* (Balsamo- Crivelli) Vuillemin, son excelentes para el control biológico de la garrapata (Fernandes *et al.*, 2012).

El estudio de hongos entomopatógenos tiene dos enfoques para el control biológico de la garrapata, una de las más comunes es la aplicación de hongos contra las diferentes fases de garrapatas dentro y fuera del huésped, el cual tiene muy buenos resultados con *M. anisopliae* (Rot *et al.*, 2013).

Acaricidas han jugado un papel importante en el control de las garrapatas, y una gama de acaricidas incluyendo organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides, amidinas se han utilizado. Como consecuencia del uso excesivo la garrapata ha desarrollado resistencia a todas las clases principales de acaricidas en varios países. Existen preocupaciones muy reales sobre el daño ambiental y riesgo para la salud de los organismos no objetivo, incluido los seres humanos, que presentan dichos productos químicos (Ojeda-Chi *et al.*, 2010) por lo que el objetivo del presente estudio fue conocer la patogenicidad de diferentes cepas de *M. anisopliae* sobre huevos de garrapata de diferente edad.

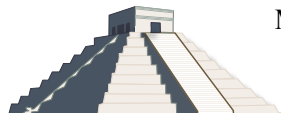
Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Parasitología y Control biológico de la División Ciencias de la Vida (CBPA-DICIVA) del Campus Irapuato-Salamanca sede Irapuato de la Universidad de Guanajuato.

Se recolectaron garrapatas de *R. sanguineus* de perros capturados por el personal técnico y médico del Centro de Atención Canina ubicado en carretera privada Excelsior S/N Rancho Grande, Irapuato, Irapuato Guanajuato, México, CP. 36543.

Las hembras pletóricas se colocaron en cajas de petri con papel filtro y agua destilada y se incubaron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta observar la ovoposición, posteriormente a la primera ovoposición se recolectaron huevos de las garrapatas a los días 5, 8 y 12 días de edad, fueron separados en grupos de 50 huevos.

Se utilizaron cepas de *M. anisopliae* las cuales pertenecen al LPCB-DICIVA. Los hongos fueron cultivados en Agar Dextrosa Sabouraud con extracto de levadura, se utilizó cloranfenicol a 500 ppm para inhibir el crecimiento bacteriano incubándose por 21 días a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta observar el desarrollo de los hongos.



Para poder evaluar la patogenicidad sobre huevo de *R. sanguineus*, se cultivaron conidias en agua destilada estéril con 0.1 % de Tween 80[®], se homogenizó la muestra con un Vórtex y posteriormente se cuantificaron en la cámara de Neubauer.

Por medio de dilución se conformó la concentración 1×10^7 conidios/mL. Se evaluaron 10 tratamientos, cepas Ma1, Ma2, Ma3, Ma4, Ma5, Ma6, Ma7, Ma10, Ma11 y Cb3 con 4 repeticiones (50 huevos por repetición) a un tratamiento solo se le colocó agua destilada estéril y se consideró como Testigo.

Las inoculaciones se realizaron aplicando 500 μ L de la concentración a cada grupo de huevos. La revisión de los huevos micosados se realizó cada 48 horas por medio de un microscopio estereoscópico y se registró el número de huevos micosados hasta la emergencia de larvas en el Testigo.

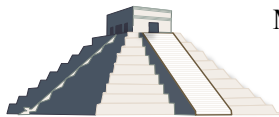
Resultados

De acuerdo a las condiciones que se realizaron los experimentos se observó que el total de los hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* a la concentración de 1×10^7 conidios/mL son patógenos para los huevos de la garrapata *R. sanguineus* de 5, 8 y 12 días de edad.

Los porcentajes de micosis más sobresalientes de manera general se presentaron en las evaluaciones de *M. anisopliae* sobre huevo de *R. sanguineus* de 5 días de edad con hasta un 100% (cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de micosis en huevo de *R. sanguineus* de 5, 8 y 12 días de edad expuestos a hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* a la concentración de 1×10^7 conidios/mL.

Cepa/Edad	5 días	8 días	12 días
Testigo	0.00	0.00	0.00
Ma1	96.50	97.06	50.50
Ma2	88.8	67.92	58.96
Ma3	86.95	95.36	100
Ma4	83.20	52.14	11.48
Ma5	96.50	94.50	51.00
Ma6	89.03	84.83	32.23
Ma7	100.00	99.74	47.78
Ma10	96.00	95.00	67.00
Ma11	92.50	93.50	93.50
Bb3	63.80	17.05	4.44



Los porcentajes de micosis para las cepas Ma2, Ma4, Ma5, Ma6, Ma7, Ma10 y Bb3 sobre huevos de garrapata *R. sanguineus* disminuyeron conforme aumentaba la edad del huevo, por el contrario la cepa Ma3 disminuyó su porcentaje de micosis mientras aumentó la edad de los huevos.

Los porcentajes de micosis más bajos que se obtuvieron en los huevos de 12 días, el grupo con la mayor edad, fueron de las cepas Bb3, Ma4 y Ma6 con un 4.44, 11.48 y 32.23% respectivamente, por el contrario, la cepa Ma3, obtuvo un 100% de micosis en este grupo de huevos, de igual manera la cepa Ma11 presentó un 93.5% de micosis, mientras que en el resto de las cepas se obtuvieron porcentajes de micosis entre un 47.78 y 67% (Cuadro 1).

Para las cepas Ma1 y Ma11 se mantuvieron los valores de porcentajes de micosis semejantes en dos grupos diferentes de huevos; en la cepa Ma1 los huevos de 5 y 8 días con 96.5 y 97.1% respectivamente, mientras que para los huevos de 12 días existió una disminución del porcentaje de micosis.

Las cepas de hongos que lograron mantener constante los valores de micosis en los tres diferentes grupos de huevos, fueron la Ma3 y Ma11 (Cuadro 1).

Discusión

En el presente estudio se demostró que en siete (Ma2, Ma4, Ma5, Ma6, Ma7, Ma10 y Bb3) de las diez cepas evaluadas, los huevos de menor edad de la garrapata *R. sanguineus* son más susceptibles a hongos entomopatógenos de *M. anisopliae* y *B. bassiana*.

En el presente estudio se puede observar que existe diferencia en la patogenicidad entre especies y aislados de hongos entomopatógenos sobre huevo de *R. sanguineus*, las cepas de *M. anisopliae* presentaron un mayor porcentaje de micosis que *C. bassiana*, resultados que concuerdan con los reportados por Rivera-Oliver *et al.* (2013) quien reporta que *M. anisopliae* es más virulento que *C. bassiana* sobre huevo de garrapata de diferente edad de *R. microplus*.

Los resultados del present estudio difieren a lo reportado por Gindin *et al.* (2009) quienes reportan que *M. anisopliae* sobre huevo de *R. annulatus* es más virulento en huevos de mayor edad, probablemente la especie de garrapata influya sobre la susceptibilidad a hongos entomopatógenos.

Literatura Citada

- Everton, K.K. Fernandes E.K.K., Bittencourt V.R.E.P. y Roberts D.W. 2012. Perspective on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Experimental parasitology*. 130: 300-305.
- Fourie, J.J., Joubert A., Labuschagné M., Beugnet F. 2014. New method using quantitative PCR to follow the tick blood meal and to assess the anti-feeding effect of topical acaricide against *Rhipicephalus sanguineus* on dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and infectious Diseases*. 37: 181-187.
- Garcia, M. V., Monteiro A.C., Szabo M.J.P., Prette N., Bechara G.H. 2005. Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology. *Brazilian Journal of Microbiology*. 36: 368-372.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Gindin, G., Ment D., Rot A., Glazer I. y Samish M. 2009. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) to Tick Eggs and the Effect of Egg Cuticular Lipids on Conidia Development. *Journal of Medical Entomology*. 46(3): 531-538.
- Gray, J., Dantas-Torres F. F., Estrada-Peña A. A., Levin M. M. 2013. Systematics and ecology of the Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks and tick-borne Diseases*. 4: 171-180.
- Ment, D., Gindin G., Glazer I., Perl S., Elad D., Samish, M. 2010. The effect of temperatura and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in tick eggs. *Fungal Biology*. 114: 49-56.
- Ojeda-Chi, M.M., Rodríguez-Vivas R. I., Galindo-Velasco E., Lezama-Gutierrez R. 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary parasitology*. 170: 348-354.
- Quinelato, S., Golo P.S., Perinotto W.M., Sá F.A., Camargo, M.G., Angelo I.C., Moraes A.M., Bittencourt, V.R. 2012. Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* S.I isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Veterinary Parasitology*. 190: 556-565.
- Rivera-Oliver, R., Angel-Sahagún C.A., Cruz-Avalos A. M., Lezama-Gutiérrez R., Canchola-Ramírez M., Molina-Ochoa J. 2013. Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre huevos de diferente edad de la garrapata *Rhipicephalus microplus*. Memoria del XLVIII Congreso Nacional de Entomología, Ixtapa, Zihuatanejo del 23 al 27 de Junio 2013.
- Rot, A., Gindin, G., Ment D., Mishoutckenko A., Glazer, I., Samish, M. 2013. On-host control of the brown dog tick *R. sanguineus* latreille (acari: Ixodidae) by *Metarhizium brunneum* (Hypocreales Clavicipitaceae). *Veterinary Parasitology*. 193: 229- 237.



CONTROL MICROBIAL DE *Brachystola magna* GIRARD (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) EN CHIHUAHUA, MÉXICO

Juan C. Bustillos Rodríguez¹, Claudio Rios-Velasco¹, Ramiro Valdez-Licano¹, David I. Berlanga-Reyes¹, Carlos H. Acosta Muñoz¹, María Fernanda Ruiz Cisneros¹, Miguel Á. Salas-Marina², y Juan L. Jacobo-Cuellar³. ¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ²Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Km 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. ³Campo Experimental Sierra de Chihuahua, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Hidalgo, 1213. Zona Centro, C.P. 31500, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. e-mail: juan.bustillos@estudiantes.ciad.mx

Resumen. El chapulín gordinflón *Brachystola magna* Girard, es la principal plaga del frijol *Phaseolus vulgaris* en el estado de Chihuahua, su control depende de la aplicación de insecticidas químicos de contacto con resultados satisfactorios, sin embargo, dada la etología de *B. magna* de arribo-evasivo al cultivo, se dificulta su control. Es por esto, que el control biológico ha sido propuesto como una alternativa viable y efectiva en el control y amigable con el ambiente, ya que dichos microorganismos se establecen en el área de cultivo, lo que permite que el insecto pueda ser infectado ya sea al momento de la aplicación del hongo o posteriormente. Dado lo anterior, el objetivo fue aislar y evaluar la efectividad biológica de hongos entomopatógenos para el control de *B. magna* bajo condiciones de campo. Se aislaron y caracterizaron los hongos *Metarhizium* spp. y *Beauveria bassiana*, que al ser evaluados sobre adultos de *B. magna* bajo condiciones de campo mostraron mortalidades por arriba del 96 %.

Palabras Calve: Control biológico, Hongos entomopatógenos, *Metarhizium* spp., *Beauveria bassiana*.

Introducción

El chapulín gordinflón *Brachystola magna* Girard, es un insecto polífago que predomina en zonas áridas del norte de México y el sur de Estados Unidos de América, considerado plaga de importancia primaria en los estados de Zacatecas, Durango y Chihuahua (Mena-Covarrubias, 2009; Lagunes *et al.*, 1994; Eades *et al.*, 2011). Es un insecto bianual, sin embargo, bajo las condiciones climáticas del estado de Chihuahua se comporta como anual. Se puede encontrar en diferentes hábitats, alimentándose tanto de malezas de hoja ancha como de pastos, se desarrolla en agostaderos y migra hacia los cultivos en concentraciones de más de 80 especímenes por m² cuando se encuentra en el tercer estadio ninfal (Mena-Covarrubias, 2009), siendo el frijol su hospedero primario del cual se alimentan del follaje, ocasionando defoliaciones parciales o totales dejando sólo los tallos y las nervaduras centrales de la hoja (Lagunes *et al.*, 1994). Cabe señalar que a la fecha han sido descritas cerca de 11,000 especies del orden Orthoptera; dentro del cual, un gran número de chapulines son considerados como plagas, particularmente los géneros *Melanoplus* spp., *Boopedum* spp., *Mermiria* spp., *Sphenarium* sp. y *Brachystola* spp., que afectan plantas cultivadas, praderas y pastizales al ser endémicas recurrentes y de amplia distribución en el país. Anualmente infesta una superficie cercana a las 300,000 ha (Morris, 1981 y Pfadt, 1994). En México, los primeros brotes de *B. magna* se reportaron entre 1979 y 1989.



Cabe señalar, que ésta problemática fitosanitaria de no ser atendida puede causar graves daños a la producción de frijol sobre todo si las infestaciones de chapulines son altas y las plantas se encuentran en etapas iniciales de desarrollo. Por lo que, en áreas de cultivo donde la infestación es severa (mayor a 13 individuos/m²), se recomienda tomar medidas de control obligatorias (INIFAP, 2000). Actualmente el control de *B. magna* en Chihuahua, ha dependido de insecticidas químicos, (CESAVECH, 2013), con resultados satisfactorios. Sin embargo, dado su comportamiento evasivo y de arribo constante, solo se controla a los especímenes que se encuentran dentro del cultivo al momento de la aplicación, dejando vivos a los ubicados en los agostaderos (Lozano y España, 2006). Una de las alternativas al control químico para el manejo de *B. magna*, es la integración del control biológico. A la fecha, se ha reportado una gran diversidad de enemigos naturales de *B. magna*, tales como *Calosoma* sp. (Coleoptera: Carabidae) depredadoras de ninfas, *Polistes* sp. (Hymenoptera: Vespidae), larvas de *Sarcophaga* sp. (Diptera: Sarcophagidae) (Lozano y España, 2006), destacando el uso de entomopatógenos tales como bacterias, protozoarios, nematodos, hongos, entre otros (Mena, 2009), siendo los hongos, agentes potenciales para el control de *B. magna*, que han mostrado resultados satisfactorios en otros ortópteros plaga (Uribe-Santiago, 2012). Debido a lo anterior, el objetivo del estudio fue aislar y evaluar la efectividad de cepas de hongos entomopatógenos contra adultos de *B. magna* bajo condiciones de campo.

Materiales y métodos

Los hongos entomopatógenos fueron aislados de suelos de diferentes cultivos y regiones geográficas, mediante la técnica del insecto trampa, usando larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Las cuales fueron obtenidas de una colonia mantenida en laboratorio a 25 ± 2 °C. En cada muestra de suelo, se colocaron 100 larvas en contenedores plásticos rectangulares y sellados, e incubados por 7 d a 28 °C con 90 ± 5% de humedad relativa (HR). Las larvas micosadas fueron transferidas individualmente a cajas de Petri con una pieza de algodón humedecido y sellado con Parafilm, e incubados a 28 °C en una cámara de crecimiento ambiental (Precisión Scientific, modelo 6LM). Los hongos entomopatógenos fueron purificados, mantenidos e incrementados en Papa-Dextrosa-Agar (PDA), e identificados a nivel de género de acuerdo con sus características micro y macroscópicas, usando un microscopio Carl Zeiss (Barnett and Hunter 1972; Humber 1997; Dugan 2006) y corroborados molecularmente.

Para el incremento del inóculo se utilizó un medio mínimo de sales (solución acuosa de sacarosa 1 %, sulfato de magnesio 0.02 %, sulfato de manganeso 0.02 %, fosfato de potasio dibásico 0.02 % y extracto de levadura 0.5 %). Tomando 200 mL que se colocaron en matraces con los diferentes aislados obtenidos. Se incubaron en agitación a (140 rpm) utilizando un agitador orbital Labnet International Inc, Orbit 1900, durante 3 d a una temperatura de 28 °C. Por otra parte, se esterilizó arroz cocido, se colocó en charolas plásticas y se inoculó con la suspensión de esporas de los hongos entomopatógenos, se incubaron por 7 d a 28 °C. Una vez esporulado el hongo, se procedió a licuarlo con agua destilada estéril, se estimó la concentración de conidias con un hemacitómetro (Neubauer Improved, Marienfeld, Alemania), y se almacenó a 0 °C.

La evaluación de la efectividad biológica de los hongos se realizó en la localidad “Ejido Nuevo



Zaragoza”, Municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua (28° 41' 1.80" N; 106° 47' 55.84" O), para lo cual previamente se acondicionaron 10 trampas (jaulas) de 50 m² cada una, cubiertas lateralmente con tela de organza para evitar la salida de los chapulines. Dentro de las cuales se realizaron las aspersiones de manera independiente de las diferentes suspensiones de hongos entomopatógenos sobre chapulines adultos a razón de 2 L de la suspensión de entomopatógenos en 400 L de agua por hectárea a una concentración de 5.5×10^{10} , adicionada con 2 mL del surfactante comercial BreakThruTM, con un aspersor motorizado Swismex.

Posterior a la aplicación, se recolectaron 150 chapulines por cada uno de los tratamientos, los cuales se colocaron individualmente en bolsas de plástico de 12x10 cm y se trasladaron al laboratorio de Fisiología de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico del CIAD, Unidad Cuauhtémoc, donde fueron alimentados con trozos de manzana cada tercer día e incubados en una cámara ambiental a 28 °C y revisadas cada 24 h para el registro de la mortalidad y presencia de micosis.

El diseño experimental fue completamente al azar, consistiendo de 20 tratamientos (aislados de hongos entomopatógenos) y un testigo, donde para cada tratamiento se recolectaron 150 chapulines. A los resultados de mortalidad se les aplicó un ANVA y una prueba de separación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados y discusión

A los nueve días post-aplicación de los hongos, todos los aislados provocaron más del 50 % de mortalidad en adultos; estos resultados se asemejan a los encontrados por Lednev *et al.* (2008), quienes reportaron mortalidad al cuarto o quinto día post-inoculación con *Metarhizium anisopliae* bajo condiciones *in vitro*, y para el noveno y onceavo día post-inoculación se presentó el 50 % de mortalidad en las ninfas. Scanlan *et al.* (2001) reportan que la temperatura juega un papel fundamental en la velocidad de crecimiento del hongo sobre el insecto, y por lo tanto en causarle la muerte, la cual a 30-35 °C se puede alcanzar en un periodo de 7 d, mientras que a 20 °C se logra en hasta 3 semanas. Así mismo, Delgado *et al.* (1999) mencionan que es posible que los efectos del control de *B. magna* con *Beauveria bassiana* se continúan observando a los 14 d post-aplicación. Entz *et al.* (2008), reportan el 83.2 % de esporulación una semana después de la muerte de ninfas de ortópteros, lo que indica una alta velocidad de esporulación, y por lo tanto una alta capacidad de diseminación de esporas y de causar infecciones secundarias en la población de insectos.

Kaaya y Hassan (2000) mencionan que *M. anisopliae* presenta una mayor actividad patogénica cuando la HR se encuentra entre 60 y 70 %. Por su parte, Inglis *et al.* (1996) demostraron que la micosis en chapulines por *B. bassiana* se inhibe notablemente cuando los insectos se exponen a una temperatura mayor a los 35 °C por más de 6 h durante el día, lo cual puede limitar su efectividad de control en campo; en otro estudio realizado por Inglis *et al.* (1999) se evaluaron a *M. flavoviride* y a *B. bassiana* bajo condiciones de campo, reportando que *M. flavoviride* presenta una mayor capacidad para infectar chapulines en un rango de temperaturas más amplio (10-40



°C), las cuales son semejantes a las temperaturas propias de campo. Por otra parte, también se ha encontrado que la temperatura óptima para la producción de conidias es de 25 °C difiere de la óptima para el crecimiento de hifas 28 °C en aislados de *M. flavoviride* (Thomas y Jenkins, 1997).

Al día nueve post-aplicación, los aislados CIAD 13, 4, 10, 3 y 8 de *M. anisopliae* mostraron los porcentajes más altos de mortalidad con micelio abundante, con valores de 47, 34, 32.7, 26 y 22 % de la población. Mientras que los aislados CIAD 7, 15, 12, 11 y 6, mostraron una alta mortalidad con valores de 98, 96.7, 96, 100 y 99 % respectivamente (Fig. 1). Los chapulines testigo murieron a los 12 d post-aplicación. Scanlan *et al.* (2001) mostraron un control del 90 % de la población de chapulines mediante la aplicación de una suspensión de 5×10^{12} esporas/ha en suelos con vegetación densa. Estos valores de mortalidad son muy superiores a los encontrados por Delgado *et al.* (1999), quienes encontraron una reducción de 38.1 % de una población compleja de chapulines a los 14 d post-aplicación de *B. bassiana* en campo. Cabe señalar que la alta HR a la que se mantuvieron los insectos después de la aplicación pudo haber inhibido la producción de micelio en los cadáveres al promover el desarrollo de bacterias, dado que los chapulines provenían de campo.

Agradecimientos

A Fundación PRODUCE Chihuahua, A.C., por el financiamiento del proyecto “Caracterización y manejo del chapulín gordinflón *Brachystola magna* Girard (Orthoptera: Romaleidae) en el cultivo del frijol, con énfasis en el control microbioal, en el municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua”, con número de registro 499. Al Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Chihuahua (CESAVECH), a la Junta Local de Sanidad Vegetal Papigochi y Las Chepas.

Literatura citada

- CESAVECH. 2013. Campaña contra el chapulín. Citado en julio de 2014. [Disponible en línea] <http://www.cesavech.net/#!/chapuln/c138b>.
- Delgado, F.X., J.H. Britton, J.A. Onsager y W. Swearingen. 1999. Field assessment of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and potential synergism with Difluzenzuron for control of Savanna Grasshopper complex (Orthoptera) in mali. *Journal of invertebrate Pathology* 73: 34-39.
- Eades, D.C., D. Otte, M.M. Cigliano & H. Braun. 2011. *Orthoptera Species File Online*. Version 2.0/4.0. Disponible en: <http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx> consultado el 22-2-2011.
- Entz, S.C., L.M. Kawchuk y D.L. Johnson. 2008. Discovery of a North American genetic variant of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* pathogenic to grasshoppers. *BioControl* 53:327-339.
- Inglis, G.D., D.L. Johnson y M.S. Goettel. 1996. Effects of temperature and thermoregulation on mycosis by *Beauveria bassiana* in grasshoppers. *Biological Control* 7:131-139.
- Inglis, G.D., Grant M. Duke, L.M. Kawchuk y M.S. Goettel. 1999. Influence of Oscillating Temperatures on the competitive infection and colonization of the migratory grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. *Biological Control* 14:111-120.
- INIFAP 2000. Importancia, biología y control del chapulín frijolero. Citado en julio de 2014. [Disponible en línea] <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/2494/Importancia,%20biologia%20y%20control%20del%20chapulin%20frijolero.pdf?sequence=1>.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Kaaya, G.P. y S. Hassan. 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Exp. Appl. Acarol.* 24:913-926.
- Lagunes, T.A., J.C.M. Rodríguez, y D.S. Mota. 1994. Combate químico de plagas agrícolas en México. Colegio de Posgraduados, 136.
- Lednev, G.R., Kryukov V.Yu., Khodyrev, Levchenko M.A., Duisembekov B.A., Sagitov A.O. y Glupov V.V. 2008. Dynamics of Mortality of the Migratory Locust under Synchronous Infection with Entomopathogenic Fungi (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*) and Bacteria *Pseudomonas* sp. *Contemporary Problems of Ecology* 1(2):210-213.
- Lozano-Gutiérrez J. y España Luna M.P. 2006. Enemigos naturales y control biológico de *Brachystola magna* (Girard) y *B. mexicana* (Bruner) (Orthoptera: Romaleidae). *Vedalia*, 91-96.
- Mena-Covarrubias, J. 2009. Control biológico del chapulín *Brachystola* spp. (Orthoptera: Acrididae) con el uso del protozoario *Nosema locustae* Canning (Microsporidia: Nosematidae) en Zacatecas, México, *Vedalia*. 13(2): 97-106.
- Moris R. F. 1981. Note on the occurrence of the lubber grasshopper, *Brachystola magna* (Orthoptera: Romaleidae), in new foundland. *Can. Ent.* 113: 659-660.
- Pfadt, R.E. 2002. A field guide to common western grasshoppers. 3rd edition Wyoming Agricultural Experiment Station. Bulletin 912. 288 pp.
- Pfadt, R. 1994. Field Guide to Common Western Grasshoppers. Wyoming Agric. Exp. Stn. Bull. 912. 198 pp.
- Scanlan, J.C., W.E. Grant, D.M. Hunter y R.J. Milner. 2001. Habitat and environmental factors influencing the control of migratory locusts (*Locusta migratoria*) with an entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*). *Ecological Modelling* 136:223-236.
- SIAP-SAGARPA. 2013a. Producción agrícola por cultivo. Citado en julio de 2014. [Disponible en línea] <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>.
- SIAP-SAGARPA. 2013b. Producción agrícola por Estado. Citado en julio de 2014. [Disponible en línea] <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Thomas, M.B. y N.E. Jenkins. 1997. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. *Mycol. Res.* 101 (12):1469-1474.
- Uribe-González E.; Santiago-Basilio M. Á. 2012. Contribución al conocimiento de enemigos naturales del chapulín (Orthoptera: Acridoidea) en el estado de Querétaro, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 28 (1): 133-144.

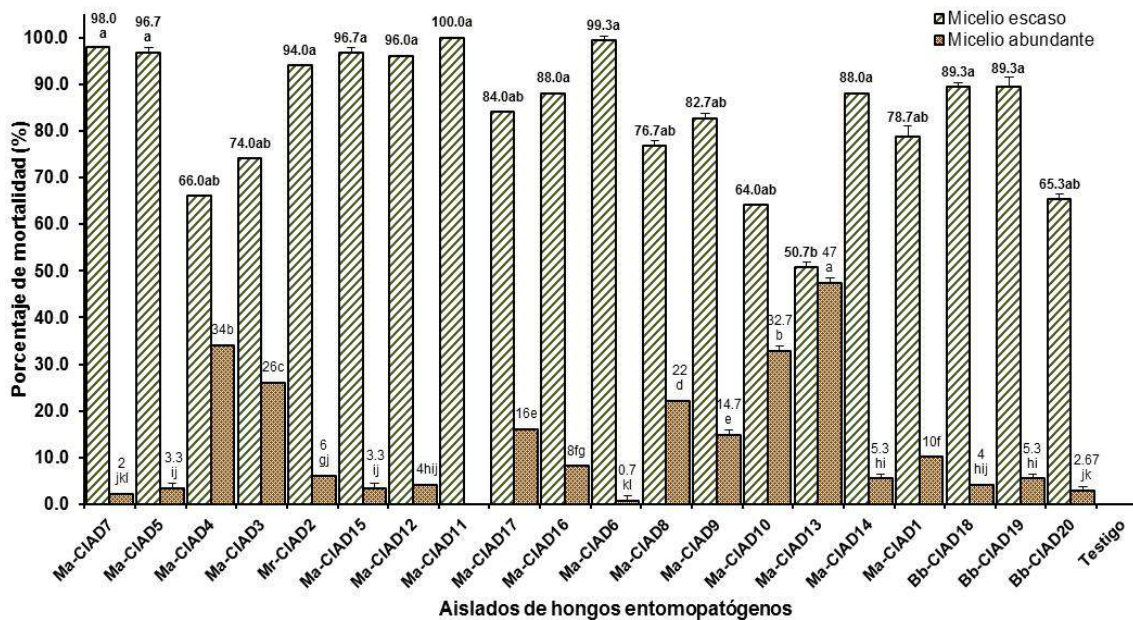


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Brachystola magna* tratados con hongos entomopatógenos al día 9 post-aplicación en campo. Nota: Los chapulines del testigo murieron el día 12 de post-aplicación. Concentración usada: 5.5×10^{10} Conidias/ha



COMPATIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Cordyceps* sp. (ORDEN: Hypocreales, FAMILIA: *Cordycipitae*). Y EL INSECTICIDA IMIDACLOPRID

Delgado-Quintanar Edna Patricia¹, Rivera-Orduño Benjamín¹, Villa-Martínez Karmen Itzol¹, González-Loc Mariano². ¹Universidad de Sonora, Unidad Regional Norte, Campus Caborca. Ave. Universidad e Irigoyen s/n. Col. Eleazar Ortiz. C.P. 83621. H. Caborca, Sonora, México. ²Gowan Mexicana. benrivord@hotmail.com.

Resumen. El objetivo del presente trabajo fue determinar la compatibilidad del insecticida imidacloprid con el hongo entomopatógeno *Cordyceps* sp. parásito de ninfas de chicharra cantadora, considerada la plaga más importante del cultivo del espárrago en la región agrícola de Caborca, Sonora, México. El estudio se realizó sobre un lote comercial en donde se consideraron los tratamientos T1: *Cordyceps* sp. mas imidacloprid, T2: imidacloprid y T3: testigo. En el lote donde se aplicó el T1, se había establecido el entomopatógeno a partir de cultivos artificiales desde 4 años antes. En cuanto al insecticida, durante dos años consecutivos se efectuaron 3 aplicaciones en los meses de mayo, junio y julio empleando dosis de $\frac{1}{2}$ kg ha⁻¹. Las variables consideradas fueron exuvias y orificios de salida las cuales se midieron sobre dos metros lineales en cinco hileras y cuatro sitios por hilera para cada tratamiento. Se realizaron en total cuatro muestreos y los datos fueron sometidos a un análisis de varianza encontrándose que la aplicación del insecticida no afecto la actividad del hongo entomopatógeno por lo que imidacloprid podría ser considerado como una opción para un programa de manejo integrado contra chicharra cantadora.

Palabras clave: *Cordyceps*, imidacloprid, chicharra cantadora, espárrago.

Introducción

La chicharra cantadora *Dicerprocta* spp. es un insecto que se reporta como plaga del espárrago en la región agrícola de Caborca, Sonora, desde 1998. Durante su ciclo de vida de 2 años, el insecto causa daños al cultivo de diferentes maneras: la ninfa se alimenta de las raíces de la planta, los adultos se alimentan del follaje y la hembra oviposita en las ramas provocando su marchitamiento y caída (Sámano, 1993).

Los hongos son uno de los patógenos más comunes que causan enfermedades en insectos en el campo. Además, epidemias causadas por hongos bajo condiciones favorables, con frecuencia conllevan a epizootias espectaculares que disminuyen las poblaciones de insectos específicos en grandes áreas (Nicholls, 2008). Se destaca que los primeros hongos entomopatógenos conocidos fueron especies del género *Cordyceps*. Este género está registrado como entomopatógeno en especies de varios órdenes de insectos, principalmente en Himenóptera, Hemíptera, Díptera, Lepidóptera y Coleóptera (Sánchez *et al.*, 2002) y ha sido reportado parasitando ninfas de chicharra cantadora, plaga del espárrago, desde el año de 1998 en la región agrícola de Caborca, Son. (Sotelo, 2003).



Por otra parte, una amplia gama de insecticidas químicos han sido probados en la región agrícola de Caborca, Sonora, en un intento por mantener a la plaga en niveles que no causen pérdidas económicas al cultivo. Trabajos realizados por Delgado *et al.* (2012), señalan que el insecticida imidacloprid, reduce las poblaciones de ninfas en el suelo, así como también la cantidad de oviposturas y adultos en la parte aérea de la planta.

En muchos casos el control biológico por sí solo no provee una suspensión económicamente aceptable de una plaga en los sistemas agrícolas. Por ello, es deseable que este método de control sea desarrollado e implementado como un componente más del Manejo Integrado de Plagas (MIP) junto con el control químico y otros métodos. Para maximizar el efecto del control biológico es esencial conocer los riesgos, selectividad y las condiciones de uso de los insecticidas químicos, cuando ambos son empleados como herramientas dentro de un sistema de manejo integrado de plagas. El objetivo del presente estudio fue determinar si existía compatibilidad entre el insecticida imidacloprid y el hongo entomopatógeno *Cordyceps* sp.

Materiales y métodos

A partir del aislamiento y reproducción en el laboratorio de *Cordyceps* sp. (Sotelo, 2003), y la comprobación de su patogenicidad sobre ninfas de chicharra cantadora, se ha trabajado en su reproducción, introducción y establecimiento en suelos cultivados con espárrago en donde se tiene la presencia de la plaga. En el campo San Faustino, lugar en donde se realizó el presente estudio, el hongo entomopatógeno cultivado en el laboratorio, fue introducido en 2008. En ese año se realizaron 3 aplicaciones del hongo durante los meses de septiembre, octubre y noviembre empleando una concentración promedio de 8×10^6 con/mL sobre una superficie de $\frac{1}{2}$ ha (Lote 1).

En abril del 2009, los muestreos efectuados en el lote 1, indicaron la presencia del hongo entomopatógeno al observarse ninfas de chicharra parasitadas. En ese mismo año, se llevaron a cabo otras tres aplicaciones de *Cordyceps* sp. en los meses de mayo, junio y julio. A pesar de que el hongo no se volvió a aplicar después de este año, en los muestreos realizados durante el 2010 y 2011, se registraron valores de 50 a 80% de parasitismo de las ninfas recuperadas. Para este estudio, en 2011 el lote 1 fue utilizado para aplicar el T1, que consistió en la aplicación del insecticida imidacloprid teniendo en el mismo lote la presencia del hongo. En el lote 2, se aplicó solo imidacloprid (T2) y el lote 3 se consideró como testigo absoluto; los tres lotes tenían una superficie de $\frac{1}{2}$ ha. La dosis de imidacloprid utilizada en los lotes 1 y 2 fue de $\frac{1}{2}$ kg ha⁻¹ efectuándose una aplicación mensual en mayo, junio y julio. El mismo programa de aplicaciones fue repetido en el año 2012 pero no volvió a aplicar en el 2013. Tanto las aplicaciones del entomopatógeno como las del insecticida, fueron realizadas a través del sistema de riego por goteo.

Tomando en cuenta que el ciclo de vida de *Diceroprocta* sp. es de dos años, con el propósito de determinar el efecto que las aplicaciones de imidacloprid habían tenido sobre el entomopatógeno *Cordyceps* sp, durante el verano del 2013 se realizaron cuatro muestreos considerando la variables, exuvias y orificios de salida. El muestreo de exuvias se realizó sobre cinco hileras por



tratamiento, las cuales fueron seleccionadas de manera aleatoria y se registró el número de exuvias observadas sobre las plantas de dos m lineales por sitio, tomando cuatro sitios por hilera. De manera similar se muestreo la cantidad de orificios de salida, pero eliminando de la selección, las hileras tomadas para el muestreo de exuvias. Los datos recopilados fueron comparados por fecha de muestreo, mediante un análisis de varianza con tres tratamientos y cinco repeticiones y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 5%. Además del muestreo de exuvias y orificios de salida, en el lote 1 se realizó un muestreo de suelo para cuantificar las ninfas parasitadas por el hongo.

Resultados y discusión

En todos los muestreos que se hicieron, los resultados favorecieron lote 1 en donde además de la aplicación del insecticida imidacloprid, estaba establecido el hongo entomopatógeno *Cordyceps* sp. Los promedios finales de exuvias por tratamiento considerando los 4 muestreos realizados fueron 1, 6 y 85 exuvias para el tratamiento de *Cordyceps* mas imidacloprid (T1), solo imidacloprid (T2) y testigo (T3) respectivamente. Esto significa que el tratamiento 2 tuvo un promedio final cinco veces superior al del tratamiento T1 pero sin llegar a ser estadísticamente diferentes. Por el contrario, el promedio de exuvias en el tratamiento T3 superó al T2 13.5 veces y 84 veces a T1 (Fig. 1).

En cuanto a los orificios de salida, los promedios finales por tratamiento fueron 26, 86 y 219 para T1, T2 y T3 respectivamente (Fig. 2). De acuerdo a esto, la cantidad de insectos emergidos del lote 1 estuvo en proporción de 1 a 9 respecto al lote 3 y entre el lote donde se aplicó imidacloprid (lote 2) y el testigo fue de 1 a 3. Respecto al muestreo de ninfas en el lote 1 se encontró un porcentaje de parasitismo por *Cordyceps* sp. del 71%, lo que significa que el empleo del insecticida no tuvo efecto negativo sobre este entomopatógeno. Lo anterior concuerda con lo reportado por *Castellanos et al.* (2013), quien concluyó que imidacloprid no produjo afectación sobre *Lecanicillium lecanii*, patógeno de áfidos y moscas blancas.

Otras investigaciones para determinar la compatibilidad de plaguicidas con hongos entomopatógenos son las realizadas por *Vázquez et al.* (2004, 2006) quienes encontraron que *in vitro*, los insecticidas fenoxicarb y triflumuron no afectaron la germinación de conidios de 3 cepas de *Beauveria bassiana* ni su crecimiento micelial aunque reportaron diferencias en la respuesta de las cepas. Por otra parte, *Castellanos et al.* (2013), evaluaron la compatibilidad de los plaguicidas dicofol, metamidofos, abamectina e imidacloprid, encontrando que solo los dos primeros fueron tóxicos cuando se aplicaron sobre *Lecanicillium lecanii*. Resultados opuestos fueron reportados por *Carzola y Morales* (2010), cuando evaluaron la compatibilidad *in vitro* de 13 aislamientos *Beauveria bassiana* con los insecticidas químicos malatión, fenitrotión, cipermetrina y deltametrina encontrando que las formulaciones ensayadas afectaron la germinación conidial y el porcentaje de germinación aunque con diferencias de acuerdo al aislamiento, el insecticida y la dosis. Según *Vázquez et al.* (2006), la inhibición de un hongo depende directamente de la concentración y características químicas de agente utilizado, por lo que es necesario evaluar los efectos que el producto químico pudiera tener sobre determinada



especie de hongo entomopatógeno para evitar la interrupción de su eficacia al incluirlos en los programas de manejo integrado de plagas.

Agradecimientos

A Fundación Produce Sonora, A.C., a la empresa Andares de Kino propietaria del campo San Faustino y a la empresa Gowan Mexicana por proporcionar el insecticida utilizado en este estudio.

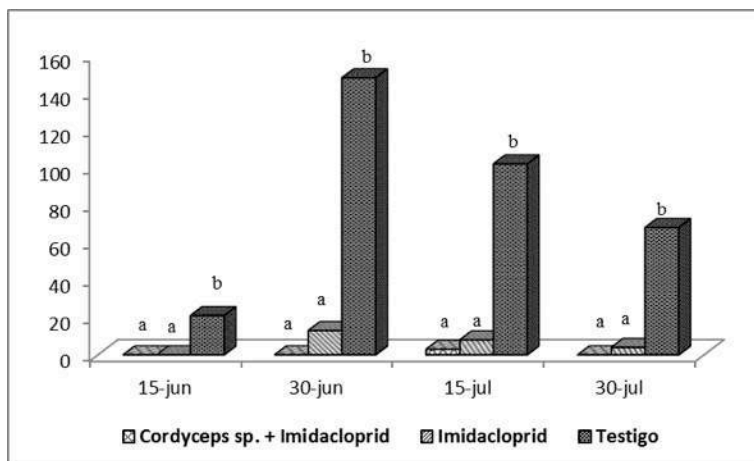


Fig. 1. Promedio de exuvias de chichara cantadora *Diceroprocta* spp. por tratamiento. Campo San Faustino. Región Agrícola de Caborca, Sonora, México. 2013.

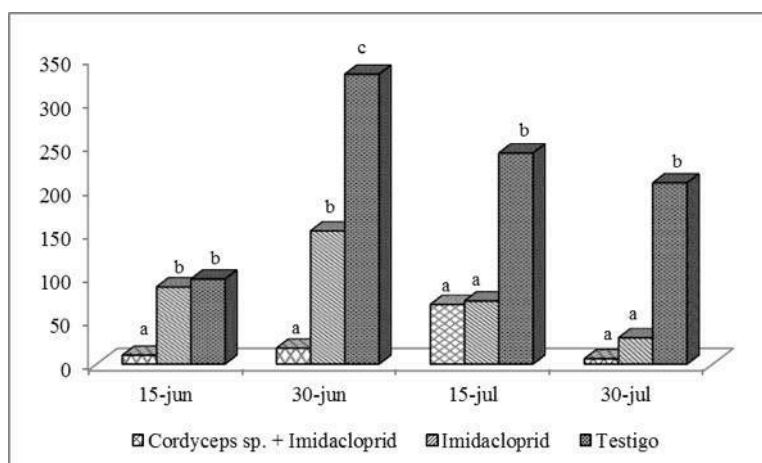


Fig. 2. Promedio de orificios de salida de chichara cantadora *Diceroprocta* spp. por tratamiento. Campo San Faustino. Región Agrícola de Caborca, Sonora, México. 2013.

Literatura citada

Carzola, D. y Morales Moreno, P. 2010. Compatibilidad de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana* patógenos para *Rhodnius prolixus* (Triatominae) con insecticidas químicos. Bol Mal Salud Amb. vol. 50, n. 2 [citado 2014-09-03], pp. 261-270. Disponible en: <http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482010000200010&lng=es&nrm=iso>



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Castellanos González, L., Lorenzo Nicao, M. E. y Muino, B. L. 2013. Compatibilidad de cuatro plaguicidas de diferentes grupos químicos con *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. Rev. Protección Veg. vol. 28, n. 3 [citado 2014-08-13], pp. 199-203. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-7522013000300006&lng=es&nrm=iso>
- Delgado Q. E.P., Rivera O. B., Arias T. B.E. y González L. M. 2012. Efecto del insecticida midacloprid en el control de chicharra cantadora (*Diceroprocta* spp.) en espárrago. Memorial del XV Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. UABC. Mexicali, B.C. pp 896-901.
- Nicholls Estrada, C. I. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Editorial Universidad de Antioquia, 2008. 129-132.
- Vásquez P. C. A., Saldarriga O. Y. and Pineda G. F. 2006. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* con fenoxicarb. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 78. 2006. (consultado el 13 de septiembre del 2014). Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1845E/A1845E.PDF>.
- Vásquez P. C. A., Saldarriga O. Y. and Pineda G. F. 2004. Compatibilidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con triflumuron. Rev. Colomb. Entomol, vol. 30, n.1 [cited 2014-08-13], pp. 23-27. Available from: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882004000100004&lng=en&nrm=iso>
- Sámamo, M. J. 1993. Principales plagas que se presentan en el cultivo del espárrago (*Asparagus officinalis* L.) y su control en la Región de Caborca, Sonora. Disertación de Licenciatura Universidad de Sonora. Departamento de Agricultura. Hermosillo, Son.
- Sánchez, P., Morillo, F., Caetano, F., Iturriaga, T., Guerra, J., Muñoz, W. 2002. Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. Entomotropica antes/formerly Boletín de Entomología Venezolana. Vol. 17(2): 191-195.
- Sotelo E., M.I. 2003. Aislamiento y patogenicidad de un hongo entomopatógeno nativo, sobre chicharra cantadora *Diceroprocta semicineta* D. en el cultivo del espárrago. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. División de Ciencias Administrativas Contables y Agropecuarias. Santa Ana, Son. 70 pp.



AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATOGENOS ENDÓFITOS DE CAÑA DE AZUCAR.

Ana Verónica Hernández-Cervantes¹, Karla Tatiana Murillo-Alonso², Víctor Manuel Hernández-Velázquez², Laura Patricia Lina-García², Guadalupe Peña-Chora³, Luis Gerardo Treviño Quintanilla¹. ¹Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Blvd. Cuahunahuac No. 566 Col. Lomas del Texcal Jiutepec, Morelos. C.P. 62550. ²Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), ³Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209. E-mail: HCAO113342@upemor.edu.mx, vmanuelh@uaem.mx

Resumen. Los endófitos son microorganismos (bacterias, hongos y/o actinomicetos) que habitan dentro de los tejidos de plantas en una asociación simbiótica. La planta huésped les confiere protección ambiental, estos microorganismos producen una amplia gama de compuestos útiles para el crecimiento de las plantas, promueven la fijación de nitrógeno, y algunas veces actúan como agentes de biocontrol, entre otros. Los hongos y bacterias entomopatógenas son importantes reguladores de las poblaciones de insectos plaga y se ha demostrado que algunos son endófitos, tanto de forma natural y en respuesta a diversos métodos de inoculación. En el presente trabajo se aislaron microorganismo endófitos de plantas de caña de azúcar en el estado de Morelos y se determinará si proporcionan algún beneficio para la planta, Se recolectaron tres plantas de caña en plantilla, soca y resoca, respectivamente; las plantas fueron extraídas desde la raíz y se segmentaron en cinco partes: hoja, tallo alto, tallo medio, tallo bajo y raíz; en laboratorio se tomó 5 cm para cada parte de la planta. Para el aislamiento se sanitizaron las muestras de manera independiente, posteriormente se cortó la cubierta de las muestras para eliminar tejido exterior. Para aislar hongos, se cortaron cinco fragmentos pequeños del material y se sembraron en una caja Petri con medio PDA y antibiótico, un total de 100 fragmentos por planta fueron utilizados para aislar endófitos, se incubaron a 25°C durante 7 días. Para aislar bacterias, se macero cada una de las muestras en 20 ml de agua destilada de cada muestra se realizan tres diluciones y se sembraron en cajas Petri en medio LB y antibiótico cada una, se incubaron a 28°C durante 3 días. Los resultados preliminares muestran la existencia de hongos y bacterias con características morfológicas similares a algunos microorganismos entomopatógenos, por lo tanto es necesario realizar bioensayos, postulados de Koch y estudios a nivel molecular para corroborar e identificación de la especie.



EVALUACIÓN DE ENTOMOPATOGENOS DE *Monoctenus sanchezi* SMITH IN VITRO: HYMENOPTERA: DIPRIONIDAE

Gabriel Gallegos-Morales¹ Salvador Ordaz-Silva², Sergio René Sánchez-Peña¹, Jerónimo Landeros-Flores¹, Ernesto Cerna-Chávez¹, Melchor Cepeda Siller¹ and Julio César Chacón-Hernández¹. ¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista, CP 25315, Saltillo, Coahuila. ²Facultad de ingeniería Y Negocios, Universidad Autónoma de Baja California, Km 180.2, Carretera Ensenada-San Quintín, Ejido Padre Kino. CP 22930, San Quintín Baja California, México. Correspondencia: ggalmor@yahoo.com.mx

Resumen. Las larvas moscas sierra tienen importancia económica debido a que atacan árboles forestales, principalmente coníferas y cupresáceas. Esta plaga se ha detectado en la Sierra de Alvares de San Luis Potosí particularmente infectada con hongos entomopatógenos del tipo *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y *Trichothecium* spp. Se planeó evaluar estos hongos en larvas nativas de *Monoctenus sanchezi* colectadas consumiendo hojas de cedro in situ en la sierra citada. Se observó que a las 144 horas después de la infestación de las larvas para el bioensayo, se presentaron los siguientes datos de mortalidad: *M. anisopliae* (T2), con 98.33 %, seguido por *B. bassiana* (T1) con 71.57 % y 40 % de *Trichothecium* sp. De los entomopatógenos recuperados de mosca sierra *M. anisopliae* presenta alta infectividad para larvas de esta plaga.

Introducción

El orden Hymenoptera es probablemente el más benéfico de todos los insectos debido a que contiene muchas especies de parasitoides y depredadores de insectos plaga, los mejores polinizadores de cultivos, etc. (Triplehorn and Johnson, 2005). Sin embargo y particularmente las larvas moscas sierra (Hymenoptera: Diprionidae) tienen importancia económica debido a que atacan árboles forestales, principalmente coníferas y cupresáceas (Baker, 1972). El género *Monoctenus* es un grupo pequeño, donde las larvas son plagas severas de *Juniperus* y *Thuja* principalmente en Norte América; mientras que las especies japonesas han sido reportadas sobre *Chamaecyparis* y *Cryptomeria* (Thogashi, 2001). En la actualidad se conocen trece especies de moscas sierra (Taeger *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2010).

B. bassiana and *M. anisopliae* son considerados como especies de hongos heterogéneos con diversos genotipos. Se ha observado que las especies tienen características diferenciales que aunque presentan una morfología similar tienen diferente rango de huéspedes. La selección de una raza o aislamiento debe tomar en cuenta la especie susceptible así como el estado de desarrollo del huésped. La patogenicidad, una habilidad cualitativa del patógeno para causar enfermedad, es determinada por factores relacionados con el huésped, la fisiología del hongo y el medio ambiente (Shapiro *et al.* 2005). Debido al poco conocimiento de las técnicas de control para este tipo de plagas el presente trabajo pretende evaluar aislados de hongos directamente de campo in vitro para su posterior uso como una alternativa de manejo integrado de la mosca sierra del cedro blanco.



Materiales y Métodos

Ubicación del trabajo

El presente estudio se realizó en terrenos de la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí (22° 12' 08.1'' LN, 100° 37' 45.9'' LO y 1820 msnm) y las cámaras bioclimáticas del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicada a 25° 21' 14'' LN, 101° 02' 03'' LO y 1750 msnm.

Colecta del material y aislamiento de hongos

Se colectaron larvas y adultos muertos de *Monoctenus sanchezi* con o sin presencia de hongos, las cuales fueron trasladadas al Departamento de Parasitología de la UAAAN, donde fueron colocadas en cámara húmeda para observar el crecimiento micelial y realizar el aislamiento del hongo en medio de cultivo PDA.

Realización de los bioensayos

Una vez obtenido cultivos puros de cada uno de tres entomopatógenos reportados se propagaron en cajas Petri con PDA por 5 a 7 días hasta esporulación completa a temperatura de laboratorio, para posteriormente recuperar las conidios en solución acuosa con tween 20 como coadyuvante al 0.5%. Las soluciones de los tres hongos obtenidos se ajustaron a una concentración de 1×10^6 conidios/mL. Una vez preparadas las mezclas por inmersión se introdujeron hojas de cedro blanco en cada tratamiento, posteriormente se colocaron las muestras sobre papel secante para eliminar el excedente de agua, enseguida las hojas se colocaron en cajas petri previamente preparadas con papel filtro en el fondo de la caja y en seguida se colocaron 10 larvas de *Monoctenus sanchezi* por cada caja, se realizaron 6 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron; *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (T2), *Trichothecium* sp (T3) y un Testigo absoluto (T4). Se realizaron conteos de mortalidad cada 24 horas y se hicieron anotaciones de lo observado. Los datos se analizaron usando un con base en un diseño completamente al azar (DCA) con interacciones entre tratamientos.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron aislamientos de hongos entomopatógenos de forma directa del crecimiento de micelio en larvas y adultos de *Monoctenus sanchezi* colectados en la Sierra de Alvares, SLP, México, los cuales se caracterizaron morfológicamente y molecularmente en dos especies y en un género como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Trichotesium* spp. Una cepas de cada especie de crecimiento rápido se evaluó en larvas colectadas directamente en arboles de cedro de la misma zona donde se presenta la plaga, para determinar su nivel de patogenicidad, encontrando que la mejor mortalidad se observó a las 144 horas después de la infestación de las larvas para el bioensayo, la mortalidad se presentó de la siguiente manera: *M. anisopliae* (T2), con 98.33 %, seguido por *B. bassiana* (T1) con 71.57 % y 40 % de *Trichothecium* sp., (T4),



mientras que el control mostró una mortalidad de 6.6 %. Por tal motivo, el mejor tratamiento para el control de *Monoctenus sanchezi* bajo condiciones de laboratorio es el género *Metarhizium* debido a que mató el mayor porcentaje de larvas de la plaga. El cuadro 1 se muestra que existe una diferencia altamente significativa ($P < 0.0001$), entre los tres tratamientos y el testigo, con un coeficiente de determinación (r^2) de 87.10 %. De igual manera entre tratamientos hubo diferencia altamente significativa, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey, ya que se pudo apreciar que el tratamiento dos, que corresponde a *Metarhizium anisopliae* fue el que dió mejores resultados con una media de 4.9 larvas muertas, la patogenicidad resulta ser favorable en comparación al testigo y a los demás tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comportamiento de la mortalidad de entomopatógenos de *Monoctenus sanchezi*

Tratamiento	No. Larvas	Media	Tukey (P=0.05)
T2(<i>M. anisopliae</i>)	36	4.9167	A
T1(<i>B. bassiana</i>)	36	3.5556	B
T3(<i>Trichothecium</i> sp)	36	1.8889	C
To (Testigo)	36	0.3333	D

También se pudo apreciar en los bioensayos que la manifestación de la mortalidad en las larvas del insecto fue muy evidente al manifestarse crecimiento micelial tanto de la cepa de *Metarhizium anisopliae* como de *Beauveria bassiana* sobre el dorso larvas de la mosca sierra, tal y como se aprecia en la Figura 1.



Figura 1.- Larvas infectadas de *Monoctenus sanchezi* por *Beauveria bassiana*.

Literatura citada

- Baker, W.L. 1972. Eastern forest insects. U.S. Dept. Agri. Misc. Pub/. II75. 642 pp
Comisión Nacional Forestal. 2010. Prácticas de reforestación. Manual básico. Editado por ILa CONAFOR, Zapopan, Jalisco, México



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Shapiro-Ilan D.I., Fuxa J.R., Lacey J.A., Onstad D.W. and Kaya Y.H.K. 2005. Definitions of Pathogenicity and Virulence in Invertebrate Pathology. *J. of Invertebrate Pathology*, 88(1): 1-7
- Smith R. D.; G. Sánchez, M.; and Ordaz, S. S. 2010. A new *Monoctenus* (Hymenoptera: Diprionidae) damaging *Juniperus flaccida* (Cupressaceae) in San Luis Potosí, México. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 112: 444 - 450.
- Taeger, A., E. Altenhofer, S. M. Blank, E. Jansen, M. Kraus, H. Pschorn-Walcher, and C. Ritzau. 1998. Kommentare zur Biologie, Verbreitung und Gefährdung der Pflanzenwespen Deutschlands (Hymenoptera: Symphyta), pp. 49–135. In A. Taeger and S. M. Blank, eds. *Pflanzenwespen Deutschlands (Hymenoptera: Symphyta). Kommentierte Bestandsaufnahme*. Goecke & Evers, Keltern.
- Togashi, I. 2001. The conifer sawfly genus *Monoctenus* (Hymenoptera: Diprionidae) in Japan. *Japanese Journal of Systematic Entomology* 7(1): 41–46.
- Triplehorn, Ch. A and Johnson, 2005, N. F. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. Seventh edition Köeppen, 1948



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* EN LA CUENCA DEL PAPALOAPAN

Alain Cruz-Nolasco, A. Karin Navarro-Mtz. Universidad del Papaloapan, Av. Circuito Central No. 200, Tuxtepec, Oaxaca. C.P. 68300. alandurst13@hotmail.com, anavarro@unpa.edu.mx

Resumen. *Bacillus thuringiensis* es una bacteria cosmopolita, Gram positiva, aerobia, formadora de esporas y productora de la proteína Cry de diferentes pesos moleculares. La proteína Cry se utiliza como insecticida en campos agrícolas por su alta toxicidad en contra de insectos de diferentes órdenes. En el presente trabajo se identificaron 23 aislados de *B. thuringiensis* a partir de suelos cultivados con caña, café, plátano y no cultivados en la región oaxaqueña de la cuenca del Papaloapan. Los aislados se compararon macro y microscópicamente con una cepa conocida (*B. thuringiensis* HD-73). Por medio de tinciones diferenciales se verificó que fueran Gram positivas y formadoras de esporas, además por SDS-PAGE se comprobó que produjeran inclusiones proteicas parasporales de entre 60 y 130 kDa. Posteriormente se realizaron estudios filogenéticos con el software MEGA 6.0 comparando el marcador molecular evolutivo 16S ARNr con los de cepas de *B. thuringiensis* reportadas en las bases de datos de todo el mundo. Con base en el escrutinio morfológico, a la producción de proteínas insolubles al final del cultivo y al análisis filogenético, se identificaron como *B. thuringiensis* a 2 aislados de suelo no cultivado, 2 aislados de suelo de plátano y 19 aislados de suelo de caña.

Palabras clave: *B. thuringiensis*, proteína Cry, filogenia, 16S ARNr.

Introducción

Bacillus thuringiensis (*B. thuringiensis*) se caracteriza por la formación de un cristal proteico de diferentes pesos moleculares, en el momento de la esporulación (Schnepf *et al.*, 1998). Este cristal está compuesto por proteínas tóxicas contra insectos de los órdenes Lepidóptera, Díptera y Coleóptera (Hofte y Whiteley, 1989). *B. thuringiensis* es un miembro del grupo de *Bacillus cereus*, el cual también incluye a *B. anthracis*. *B. thuringiensis* está tan genéticamente relacionado a *B. cereus*, que es distinguible solamente por la presencia de las inclusiones parasporales proteicas durante su esporulación (Rowe y Margaritis, 1987), estas inclusiones parasporales tienen diferentes pesos moleculares, son insolubles y se denominan proteína Cry debido a que forman cristales.

Debido a la importancia comercial de *B. thuringiensis*, continuamente se busca aislar nuevas cepas en distintas partes del mundo con la finalidad que produzcan nuevas proteínas Cry con mayor potencia insecticida o un espectro de huéspedes más amplio que las actuales (Armengol *et al.*, 2007; van Frankenhuyzen, 1993).

Bacillus thuringiensis es una bacteria cosmopolita que se puede aislar de suelo, hojas, insectos muertos, etc. Esta característica ha generado la constante búsqueda de nuevas cepas productoras de proteínas Cry para usarse en el control biológico de plagas. Por lo tanto, nuestro objetivo fue



obtener aislados de *B. thuringiensis* de suelos de la región del Papaloapan productoras de proteínas Cry.

Materiales y Métodos

Se realizó un muestreo al azar en suelos no cultivados y cultivados con caña de azúcar, café y plátano en la región de la cuenca del Papaloapan. Se tomó 1 g de muestra de suelo a una profundidad de 15 cm, estas muestras se refrigeraron a 5°C por 24 h. Se realizaron diluciones seriales a las muestras de suelo hasta 1×10^{-3} con agua estéril, posteriormente se sembraron por vaciado en placas con agar nutritivo y se incubaron por 24 h a 30°C. Se compararon macroscópicamente las colonias de los aislados con la cepa *B. thuringiensis* HD-73 y se seleccionaron las más parecidas morfológicamente. Mediante tinciones diferenciales de Gram y Schaeffer & Fulton se comprobó que los aislados fueran Gram positivos y productoras de esporas respectivamente. Por medio de SDS-PAGE al 7% se verificó la presencia de proteínas insolubles de entre 60 y 130 kDa al final del cultivo. A los aislados seleccionados se les extrajo su ADN genómico con el kit comercial Ultraclean™ Microbial DNA Isolation Kit. Posteriormente se amplificó el gen conservado en bacterias 16S ARNr mediante PCR usando los primers fD1 y rD1 diseñados por Weisburg (1991). La polimerasa utilizada para la PCR fue *DreamTaq Green PCR Master Mix* de *Thermo Scientific*, las concentraciones de la mezcla utilizada y las condiciones fueron las especificadas por el fabricante. El producto de PCR fue purificado con el kit comercial *Thermo Scientific GeneJET PCR Purification Kit* #K0701, #K0702 y se mandaron a secuenciar a la compañía biotecnológica MacroGen Korea Inc. bajo el servicio *16S rRNA Full Sequencing*. Las secuencias recibidas fueron procesadas con el software MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) para hacer alineamientos CLUSTALW con secuencias conocidas de microorganismos pertenecientes al grupo de *B. cereus* y de distintas variedades de *B. thuringiensis* previamente obtenidas de bases datos de libre acceso como IMG (*Integrated Microbial Genome*) <http://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/edu/main.cgi> y NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Con los multialineamientos se hizo la filogenia, para esto se utilizó el portal FIND MODEL para la elección del modelo de construcción de los árboles (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/findmodel/findmodel.html>). La construcción se realizó con el software MEGA y el modelo matricial Tamura Nei con los parámetros que el software ofreció por default. El resultado mostró información de manera visual de las relaciones genéticas entre los aislados seleccionados y las secuencias ya reportadas en las bases de datos.

Resultados y Discusión

Los resultados del escrutinio macroscópico, microscópico y la presencia de inclusiones parasporales se muestran en la tabla 1.



Tabla 1. Selección de aislados con base en las etapas del escrutinio de *B. thuringiensis* de cada muestra colectada

Suelo	Número de aislados seleccionados por etapa		
	Morfología Macroscópica	Gram (+) y Esporulación	Síntesis de Proteínas de 60-130 kDa
No cultivado	2	2	2
Plátano	6	4	4
Café	5	3	3
Caña	52	36	32

En total, se seleccionaron 41 aislados para ser identificados mediante biología molecular. Cabe mencionar que es necesario tomar la muestra para la tinción de Gram durante el crecimiento vegetativo o de lo contrario puede teñir como Gram negativo. Esto puede deberse a que la pared celular se debilita al iniciar el proceso de esporulación.

En la Tabla 2 se resumen los resultados del escrutinio molecular de los aislados seleccionados, así mismo se muestran los resultados de la identificación por filogenia de las mismas.

Tabla 2. Relación de aislados identificados como *B. thuringiensis* por medio de análisis filogenéticos.

Suelo	Aislados amplificados (16S ARNr)	Secuenciación positiva de Forward y Reverse	Identificación a nivel especie de <i>B. thuringiensis</i> por filogenia	spp
No cultivado	2	2	2	-
Plátano	4	4	2	2
Café	3	2	-	2
Caña	32	21	19	2

En la figura 1 se muestra gráficamente el resultado de la filogenia realizada para nuestros aislados con respecto a microorganismos del grupo de *B. cereus*. Gráficamente se pueden apreciar las similitudes entre *B. thuringiensis* y otros *Bacillus* del grupo *cereus*, así como con algunos de nuestros aislados. A los aislados que comparten identidad con una variedad de *B. thuringiensis* fueron identificados como parte de la misma especie. Por otro lado se puede observar que hay aislados que aparentemente no presentan el mismo nivel de filogenia con *B. thuringiensis*, a estos aislados no se les puede identificar como parte de la especie *thuringiensis*, por tal motivo se les denominó spp, sin embargo no se pueden descartar como *B. thuringiensis* ya que producen una proteína insoluble al final de su cultivo.

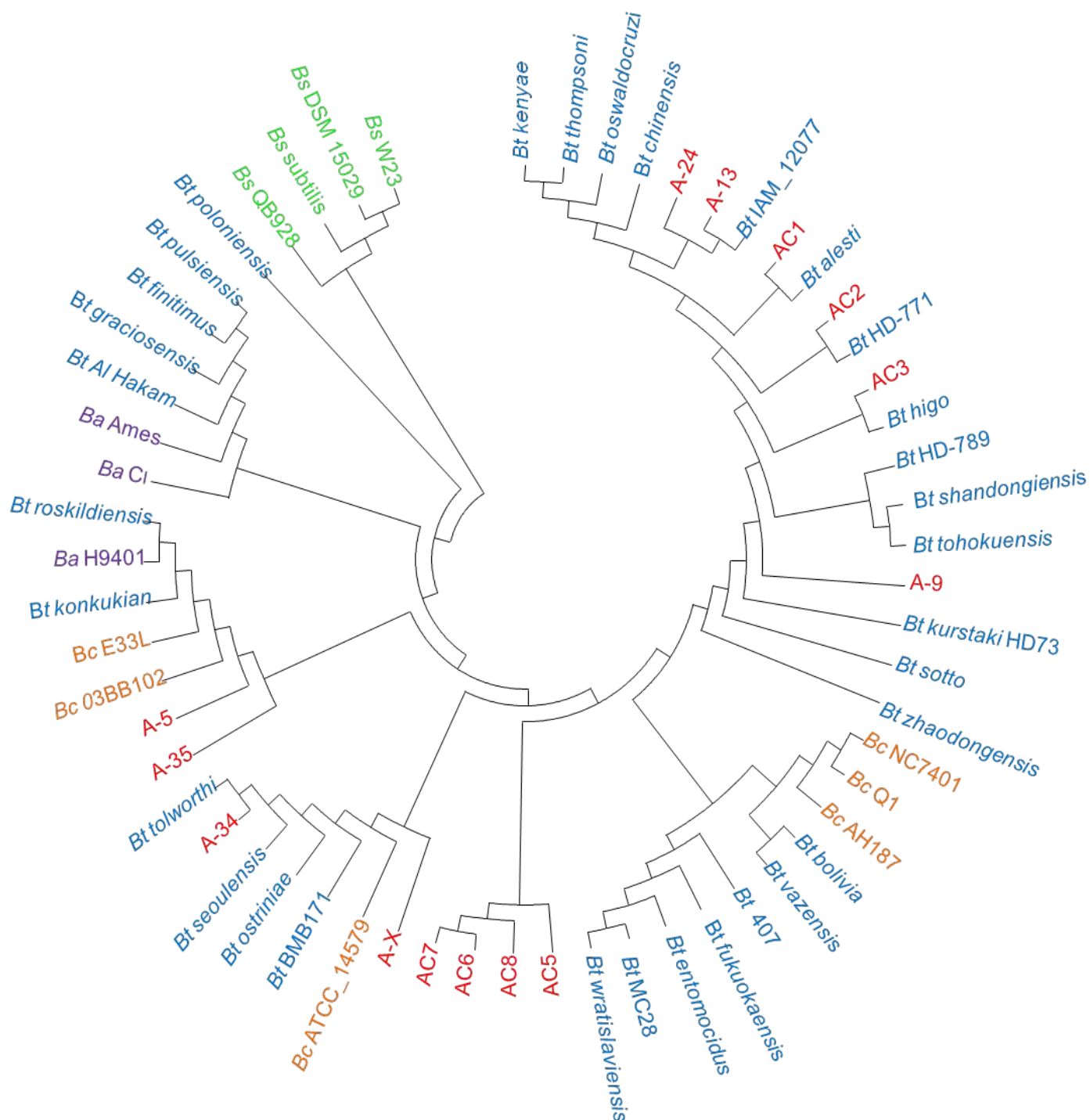


Figura 1. Árbol filogenético circular de aislados de la cuenca del Papaloapan con cepas de *B. thuringiensis* y otras variedades, utilizando como referencia las secuencias registradas en el GenBank y el IMG de la región 16S ARNr. Abreviaciones: *Bt*: *B. thuringiensis* (azul), *Bc*: *B. cereus* (naranja), *Ba*: *B. anthracis* (morado), *Bs*: *B. subtilis* (verde), aislados obtenidos en rojo.



El grupo de *Bacillus cereus* (*B. cereus*, *B. anthracis*, y *B. thuringiensis*) está muy relacionado genéticamente por lo que no basta la construcción filogenética, con base en la región 16S ARNr. Sin embargo, *B. thuringiensis* es el único del grupo de *B. cereus* que se puede diferenciar de los demás por la presencia de inclusiones parasporales insolubles al final de su ciclo de vida. Por lo tanto, para tener mayor certeza en la diferenciación de estas especies es necesario utilizar la amplificación de otros genes como el gen *rpoB*, que codifica para la sub-unidad β de la ARN polimerasa en bacterias y/o el gen *gyrB*, que codifica para la sub-unidad β de la ADN girasa.

Sin embargo la construcción de árboles filogenéticos utilizando como referencia la región conservada en bacterias 16S ARNr, es de gran ayuda para poder elucidar la especie dentro del grupo de *Bacillus cereus*, para dar un respaldo bioinformático a las pruebas morfológicas y fenotípicas realizadas previamente a los aislados problema y para la elección de genes para su identificación.

Agradecimientos. A PROMEP (Programa de Mejoramiento del Profesorado) por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto (103.5/10/0246).

Literatura Citada

- Armengol, G., Escobar, M., Maldonado, M., y Orduz, S. (2007) Diversity of Colombian strains of *Bacillus thuringiensis* with insecticidal activity against dipteran and lepidopteran insects. *J Appl Microbiol* 102:77-88.
- Höfte, H. y Whiteley, H. (1989) Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol Rev* 53:242-255.
- Rowe, G., y Margaritis, A. (1987) Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by *B. thuringiensis*. *CRC Crit Rev in Biotech* 6:87-127.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. y Dean, D. (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* 6:775-806.
- van Frankenhuyzen, K. (1993) The challenge of *Bacillus thuringiensis*. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. P. Entwistle, Ed. London, UK, John Wiley and Sons. 1-35.



HONGOS ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EN LABORATORIO

Arely Bautista-Gálvez, Francisco Javier Sánchez-Mendoza y Cesar Orlando Pozo-Santiago. Escuela Maya de Estudios Agropecuarios de la Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera Catazajá – Palenque, Chiapas. km 4.
*arelygalvez@hotmail.com

Introducción

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es el ectoparásito de mayor importancia económica dentro de la explotación pecuaria está ampliamente distribuida por todo el país (Ojeda *et al.*, 2011). Entre los efectos más importantes que producen las garrapatas al ganado bovino se encuentra la disminución en el consumo de alimento, pérdida de peso, anemias producidas por pérdida de sangre, irritación por picaduras y depreciación de las pieles (Soberanes *et al.*, 2002). En México la pérdida de peso de un bovino parasitado por garrapata del género (*Boophilus*) se calcula en 0.26 kg/garrapatas/año. La dinámica poblacional de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en la región de los Ríos del estado de Tabasco, se presenta durante todo el año. El control actual de la garrapata está fundamentado en la aplicación de acaricidas químicos dirigidos a la fase de vida parasitaria de la garrapata, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración letal del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en laboratorio.

Materiales y métodos

Este proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela Maya de Estudios Agropecuarios de la Universidad Autónoma de Chiapas, localizado en el kilómetro 4 carretera Catazajá – Palenque, Chiapas.

Establecimiento de línea base

Se prepararon cinco dosis diferentes de cada aislamiento en escala logarítmica, de 2685 ppm (ppm=mg/L) hasta 3050 ppm y dos testigos, uno con agua estéril y químico. Los aislamientos MM0801 y CD080 (Bautista *et al.*, 2012). Las dosis evaluadas fueron: 3.0×10^4 , 3.0×10^5 , 3.0×10^6 , 3.0×10^7 y 2.6×10^8 conidios/ml. Las garrapatas fueron colectadas en ranchos ganaderos de la región de los Ríos del estado de Tabasco. Se utilizaron 10 garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por cada tratamiento con 6 repeticiones cada uno, obteniendo así 420 garrapatas evaluadas en este estudio. Se realizó por inmersión las garrapatas durante 1 min solución de esporas. Se evaluó la mortalidad de garrapatas cada 24 horas después de la inoculación. Se contaron las garrapatas muertas y fueron puestas en cámara húmeda.

Resultados y discusión



Determinación de la CL_{50m} . Los resultados que se obtuvieron en la toma de datos del experimento de la virulencia de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* con el hongo *Metarhizium anisopliae* fueron analizados con Probit (IBM SPSS Products: statistics, 20.0.0.0.155, 2011) la determinación de la CL_{50} y CL_{90} fue calculada con una solución de 2.6×10^8 . La varianza de DL_{50} corresponde a un valor de 6.582×10^6 .

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* y esporulación de *Metarhizium anisopliae* con la cepa MM0801 a los 7 días después de la inoculación obteniendo la dosis diagnóstica de la CL_{50} .

Mortalidad (%)	Infección (%)	Tratamiento
60	30.45	6.48×10^6 <i>Metarhizium anisopliae</i>

Conclusiones

Metarhizium anisopliae infecta las poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus microplus* con el aislamiento MM0801 con una CL_{50} de 6.48×10^6 conidios/ml.

Literatura citada

- Ojeda, M.M., Rodríguez, R.I, Galindo, E. L. R. y Cruz, C. 2011. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae).
- Soberanes, C. N. Santamaría, V. M. Frangoso, S.H. y García, V. Z. 2002. Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. Técnica Pecuaria en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Pag. 82.
- Bautista G.A., Barrera JF., Payró C.E., Salgado G.S., Gomez R.J y Gomez.Leyva J.F. 2012. Genetic Characterisation of *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff Sorokin) Isolates from sugarcane fields and their Pathogenicity against *Aeneolamia postica* (Walker) (Hemiptera: Cercopidae). Universidad y Ciencia. 28 (3):217-229.



**OCURRENCIA NATURAL DE *Nomuraea rileyi* (FARLOW) SAMSON
(HYPOCREALES) INFECTANDO A *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN PARCELAS DE MAÍZ DE BACHINIVA,
CHIHUAHUA.**

Magali Ordóñez-García¹, Claudio Rios-Velasco², David I. Berlanga-Reyes², Carlos Horacio Acosta-Muñiz² y O. Jhonathan Cambero-Campos³. ¹Estudiante de Posgrado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Email: magali.ordonez@estudiantes.ciad.mx. ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Email: claudio.rios@ciad.mx. ³Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, C.P. 25315

Resumen. El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) es una plaga polífaga y cosmopolita que ocasiona grandes pérdidas económicas en diversos cultivos como maíz, sorgo, algodón, alfalfa, entre otros. Se considera la principal plaga en maíz, la cual puede reducir el rendimiento por encima del 30 %. Su control depende principalmente del uso de insecticidas químicos los cuales generan efectos adversos al medio ambiente y a la salud de los agricultores. Una alternativa viable al uso de estos productos es la integración del control biológico mediante el uso de entomopatógenos principalmente hongos, bacterias y virus, entre los que destaca *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Hypocreales). Este hongo se encuentra ampliamente distribuido, jugando un papel importante en la regulación de las poblaciones de lepidópteros, causando epizootias, particularmente en *S. frugiperda*. Dado lo anterior el objetivo del presente estudio fue estimar la presencia natural de *N. Rileyi* en larvas de *S. frugiperda*. Para tal fin, se realizó un muestreo de larvas de diferentes estadios de *S. frugiperda* en una parcela de maíz en el municipio de Bachiniva, Chihuahua, en el mes de Septiembre de 2014, donde se estimó el número de larvas infectadas por *N. rileyi*. Las larvas recolectadas fueron colocadas en recipientes de plástico de una onza con dieta artificial y transportadas al laboratorio de control biológico del CIAD, Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua donde se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio, diariamente se realizó el conteo de larvas infectadas hasta la pupación. Los datos de temperatura y precipitación fueron obtenidas de la estación meteorológica de UNIFRUT, la más próxima al sitio experimental. El micelio de las larvas micosadas fue montado en porta y cubreobjetos con azul de lactofenol y observadas bajo un microscopio para confirmar la presencia de *N. rileyi*. La temperatura promedio previo al muestreo fue de 18.6 °C y una precipitación de 164.8 mm. De las 697 larvas recolectadas, 169 (24.25%) presentaron micosis. El número de larvas infectadas y la micosis abundante, se debió posiblemente a las precipitaciones registradas previo al muestreo.

Palabras clave: Gusano cogollero, entomopatógeno, hongo, epizootia, micosis



AISLAMIENTO DE NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS DE CAÑA DE AZÚCAR DEL ESTADO DE MORELOS Y DETERMINACIÓN DE VIRULENCIA SOBRE *Diatraea magnifactella*.

Iveth del Rocío Castro-Ortega¹, Víctor Manuel Hernández-Velázquez^{1*}, Laura Patricia Lina-García¹, Guadalupe Peña-Chora² y Juan Manuel Caspeta-Mandujano³. ¹Laboratorio de Control Biológico, Centro de Investigación en Biotecnología. ²Laboratorio de Parasitología Vegetal, Centro de Investigaciones Biológicas. ³Laboratorio de Ictiología, Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62209. Cuernavaca Morelos mg.mahatma@hotmail.es

Resumen. El cultivo de caña de azúcar representa uno de los cultivos más importantes a nivel mundial su principal producto es el azúcar aunque en algunos países desde los años 80S se usa con fines de obtención de biocombustible. A nivel mundial se destina para su producción una superficie aproximada de 19.5 millones de ha dejado ganancias significativas en los diferentes estratos las cuales se ven afectadas por la incidencia de plagas y enfermedades. Para el estado de Morelos la plaga de mayor importancia es *D. magnifactella* causando daños hasta del 80% el método de control convencional es principalmente a base de insecticidas químicos los cuales debido a su uso irracional han provocado daños ambientales a corto mediano y largo plazo por lo que deben de buscarse alternativas de control amigables con el ambiente, el control biológico es una estrategia de control que cumple estas características al buscar el equilibrio de poblaciones de insectos plagas empleando organismos entomopatógenos como bacterias, hongos, parasitoides, virus y nematodos siendo estos últimos los que presentan ventajas frente a otros entomopatógenos por lo que la búsqueda de cepas de nematodos patógenas a *D. magnifactella* es trascendental para conocer su distribución y diversidad además de las condiciones y factores que propician su desarrollo y reproducción.

Palabras clave: barrenadores del tallo, nemátodos entomopatógenos, virulencia

Introducción

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) es uno de los cultivos Agro industriales de más importancia a nivel mundial, en México representa una de las actividades agrícolas de mayor relevancia, destinando para su producción una superficie de 700 mil hectáreas distribuidas en 15 estados, que abastecen a 58 ingenios azucareros. Por su parte, Morelos destina una superficie aproximada de 19 mil ha distribuidas en 22 de sus municipios, lo que representa 66% de la superficie total del estado con un valor de producción de 3 mil millones de dólares; esta actividad además brinda trabajo y sustento a más de 10 mil familias de la entidad (SIAP, 2011). Estas ganancias se ven afectadas por la incidencia de plagas y enfermedades, reportándose para este cultivo 150 plagas y 80 enfermedades (Goebel y Sallam, 2011). El complejo de insectos barrenadores del tallo causa grandes pérdidas en nuestro país, siendo *Diatraea magnifactella* el que ocasiona mayores afectaciones en el cultivo, con pérdidas en el rendimiento de hasta 80% para el estado de Morelos (Rodríguez y Vejar, 2008).



Los métodos convencionales para el control de *D. magnifactella* son principalmente el cultural y químico, este último causa severos daños de contaminación y salud (Galindo, 2009), además de la generación de resistencia del insecto plaga. Debido a estos inconvenientes deben buscarse alternativas de control que no afecten la integridad ambiental.

En este sentido, es de suma importancia tomar en cuenta el uso de organismos nativos adaptados a las condiciones ambientales particulares de cada región, lo que facilitará su empleo como agentes de control biológico y disminuirá los riesgos ambientales. En los últimos años las investigaciones van encaminadas a la búsqueda de enemigos naturales endémicos como virus, bacterias, hongos y nemátodos; de estos grupos son los nemátodos entomopatógenos los que están considerados como una de las alternativas con más futuro para el control de insectos, ya que poseen características comunes a depredadores, parasitoides y patógenos (Glaugler y Kaya, 1990; Poinar, 1990) debido a que son capaces de buscar activamente a su presa, además de que pueden ser patógenos a un amplio rango de hospederos y pueden provocar su muerte en un lapso de entre 24 a 48 horas.

Por lo anterior, dada su relevancia socioeconómica en el presente trabajo se realizaron muestreos de suelo en diferentes localidades del estado de Morelos con actividad cañera; es importante mencionar que en estos suelos el uso de herbicidas, fertilizantes e insecticidas son empleados de manera excesiva, lo que permite pensar que los nemátodos aislados en estos suelos serán resistentes a estos factores abióticos, por lo tanto su aislamiento y evaluación resulta de interés, ya que pueden presentar mayor capacidad de adaptación y cierto grado de selectividad; para esto debe de tomarse en cuenta su distribución en las diferentes localidades, así como las condiciones que facilitan o limitan su desarrollo (Gaugler *et al.*, 1997).

Materiales y métodos

La investigación se llevó acabo en dos etapas: en campo y en laboratorio. La etapa de campo se realizó en municipios de Tepalcingo y Axochiapan. La etapa de laboratorio se realizó en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), en el laboratorio de Control Biológico del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), ubicado en campus Chamilpa.

Aislamiento. De los municipios seleccionados se tomaron muestras de suelo de cinco puntos al azar, se tomó aproximadamente 1 kilogramo de suelo con una pala de mano a una profundidad de 10 a 20 cm (Stock *et al.*, 1999), las muestras obtenidas de cada sitio inspeccionado se mezclaron uniformemente, se colocaron en una bolsa de polietileno y se etiquetaron con los datos de colecta. Se realizó el análisis de suelo para determinar textura, pH y porcentaje de materia orgánica.

Virulencia. De los nemátodos aislados se determinó su virulencia prepararon concentraciones de 6, 10, 14, 18 y 20 JI, éstos se colocaron en una caja Petri (60x15mm) que contenía en el fondo doble papel filtro de abertura media y de 60mm de diámetro. Posteriormente se agregaron 250 μ L de agua destilada estéril y enseguida se colocó una larva de *D. magnifactella* de 3^{er} o 4^{cto} estadio, el testigo negativo consistió sólo de agua destilada estéril. Después de 24h se retiraron las larvas



de la caja inoculada y se pasaron de manera individual a cajas Petri con un trozo de dieta meridica.

Análisis estadístico. Se estableció un diseño experimental completamente al azar, la determinación de virulencia se realizó con un análisis Probit con el programa Polo plus.

Resultados y discusión

Los nemátodos aislados fueron designados con las siguientes abreviaturas MC2, MC5 y DS aislados de suelos franco arenosos, estos resultados concuerdan con otros reportes de Stock *et al.*, 1999 y Liu y Berry, 1995; esto no quiere decir que en suelos arcillosos no existan NEPs si no que debido a las características del suelo como presentar poco espacio poroso, es más difícil que se desplacen estos. Además del tipo de suelo, la presencia y reproducción de los nemátodos también está influenciada por otros factores abióticos como pH y porcentaje de M.O., nuestros resultados muestran valores de pH de 7.98 y 6.4 y un porcentaje de M.O de 2.02 y 2.64% en los suelos donde se obtuvieron las cepas MC2 y MC5 respectivamente. Rueda *et al.*, 1993 investigó la existencia natural de NEPs en viveros de Tennessee EEUU y observó que las características del suelo en donde pueden existir NEPs es diferente para cada género, ya que las muestras positivas de heterorhabditidos se obtuvieron de suelos con pH 5.5-6.2 y un porcentaje de M.O de 2.1-2.6% en suelos limo arenosos y franco arenosos. Por otra parte la cepa DS fue aislada directamente de una larva de *D. magnifactella*, lo cual representaría el primer reporte de NEPs sobre este barrenador a nivel mundial, ya que, aunque Román y Beavers, (1993) reportan por primera vez la existencia de nemátodos en campos de caña de azúcar en Puerto Rico, el aislamiento fue de una larva de coleóptero, por lo que ésta cepa es de suma importancia para nuestra investigación. Sáenz, 2008 menciona la importancia de aislar organismos patógenos del hospedero de interés, ya que esto le podría conferir cierto grado de selectividad y mayor porcentaje de adaptabilidad. En cuanto a los resultados de virulencia para las cepas MC2, MC5 y DS la CL_{50} fue de 19.6, 21.4 y 16 JI respectivamente, siendo la cepa DS la que obtuvo el 50% de mortalidad con un menor número de JI. Existen trabajos acerca de la evaluación de virulencia de NEPs sobre barrenadores de caña de azúcar, Grifaldo en 2010 evaluó steinernematidos sobre *D. saccharalis* obteniendo una CL_{50} de 3.7 JI; Castro en 2010 evaluó la virulencia de hererorabditidos sobre *D. magnifactella*, obteniendo una CL_{50} de 7.3 JI. Aunque nuestros resultados de virulencia son mayores, debemos de tomar en cuenta que el comportamiento de los entomopatógenos es diferente, esta diferencia se refleja en diferentes factores tales como la estrategia de búsqueda (Grewal *et al.*, 1994; Ricci *et al.*, 1996), así como la capacidad de penetración e infectividad. No obstante lo anterior, es importante destacar la importancia de la cepa DS que fue aislada directamente del insecto plaga, por lo que esta cepa podría ser candidata para implementarse en un futuro como método de control para *D. magnifactella*, tomando en cuenta los factores que facilitan su existencia y reproducción.



Literatura citada

- Castro, O.I.R. 2010. *Evaluación de cepas de nemátodos y hongos entomopatógenos del Estado de Morelos*. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Hortícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca Morelos. PP
- Galindo, R G. 2009. Efectos en la salud de peones agrícolas, por contaminación de plaguicidas del valle agrícola de Navolato, Sinaloa. Compendio Simposio “La situación de los plaguicidas en México: impactos y perspectivas”. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, pp. 27
- Glaugler, R., Lewis, E., y Stuart, R.J.-1997. Ecology in the service of biological control: The case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109 pp: 483-489.
- Glaugler, R.y Kaya, H. K.1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, pp: 365.
- Goebel, F.-R. y Sallam, N. 2011. New pest threats for sugarcane in the new bioeconomy and how to manage them. *Current Opinion in Environmental Sustainability*. 3: 1-9.
- Grewal, P.S, Selvan, S. y Gaugler, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *J. Thermal Biol.* 19: 245-253-
- Grifaldo, A. P. 2010. Incidencia de nemátodos entomopatógenos en áreas cañeras de Veracruz y su interacción con el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis*. Tesis de Maestría. Colegio de posgraduados. Pp 88-90
- Poinar, G. O. 1990. Taxonomy and Biology of steinernematidae and heterorhabditidae. En: entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton pp:23-61.
- Ricci, M., I. Glazer., Campbell J.F., yGaugler, R. 1996. Comparison of Bioassays to Measure Virulence of Different Entomopatogenic Nematodes. *Biocontrol Science and Techology* 6:235-245.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A., y Vejar-Cota, G. 2008. Barrenadores del tallo (Lepidoptera: Crambidae) del maíz y caña de azúcar, pp.9–22. En: H. C. Arredondo Bernal y L. A. Rodríguez del Bosque [eds.], *Casos de Control Biológico en México*. Ed. Mundi-Prensa, México-España
- Roman, J., y Beavers, J.B. 1983. A survey of Puerto Rico soils for entomogenous nematodes which attack *Dipaprepes abbreviatus* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal Agricultural of University Puerto Rico*, 63 (3), 311-316.
- Saenz, A. A. y W. Olivares. 2008. Capacidad de búsqueda del nemátodo entomopatógeno *Steinernema sp.* SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae). *Rev. Colomb. entomol.* 34: ((1). Pp: 55-56.
- Stock, S.P. y Kaya, H.K. 1996. A multivariate analysis of morphometric characters of *Heterorhabditis* species (Nemata: Heterorhabditidae) and the role of morphometrics in the taxonomy of species of the genus. *J. Parasitol.*-82: 806-813.
- SIAP. 2011. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. <http://www.siap.gob.mx>



RESULTADOS PRELIMINARES DE LA PRODUCCIÓN DE CONIDIAS DE *Metarhizium* spp. Y *Beauveria bassiana* SOBRE ADULTOS DE *Brachystola magna* GIRARD (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE)

Juan C. Bustillos-Rodríguez¹, Claudio Rios-Velasco², David I. Berlanga-Reyes², Alejandro Romo-Chacón², y Juan L. Jacobo-Cuellar³. ¹Estudiante de Posgrado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. e-mail: juan.bustillos@estudiantes.ciad.mx ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. e-mail: claudio.rios@ciad.mx ³Campo Experimental Sierra de Chihuahua, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Hidalgo, 1213. Zona Centro, C.P. 31500, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Resumen. Los insectos pertenecientes al orden Orthoptera, se encuentran ampliamente distribuidos en el norte de México, especialmente *Brachystola magna*, siendo una de las plagas más importantes en el cultivo de frijol en el estado de Chihuahua. Su control se basa en la utilización de insecticidas químicos; una alternativa a su uso, es la utilización de agentes de control biológico para reducir sus densidades poblacionales, destacando los hongos entomopatógenos tales como *Metarhizium* spp. y *Beauveria bassiana*. Sin embargo, se desconoce la cantidad de conidias infectivas que puede producir cada espécimen adulto de *B. magna* tratado con dichos hongos, el cual a su vez pueda infectar a otros chapulines, debido a su comportamiento canibalístico. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue estimar la cantidad de conidias producidas por *Metarhizium* spp. y *B. bassiana* en adultos de *B. magna*, tratados bajo condiciones *in vitro*. Para lo cual, se recolectaron muestras de suelo de parcelas de frijol para el aislamiento de los entomopatógenos, utilizando larvas de *Tenebrio molitor* L. como insectos trampa, los cuales fueron revisados periódicamente, recolectando los que mostraron micosis y colocados individualmente en cámaras húmedas. Posteriormente se aislaron y purificaron los hongos, se identificaron morfológicamente de acuerdo con sus características macro y microscópicas, corroborándolos con su caracterización molecular. Para la evaluación de la actividad biológica de los aislados obtenidos, se sumergieron los adultos de *B. magna* en suspensiones de los entomopatógenos. Los chapulines tratados fueron colocados, de manera individual, en contenedores plásticos e incubados a 28 °C. Obteniendo que a los 6 d post-aplicación de los entomopatógenos, 5 (29.41 %) aislados de *M. anisopliae*, indujeron una proliferación abundante de micelio sobre el insecto, correspondiendo a 47.3, 34, 32.7, 26 y 22 % de la población evaluada. La producción de conidias de los aislados obtenidos de *M. anisopliae* fluctuó de 3.9×10^6 a 9.6×10^7 y de *B. bassiana* de 8×10^5 a 8.8×10^6 .

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, frijol, plagas insectiles, control biológico, chapulín gordinflón.



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE TRES AISLAMIENTOS DE *Cordyceps* sp. (ORDEN: Hypocreales, FAMILIA: Cordycipitae).

Edna Patricia Delgado-Quintanar, Brisa Marisol Casillas-Pérez, Yolanda Flores-Lara, Rafael de la Rosa-López.
Universidad de Sonora, Unidad Regional Norte, Campus Caborca. Ave. Universidad e Irigoyen s/n. Col. Eleazar Ortiz. C.P. 83621. H. Caborca, Sonora, México. pdelgado@caborca.uson.mx.

Resumen. La búsqueda de alternativas no químicas para el manejo de chicharra cantadora *Diceroprocta* spp. plaga del espárrago, ha motivado el desarrollo de diversos estudios sobre el hongo entomopatógeno *Cordyceps* sp. en virtud de haber demostrado ser un eficiente agente de control biológico al parasitar al estado ninfal de dicho insecto. Investigaciones previas han documentado una amplia heterogeneidad morfológica y fisiológica para los aislamientos obtenidos a partir de insectos infectados por *Cordyceps* sp. planteándose el presente estudio con el objetivo de comparar las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de aislamientos obtenidos a partir de ninfas parasitadas de chicharra cantadora *Diceroprocta* spp. provenientes de tres regiones cultivadas con espárrago. De acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización macroscópica, se registraron diferencias entre los aislamientos en cuanto a la velocidad de crecimiento de las colonias, el diámetro de las mismas y el aspecto. Con relación a las características microscópicas se observaron diferencias en la longitud de los conidios pero similitudes en la forma de las hifas, conidios y células conidiógenas.

Palabras clave: *Cordyceps*, *Diceroprocta*, entomopatógeno, chicharra, espárrago,

Introducción

Los hongos representan los principales microorganismos descritos como causantes de enfermedades en insectos y se encuentran asociados a insectos pertenecientes a diferentes órdenes que viven en diversos hábitats, como el agua, suelo y partes aéreas. Su especificidad es variable ya que algunos tienen un amplio rango de hospederos mientras que otros están restringidos a una sola especie de insectos. Por su particular manera de infección, los hongos son los patógenos más importantes de insectos chupadores, siendo generalmente el estado inmaduro (ninfa o larva) el más atacado (Nicholls, 2008).

Las enfermedades causadas por hongos, pueden regular o causar una alta mortalidad en las poblaciones de los insectos huéspedes, mediante epizootias espectaculares. Esto ilustra el potencial que los hongos tienen como biocontroladores y estimula el desarrollo de diversos trabajos de investigación con fines de explotarlos como micoinsecticidas. Existen más de 700 especies de hongos entomopatógenos en aproximadamente 100 géneros que se presentan con una distribución mundial, sin embargo, pocos son estudiados en forma intensiva (Alatorre, 2002).

Un aspecto importante a considerar para lograr óptimos resultados con el uso de hongos entomopatógenos, es la obtención de cepas nativas para asegurar una mayor efectividad. Esto se debe a que las dichas especies han evolucionado a las condiciones ambientales de la zona por lo



cual no necesitan una etapa de adaptabilidad como en el caso de cepas importadas con las cuales además, se corre el riesgo de no adaptabilidad y/o en su caso, no resultar tan efectivas en el momento de ejercer su patogenicidad (García *et al.*, 2011).

El género *Cordyceps* se halla registrado como entomopatógeno en especies de varias órdenes de insectos dentro de las que se encuentran Himenóptera, Hemíptera, Lepidóptera, Díptera y Coleóptera (Sanchez *et al.*, 2002). Como parásito de chicharra cantadora, su ciclo biológico inicia cuando las conidias de *Cordyceps* sp. producen un tubo germinativo que se introduce al insecto a través de los espiráculos u otras aberturas externas del insecto; una vez dentro del hemocele, el hongo se reproduce e invade todo el cuerpo de la ninfa. Al inicio de la infección se observan pocos o ningún signo o síntoma aunque existen cambios internos en el contenido proteico de la hemolinfa y posteriormente el insecto pierde movilidad y apetito. La colonización completa del cuerpo del insecto requiere de siete a diez días, después de los cuales el insecto muere manteniendo su forma. Si las condiciones son favorables, lo que significa un ambiente con humedad relativa alta (90% o más) en la época cercana a la muerte del insecto, el micelio formará estructuras reproductivas y conidias, completando así el ciclo de vida (Delgado *et al.*, 2002).

Cheng *et al.* (1999) reportan que este género se caracteriza por presentar una gran diversidad genética entre diferentes poblaciones geográficas, lo cual se considera como evidencia de la existencia de diferentes subespecies y puede significar además, diferencias en la capacidad patogénica del hongo. Por otra parte, Barker y Koenig (1998), señalan que la relación entre patógeno, hospedero y ambiente varía con la combinación patógeno-hospedero, región geográfica y características del campo.

El objetivo de este estudio fue comparar tres aislamientos de *Cordyceps* sp. obtenidos de ninfas de chicharra parasitadas colectadas en diferentes regiones geográficas con el propósito de determinar diferencias en las características morfológicas y fisiológicas de los aislados. En este caso se presenta la parte correspondiente a la caracterización morfológica de los aislamientos.

Materiales y métodos

En cada uno de los campos seleccionados se colectaron al menos 25 especímenes de ninfas de chicharra cantadora con evidencias de parasitismo por el hongo entomopatógeno *Cordyceps* sp. Las ninfas fueron obtenidas al excavar el suelo en un área cercana a la corona de la planta utilizando una pala. La profundidad a la que se encontraron las ninfas parasitadas varió de los 20 a 50 cm. La ubicación de los lugares de colecta así como las características de los mismos, se describen en el cuadro 1.

Una vez en el laboratorio, las ninfas fueron lavadas y desinfectadas y se seleccionaron aquellas con los estromas mejor desarrollados para obtener los aislamientos empleando el método directo (Mier *et al.*, 2002). Pequeños trozos de la parte interna del estroma fueron usados para estriar la superficie del medio de cultivo PDA preparándose diez caja Petri por sitio de colecta. Las cajas



etiquetadas fueron colocadas en la incubadora a una temperatura de 27°C en condiciones de oscuridad.

Después de 30 días, las colonias con mayor desarrollo se transfirieron a cajas nuevas con PDA y se incubaron a la misma temperatura. Se sembraron diez cajas Petri por aislamiento. Transcurridos 30 días, se seleccionaron las dos cajas de mayor desarrollo por aislamiento y con la ayuda de una varilla de vidrio se desprendió la mayor cantidad del material y se colocó en un mortero para tritararlo agregando solución Tween 80° al 0.05%. La suspensión resultante se filtró con una gasa estéril y se vació a un matraz Erlenmeyer aforando a 100 mL con la solución Tween.

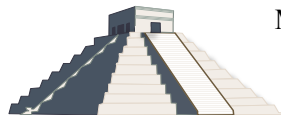
Siguiendo la metodología desarrollada por Sotelo (2003), se procedió a realizar la siembra de los aislamientos en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 mL del medio de cultivo SDA+BHI con estreptomycin como antibiótico; a cada matraz se agregó 1 ml de la suspensión del hongo, agregando 1 mL de solución de Tween. De esta manera, se prepararon 10 matraces por aislamiento que se incubaron a 27°C. Después de 40 días de incubación se seleccionaron 3 matraces con mayor desarrollo de cada uno de los aislamientos y fueron cosechados siguiendo el mismo procedimiento descrito para las cajas Petri pero aforando a 50 ml con solución de Tween. Una vez determinada la concentración de los aislamientos usando una cámara de Neubauer se procedió a igualarlas a 1×10^6 conidios/mL; a estas suspensiones se les llamo “suspensión madre”. Para la caracterización macroscópica y microscópica de los aislamientos, se consideraron los criterios propuestos por Mier *et al.* (2002), quién incluye color de la colonia, aspecto, consistencia, superficie, velocidad de crecimiento, tamaño de la colonia, tipo de hifas, forma y tamaño de los conidios y células conidiógenas.

Caracterización microscópica: cajas Petri con PDA se sembraron con 500 µl de la “suspensión madre” y los conidios fueron dispersados en toda la superficie usando una varilla de vidrio en forma de L. Después de ser incubadas por 15 días, se tomaron muestras del tejido hifal que fueron colocadas en portaobjetos y teñidos con una gota de lactofenol-azul de anilina. Se realizaron observaciones a 40X empleando un microscopio óptico Motic equipado con cámara, obteniéndose mediciones de la longitud y el diámetro de 12 conidios por aislamiento (Cañedo y Ames, 2004).

Caracterización macroscópica: de los 7 matraces restantes de cada aislamiento, se seleccionó el mayor desarrollo y usando un asa bacteriológica se realizaron siembras por punción en ángulo recto en el centro de una caja Petri de 5 cm de diámetro conteniendo PDA. Transcurridos 15 días de incubación, se observó la forma de la colonia, se midió el tamaño de la misma y se registró el aspecto, textura y coloración en ambas caras del cultivo (Cañedo y Ames, 2004).

Resultados y discusiones

En el cuadro 2 se muestran las características macroscópica de las colonias de los aislamientos de *Cordyceps* sp. resaltando el rápido crecimiento que tuvieron las colonias del aislamiento proveniente del Campo Las Palmas cuyo desarrollo fue significativamente superior al de los otros



aislamientos. Estas colonias también se diferenciaron al mostrar una textura algodonosa mientras que los otros dos se observó una textura “aterciopelados”. La coloración de las colonias fue similar exceptuando una tonalidad rosa más intensa en los cultivos del campo San Faustino.

En relación a las características microscópicas, en todos los casos se observaron hifas hialinas con septos bien definidos y conidios de forma y apariencia similar. En cuanto al tamaño, la longitud de los conidios del aislamiento Las Palmas fue menor en comparación con los otros dos. En todos los aislamientos se observaron células conidiógenas alargadas y simples.

Cuadro 1. Características de los sitios de colecta de ninfas de *Diceroprocta* spp. parasitadas por *Cordyceps* sp.

Campo:	Ubicación:	Tiempo de presencia del hongo en el sitio:	Origen del hongo:
Las Palmas	111°56'56.40" longitud O; 30°39'0.50" latitud N.	3 años	Introducido
San Faustino	112°35'57.33" longitud O; 30°50'16.48" latitud N.	5 años	Introducido
Morgan	115°06'29.89" longitud O; 32°17'14.96" latitud N	2 años	Desconocido

Cuadro 2. Características macroscópicas de las colonias de *Cordyceps* sp. de cada aislamiento.

Aislamiento	Diámetro □ (cm)*	Crecimiento:	Aspecto:	Coloración anterior:	Coloración posterior :
Las Palmas	1.37 ^a	Circular, moderadamente rápido, con una proyección en el centro.	Algodonosa.	Blanca pasando a rosa claro.	Crema.
San Faustino	0.43 ^b	Circular, lento, con varias proyecciones.	Aterciopelada.	Blanca pasando a rosa intenso.	Crema.
Campo Morgan	0.36 ^b	Circular, lento, sin proyecciones.	Aterciopelada.	Blanca pasando a rosa.	Crema.

Medias con letras distintas indican diferencia entre los aislamientos.

*Valores obtenidos de 12 repeticiones.



Cuadro 3. Características microscópicas de las colonias de *Cordyceps* sp. de cada aislamiento.

Aislamiento	Hifas	Conidios			
		Aspecto	Longitud (mm) *)	Diámetro (m) *)	
Las Palmas	Hialinas y septadas.	Cilíndricos con extremos redondeados, lisos y hialinos.	0.95 ^a	4.5 ^a	
San Faustino	Hialinas y septadas.	Cilíndricos con extremos redondeados, lisos y hialinos.	1.14 ^b	0.51 ^a	
Campo Morgan	Hialinas y septadas.	Cilíndricos con extremos redondeados, lisos y hialinos.	1.08 ^b	0.52 ^a	

Medias con letras distintas indican diferencia entre los aislamientos.

*Valores obtenidos de 12 repeticiones.

Agradecimientos. A Fundación Produce Sonora, A.C. por el apoyo recibido para la realización de este estudio.

Literatura citada

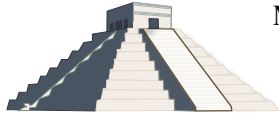
- Alatorre R., R. 2002. Hongos entomopatógenos. XIII Curso Nacional de Control Biológico. Eds. Loaiza Villegas, J. y Báez Sañudo, R. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Sonora, México p. 95-104
- Barker, K.R: Koenning, S.R. 1998. Developing sustainable systems for nematode management. Annual Review of Phytopathology. 36: 165-205.
- Cañedo, V., Ames, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa. Lima, Peru. pp. 1-44.
- Chen, Y., Zhang, Y., Yang, Y., Yang, D. 1999. Genetic diversity and taxonomic Implication of *Cordyceps sinensis* as revealed by RAPD markers. Biochemical Genetics. Vol. 37(5/6) 201-213.
- Delgado Q. E.P., Rivera O., B. Sotelo E. M.I. 2002. Desarrollo e implementación del sistema de manejo integrado de plagas en el cultivo del espárrago en la región de Caborca, Son. Avances y resultados - Investigación y transferencia de tecnología para Sonora 2000. Publicación anual de Fundación Produce Sonora, A.C. Hermosillo, Son.
- García, A. 2011. Hongos entomopatógenos (Mycota: Deuteromycetes) aislados en el noroeste de México: impacto sobre la longevidad fecundidad, fertilidad y tasas de copula e inseminación en *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Nuevo León. pp. 15-17.
- Mier, T., Toriello, C., Ulloa, M. 2002. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F. 90.
- Nicholls, C. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Ciencia y Tecnología. Editorial Universidad de la Antioquia. pp.122.
- Sánchez, P., Morillo, F., Caetano, F., Iturriaga, T., Guerra, J., Muñoz, W. 2002. Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. Entomotropical antes/formerly Boletín de Entomología Venezolana. Vol. 17(2): 191-195.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Sotelo E., M.I. 2003. Aislamiento y patogenicidad de un hongo entomopatógeno nativo, sobre chichara cantadora *Diceroprocta semicineta* D. en el cultivo del espárrago. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. División de Ciencias Administrativas Contables y Agropecuarias. Santa Ana, Son. 70 pp.



EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Metarhizium anisopliae*, EN CAMPO COMO CONTROL BIOLÓGICO DE LA GARRAPATA *Boophilus microplus*, EN DOS RANCHOS, RANCHO MODELO, EJIDO CACAO, Y EJIDO CALDERON, MUNICIPIO OTHÓN P. BLANCO, QUINTANA ROO.

- Sansores Lara Laura Isabel¹ Soberanis Vázquez Lucía Aracely¹ Narváez Can Miguel Gabriel¹.-Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de la Zona Maya (ITZM), Código Postal: 77960. Ciudad: Chetumal. Carretera Chetumal-Escárcega Km 21.5, Ejido Juan Sarabia Quintana Roo, Othón P. Blanco.

Resumen. El objetivo de este proyecto es evaluar por medio del control biológico, el efecto de *Metarhizium anisopliae* sobre *Boophilus microplus*, este puede definirse como una combinación de medidas de prevención, observación y supresión que pueden ser eficientes ecológicamente, económicamente y aceptables socialmente, para mantener las poblaciones alejadas de plagas a un nivel adecuado. La prevención podrá incluir la aplicación de diferentes dosis del hongo *Metarhizium anisopliae* con concentraciones de 1×10^8 y 1×10^{10} , las aplicaciones se realizaron en el potrero y áreas de pastoreo, principalmente, dado al ciclo biológico *Boophilus microplus*, se determinó que la mayor incidencia es en el adulto por tanto según la permanencia de este es al momento de depositar los huevecillos en el suelo, de igual forma se aplica en el animal sobre los lugares de mayor afectación, para afectar ninfas y adulto, de alguna manera reducen la población y favorecen el control sostenible por parte de los enemigos naturales. Para la supresión de la plaga se hicieron aplicaciones semanales, valorando las condiciones climáticas, ya que la lluvia ayuda a la brotación de más hevecillos y a su vez reduce la efectividad del hongo. El control mecánico consistió en remover el suelo, para posteriormente realizar la aplicación (A la Torre, 1997). Se realizaron comparaciones de ambas concentraciones, en dónde a mayor concentración mayor mortalidad, por tanto disminuye la población, en ambos ranchos, aunque hubo mayor incidencia en el mayor concentración.



CEPAS NATIVAS DE *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) Y SU PATOGENICIDAD HACIA *Hypothenemus hampei* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE), EN TABASCO, MÉXICO

José del Carmen Gerónimo-Torres¹, Magdiel Torres-de-la-Cruz¹, Aracely de-la-Cruz-Pérez¹. División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya, CP. 86039, Villahermosa, Tabasco, México

Resumen. *Hypothenemus hampei* es la principal plaga insectil del cultivo del café en el estado de Tabasco. Este reduce significativamente la calidad de producción y el rendimiento económico. Una alternativa de control sustentable de *H. hampei* es el control biológico mediante hongos entomopatógenos, donde *Beauveria bassiana* ha mostrado eficiencia en el control de esta plaga. Con la finalidad de contar en Tabasco, con aislamientos nativos de *B. bassiana* con potencial de control de *H. hampei*, 12 cepas fueron obtenidas a partir de muestras de suelo e insectos micosados. La patogenicidad de los aislamientos fue evaluada sobre adultos de *H. hampei* obtenidos en campo. Cada unidad experimental consistió en 10 adultos de *H. hampei*. Los insectos fueron sumergidos en una concentración de 3×10^6 esporas/ml de agua+inex[®] (0.1%). El tratamiento control fue sumergido en agua destilada estéril+inex[®] (0.1%). El ensayo se mantuvo a $25 \pm 1^\circ\text{C}$; con humedad relativa fue de $80 \pm 10\%$. La mortalidad fue registrada diariamente y los “cadáveres” se colocaron en cámara húmeda para verificar esporulación. El experimento se estableció bajo un DCA con 12 tratamientos y cinco repeticiones. La variable respuesta fue el porcentaje de insectos muertos inducido por *B. bassiana*. Los porcentajes de mortalidad final se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción y se sometieron a un ANOVA y prueba de separación de medias (Tukey, 0.05). Diferencias significativas ($F = 7.19$, $gl = 11$, $P < 0.0001$) se encontraron en la mortalidad de *H. hampei* a las 96 horas de evaluación. La mortalidad fluctuó del 32% al 96%, donde la cepa C5 mostró la mayor efectividad. EL 100% de los testigos permanecieron vivos hasta 144 horas después de la evaluación. La variabilidad en la característica evaluada demuestra la importancia de la caracterización de aislamientos y manifiestan el potencial del hongo estudiado para el desarrollo de bioinsecticidas.



PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* EN LARVAS DEL GUSANO BARRENADOR DEL TALLO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EN SINALOA

Guadalupe Vejar-Cota y Cipriano García-Gutiérrez, Laboratorio de Bioinsecticidas, Centro Interdisciplinario de Investigación y Desarrollo Integral Regional unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional. Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes No. 250. Guasave, Sinaloa. CP 81101. Tel y fax: 687 8729625 y 26, ext. 87665, vejargpe@hotmail.com.

Resumen. Se evaluó la patogenicidad de nueve aislados de hongos entomopatógenos de las especies *B. bassiana* y *M. anisopliae* como una alternativa para el control biológico del gusano barrenador del tallo de la caña de azúcar *D. considerata* en el estado de Sinaloa, el cual ocasiona pérdidas por más de 100 millones de pesos anuales. Todos los aislados mostraron patogenicidad en larvas L1 a L3 del gusano barrenador. El mejor aislado de *B. bassiana* fue HPI-139 a una concentración de 5.57×10^8 esporas /ml con el 100% de mortalidad, mientras que en el caso de *M. anisopliae* se encontraron varios aislados sin diferencias estadísticas los cuales fueron Ma 1, M2, Ma 7 y M1 con el 90.8, 89.1, 88.8 y 87.1% respectivamente, con concentraciones que variaron de 1.07 a 4.99×10^8 esporas /ml. El menor tiempo letal medio (TL₅₀) se obtuvo con el aislado HPI-139 de *B. bassiana* con 3.8 días, coincidiendo con la mayor mortalidad. Los mejores aislados encontrados en este estudio pueden ser candidatos para evaluaciones de campo con fines de determinar su potencial para el control del gusano barrenador de la caña de azúcar en Sinaloa.

Palabras claves: Hongos entomopatógenos, gusano barrenador, *Diatraea considerata*, Sinaloa.

Introducción

En Sinaloa las pérdidas ocasionadas por el gusano barrenador del tallo (Lepidoptera: Crambidae) en el cultivo de caña de azúcar ascienden a más de 100 millones de pesos en aproximadamente 30 mil hectáreas de cultivo cada año (Anónimo, 1999; Flores, 2007). Los daños que ocasiona esta plaga varían del 15 al 28% de los entrenudos barrenados afectando el peso de la materia prima, sin embargo, el principal daño lo ocasionan al favorecer con sus perforaciones y galerías la entrada al tallo de microorganismos que fermentan los azúcares, dificultando de esta manera el proceso de extracción de la sacarosa en fábrica (Terán, 2009; Flores, 2007). Los intentos por controlar a las poblaciones del gusano barrenador en Sinaloa han sido diversos, dentro de los que se incluyen el uso de insecticidas, la selección de variedades, control cultural, la producción y liberación de agentes de control biológico, etc. Sin embargo, ningún método por si solo ha reducido las poblaciones del barrenador a niveles tolerables (Flores, 2007; Vejar-Cota *et al.*, 2008; Rodríguez del Bosque *et al.*, 2014). Uno de los agentes poco explorados son los entomopatógenos, por lo que el interés en su utilización se ha intensificado durante los últimos 25 años (Hernández y Lezama, 2004). Aunque se han realizado trabajos aislados en el uso de entomopatógenos para el control de barrenadores, aún hace falta evaluar estos agentes de control biológico con las especies de Sinaloa, por lo tanto el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la patogenicidad de aislados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae*



(Metsch) Sorok en larvas del gusano barrenador *Diatraea considerata* Heinrich, por ser la especie de mayor importancia para la región por su abundancia y destrucción (Vejar-Cota, 2004; Flores, 2007; Rodríguez del Bosque *et al.*, 2014).

Materiales y Métodos

Los estudios de patogenicidad se realizaron en el laboratorio de Bioinsecticidas del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Sinaloa (CIIDIR-IPN) localizado en la ciudad de Guasave durante el 2014. Se consiguieron aislados de las colecciones de hongos entomopatógenos del Laboratorio de Bioinsecticidas del CIIDIR Unidad Sinaloa y de la Universidad Autónoma de Morelos, además se incluyeron aislados de la colección de hongos entomopatógenos de la empresa Agrobiológicos del Noroeste, S.A. de C.V. (Agrobionsa). Cada aislado se reactivó siguiendo la metodología descrita por Inglis *et al.* (2012), García-Gutiérrez *et al.* (2009) y Cañedo y Ames (1994), la cual consiste en hacer crecer al hongo inicialmente en medio de cultivo PDA, extracto de levadura al 1% y 500 ppm de cloranfenicol e incubarlos por 21 días. Una vez alcanzada la esporulación, se cosecho con 10 ml de Tween 80 al 0.5% para obtener una suspensión de esporas, la cual se cuantificó para determinar una concentración de 1×10^8 conidios/ml (Lezama, 1994). De los 10 ml de la suspensión se tomó uno para las pruebas de viabilidad y conteo de esporas, mientras que el resto se utilizó para infectar larvas del cuarto o quinto instar del gusano barrenador *D. considerata*. Los insectos infectados se mantuvieron en observación en una cámara húmeda hasta la esporulación. Una vez reactivado el HE se sembraron nuevas cajas con PDA + levadura de cerveza acidificadas con ácido láctico al 10%. Una vez esporuladas las nuevas cajas, estas se conservaron en refrigeración (5°C) hasta su uso en los ensayos. Para realizar los diferentes estudios se estableció el pie de cría del gusano barrenador *D. considerata*. Para lo anterior, se realizaron colectas de larvas de campo en el área de influencia del ingenio Mochis (Valle del Fuerte, Sinaloa). Las larvas fueron identificadas a nivel de especie de acuerdo a la clave descrita por Lugo (2008) y posteriormente colocadas en cajas Petri de 6 cm de diámetro con un 1 cm² de dieta artificial hasta la obtención de pupas (Badilla *et al.*, 1994). Los adultos obtenidos se confinaron a cámaras de oviposición para la obtención de huevos. Una vez emergidas las larvas neonatas, una parte se seleccionó para realizar los bioensayos y otra parte para continuar con la colonia. Con los aislados obtenidos se realizó la prueba de patogenicidad en larvas L1 a L3 del gusano barrenador *D. considerata*. Para realizar lo anterior se utilizó en parte la metodología desarrollada por Castro-Ortega *et al.* (2013) para *D. magnifactella* Dyar la cual consiste en sumergir por un minuto un trozo de hoja de maíz de 4.0 cm² en una suspensión de esporas de 1×10^8 + Tween 80 al 0.5% y pasarlo a papel absorbente para eliminar el exceso de humedad. El trozo de hoja contaminado con la suspensión de esporas se colocó en una caja Petri de 9.0 cm de diámetro preparada con papel filtro humedecido en el fondo. A cada caja se le depositaron 5 larvas de acuerdo al instar en evaluación. Se realizaron cuatro repeticiones de 20 individuos por cada instar (80 larvas por tratamiento), incluyendo un testigo con agua destilada estéril con Tween. Pasadas las primeras 72 h, las larvas se transfirieron a cajas Petri de 6.0 cm de diámetro con 1 cm² de dieta artificial para continuar con las observaciones. La mortalidad se registró a los 3, 6 y 9 días post-tratamiento. El bioensayo se mantuvo bajo condiciones controladas de 27 ± 1 °C, humedad de $70 \pm 5\%$ y 12:12 de



fotoperiodo. Se realizaron repeticiones en días diferentes utilizando preparaciones frescas de los aislados. El control consistió en el uso de Tween solo en cada una de las etapas evaluadas y se utilizó para corregir la mortalidad natural (Abbott, 1925). Se utilizó un diseño completamente al azar para todas las pruebas con cuatro repeticiones. Los porcentajes de mortalidad y el tiempo letal medio se transformaron al arco seno de la raíz cuadrada para su posterior análisis de varianza. Cuando se presentaron diferencias significativas entre los aislados se utilizó la prueba de Tukey (0.05%). Para el análisis de datos se utilizó el programa de SAS versión 9.0. (SAS Institute, 2009).

Resultados

Se estableció la cría del gusano barrenador *D. considerata* con 248 especímenes colectados de campo. Por otro lado se obtuvieron 9 aislados de hongos entomopatógenos, 4 del CIIDIR-Sinaloa, 1 del CIB Morelos y 4 de Agrobiológicos del Noroeste. Del total de aislados obtenidos cuatro correspondieron a *B. bassiana* y cinco a *M. anisopliae* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Relación de aislados de hongos entomopatógenos obtenidos de diferentes colecciones para los estudios de laboratorio contra el gusano barrenador del tallo de la caña de azúcar en Sinaloa.

Especie	Aislado	Aislado de	Especie huésped	Lugar	Procedencia
<i>Beauveria bassiana</i>	B3	Suelo	<i>G. mellonella</i>	Sinaloa	CIIDIR-Sinaloa
<i>Beauveria bassiana</i>	B4	Suelo	<i>G. mellonella</i>	Sinaloa	CIIDIR-Sinaloa
<i>Metarhizium anisopliae</i>	M1	Suelo	<i>G. mellonella</i>	Sinaloa	CIIDIR-Sinaloa
<i>Metarhizium anisopliae</i>	M2	Suelo	<i>G. mellonella</i>	Sinaloa	CIIDIR-Sinaloa
<i>Beauveria bassiana</i>	HPI-139	Insecto huésped	<i>D. magnifactella</i>	Morelos	CIB-Morelos
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb 12	Insecto huésped	<i>Phyllophaga sp</i>	Jalisco	Agrobionsa
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma 1	Insecto huésped	<i>Aeneolamia postica</i>	Q. Roo	Agrobionsa
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma 6	Insecto huésped	<i>D.grandiosella</i>	Colima	Agrobionsa
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma 7	Insecto huésped	<i>D. magnifactella</i>	Colima	Agrobionsa

Todos los aislados evaluados mostraron patogenicidad durante el proceso de reactivación cuando se utilizó el método de inmersión en una suspensión de 1×10^8 esporas/ml sobre larvas del cuarto y quinto instar de *D. considerata*. Las mortalidades obtenidas con los 9 aislados de HE evaluados sobre larvas jóvenes de *D. considerata* variaron del 72 al 100% de mortalidad, encontrándose diferencias significativas entre ellos ($Pr > F = 0.0027$, C.V. = 11.46). Se encontraron tres grupos que ocasionan una mortalidad dada de acuerdo a su significancia; el grupo 1 con mortalidad del 100% (1 aislado), grupo 2 con mortalidades del 87.1 al 90.8% (4 aislados) y el grupo 3 con mortalidades del 72.3 al 75.0% (4 aislados). El mayor porcentaje de mortalidad para larvas L1 a L3 de *D. considerata* se obtuvo con el aislado HPI-139 de *B. bassiana* a una concentración de 5.57×10^8 esporas /ml con el 100%. Los mejores aislados de *M. anisopliae* sobre larvas de *D. considerata* fueron Ma 1, M2, Ma 7 y M1 con el 90.8, 89.1, 88.8 y 87.1% respectivamente. Con respecto al tiempo letal medio (TL₅₀), este vario desde 3.8 a 7.4 días dependiendo del aislado utilizado, encontrándose diferencias significativas entre ellos ($Pr > F = 0.0075$, C.V. = 8.90). Se puede observar una tendencia similar a los resultados de mortalidad,



formándose tres grupos; el grupo 1 corresponde al menor TL_{50} con 3.8 días (1 aislado), el grupo 2 con 4.8 a 6.5 días (5 aislados), y por último el grupo 3 con 6.8 a 7.4 días (3 aislados). El menor TL_{50} se obtuvo con el aislado HPI-139 de *B. bassiana*, coincidiendo con la mayor mortalidad.

Discusión

El presente trabajo constituye el primer acercamiento para determinar la patogenicidad y virulencia de los HE en larvas del gusano barrenador de la caña de azúcar *D. considerata* en Sinaloa. Tanto *B. bassiana* como *M. anisopliae* presentaron la capacidad para infectar a larvas *D. considerata* como lo demuestran los resultados de este estudio. Trabajos realizados con otras especies señalan mortalidades mayores del 96% con dos aislados de *M. anisopliae* (Ma141 y Ma156) en *D. magnifactella* del estado de Morelos (Castro-Ortega *et al.*, 2013), una especie emparentada con *D. considerata*. Además, Lezama-Gutiérrez *et al.* (2012) indican que en el estado de Colima los aislados Ma 103, Cb 120, Ma 156 y Cb 119 mostraron mayor virulencia en larvas neonatas de *D. magnifactella*. Estudios con *B. bassiana* en *D. saccharalis* (F.) indican que esta especie también es susceptible al encontrarse mortalidades del 82.5 al 85% (Arcas *et al.*, 1999; Legaspi *et al.*, 2000). Lo anterior indica que el género *Diatraea* es susceptible a diferentes aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, coincidiendo con los resultados obtenidos con *D. considerata* en este estudio. Legaspi *et al.* (2000) encontraron en un estudio con *B. bassiana* (Mycotrol®) que las larvas de *D. saccharalis* (F.) mueren entre 4.6 y 6.4 días dependiendo del instar evaluado. De la misma manera Arcas *et al.* (1999) encontraron que las larvas del tercer instar de *D. saccharalis* mueren en promedio a los 4.3 días con los aislados Bb1 y Bb5 de *B. bassiana*. Ambos trabajos coinciden con los intervalos de tiempo encontrados en el presente trabajo. A pesar que los aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae* fueron patogénicos para las larvas del primero al tercer instar de *D. considerata*, es importante seleccionar los aislados que pueden ser utilizados para evaluar su efectividad en campo con fines de uso en un programa de control biológico contra esta plaga.

Agradecimientos. Se agradece a CONACyT por el apoyo de la beca 357687. También se agradece al IPN por los apoyos otorgados para asistir a este evento. De la misma manera se agradece a la empresa Agrobiológicos del Noroeste, S.A. de C.V. por el apoyo y aportación de aislados de su colección, así como al Dr. Víctor M. Hernández Vázquez por el apoyo con cepas de la colección del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma de Morelos.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Anónimo. 1999. La industria azucarera en Sinaloa. Consorcio AGA, ingenio Mochis; Zucarmex, ingenio La Primavera; Grupo Azucarero México, ingenio El Dorado. Secretaría de Desarrollo Económico del gobierno del estado de Sinaloa. s/p.
- Arcas, J.A., Díaz B.M. y Lecuona R.E.. 1999. Bioinsecticidal activity of conidia and dry mycelium preparations of two isolates of *Beauveria bassiana* against the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *J. Biotech.* 69: 151-158.



- Badilla, F., Solís A. I. y Alfaro D. 1994. Manual de producción del parasitoide *Cotesia flavipes* para el control biológico de los taladradores de la caña de azúcar *Diatraea* spp. en Costa Rica. Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), Costa Rica. 22 p.
- Cañedo, V. y Ames T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 62 pp.
- Castro-Ortega, I.R., Obregón-Barboza V., Fonseca-González A., Lina-García L., Hernández-Velázquez V.M., Peña-Chora G., Rodríguez del Bosque L.A. y Lezama-Gutiérrez R. 2013. Patogenicidad y virulencia de seis cepas de hongos entomopatógenos sobre *Diatraea magnidactella* y *Spodoptera frugiperda*. XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Oaxaca, Oaxaca, México. Pp. 45-48.
- Flores, S. 2007. Las Plagas de la Caña de Azúcar en México. 2ª Ed. Colegio de Posgraduados, México. 350 p.
- García-Gutiérrez C., Hernández-Velázquez V. M., Rosas-García. N. M. y Berlanga-Padilla M. A. 2009. I. Hongos entomopatógenos. 13-80 pp. En: C. García-Gutiérrez y R. Lezama-Gutiérrez (Eds.). Manual de técnicas para el aislamiento, identificación y caracterización de hongos y nematodos entomopatógenos. Instituto Politécnico Nacional. Primera edición. 119 pp.
- Hernández, V.M. y Lezama R. 2004. Uso de entomopatógenos para el control biológico de barrenadores del tallo, pp. 37-45. En: L.A. Rodríguez-del-Bosque, G. Vejar & E. Cortéz (eds.), Taller Internacional sobre Barrenadores del Tallo de Caña de Azúcar. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2004, Los Mochis, Sinaloa, México.
- Inglis, G. D., Enkerly J. y Goettel M. S. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. In: Lawrence A. Lacey (Ed.). Manual of techniques in invertebrate pathology, Chapter 7. Second edition. Academic Press, London. Pp. 189-253.
- Legaspi, J. C., Poprawski T. J. y Legaspi Jr. B.C. 2000. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (lepidoptera: pyralidae) in the Lower Rio Grande Valley of Texas. J. Econ. Entomol. Vol. 93 (1). Pp. 54-59.
- Lezama, R. 1994. Perspectivas de control microbiano de barrenadores con hongos entomopatógenos, pp. 38-43. En: Memoria Curso sobre Control Biológico de Barrenadores en Caña de Azúcar. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Julio de 1994, Tecomán, Colima, México.
- Lezama-Gutiérrez, R., Ángel-Sahagún C. A., Galindo-Velasco E., Silva-Torres I., Galván-Gutiérrez G., Núñez-Martínez I.R. y Rebolledo-Domínguez O. 2012. Virulencia de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) en larvas de *Diatraea magnidactella* (Lepidoptera: Pyralidae). XXXV Congreso Nacional de Control Biológico, Puebla, México. Pp. 504-507.
- Lugo C. P. 2008. El gusano barrenador de la caña de azúcar (Lepidoptera: Crambidae) y sus parasitoides naturales en el norte de Sinaloa. Tesis de Licenciatura en Biología. Instituto Tecnológico de Los Mochis. 61 p.
- Rodríguez del Bosque, L.A., Vejar-Cota G., Vásquez-López I., Villanueva-Jiménez J.A., López-Collado J., Alatorre-Rosas R. y Hernández-Rosas F. 2014. Plagas. En: Manejo Integral de Caña de Azúcar. H. Mata V; L.A. Rodríguez B.; V. H. Rodríguez-Morelos y E. Vázquez G. 212 p. SAGARPA-INIFAP-UANL. Pp. 147-186.
- SAS Institute, 2009. STAT/SAS User's guide, release 9.0. ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Terán, P. F. O. 2009. Manejo Ecológico de la Caña de Azúcar. Santa Cruz, Bolivia. Primera edición. 176 pp.
- Vejar-Cota, G. 2004. Control biológico del gusano barrenador del tallo (Lepidoptera: Crambidae) de la caña de azúcar en Sinaloa, pp. 70-84. En: L.A. Rodríguez-del-Bosque, G. Vejar C. y E. Cortéz M. (eds.), Taller Internacional sobre Barrenadores del Tallo de Caña de Azúcar. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2004, Los Mochis, Sinaloa, México. 104 p.
- Vejar-Cota, G., Rodríguez-del-Bosque L. A. and D. Sahagún. 2008. Economic and ecological impacts of hand removing dead hearts caused by *Diatraea considerata* (Lepidoptera: Crambidae) on sugarcane in Mexico. Southwest. Entomol. 33: 157-159.



IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN TRES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE MAÍZ

Abraham Barajas-Mendoza¹, Miguel B. Nájera-Rincón^{2,3*}, Marcela E. Sarabia-Ochoa¹, John Larsen². ¹Facultad de Biología, UMSNH. Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. ²Laboratorio de Agroecología, Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco-UNAM). Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta. C.P. 58190. Morelia, Michoacán. ³Campo Experimental Uruapan (INIFAP). Av. Latinoamericana 1101, Col. Revolución, Uruapan, Michoacán. C.P. 60150. *Autor por correspondencia:
najera.miguel@inifap.gob.mx; mnejera@cieco.unam.mx

Resumen: Se realizaron aislamientos de hongos entomopatógenos a partir de suelo rizosférico asociado al cultivo del maíz. El suelo se colectó durante el 2013 en los estados de México, Guanajuato y Michoacán. En cada Estado se definió un sitio representativo de un sistema de producción agrícola. El estado de México correspondió a un sistema tradicional, Michoacán a un sistema intermedio, y Guanajuato a un sistema intensivo. La colecta de suelo se efectuó en tres etapas fenológicas del cultivo: V6, floración y senescencia. En total se obtuvieron 343 aislados, de los cuales 200 correspondieron a *Beauveria bassiana*, 55 a *Metarhizium anisopliae*, 24, 30 y 35 para tres morfoespecies de *Paecilomyces*. El mayor número de aislados correspondió al estado de México con un total de 181 y en Guanajuato se registró el menor número con un total de 17. Se determinó la densidad de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco para cada especie y a partir de las densidades se efectuaron análisis de varianza. Para las tres especies se encontraron diferencias significativas entre sitios. Estos resultados sugieren que las prácticas agrícolas pueden afectar negativamente a las poblaciones de hongos entomopatógenos del suelo.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* spp.

Introducción

El cultivo de maíz se ve afectado por diversos factores bióticos y abióticos que llegan a disminuir considerablemente la calidad y rendimiento de su producción. Entre los factores bióticos se encuentran los insectos plaga que afectan determinadas secciones vegetativas y reproductivas de las plantas. Una de las formas de control de insectos plaga es el uso de insecticidas químicos, pero esta medida ha ocasionado diversos efectos negativos en el ambiente, en la salud del hombre y en la entomofauna benéfica. Una alternativa a los insecticidas químicos es el uso de entomopatógenos, éstos resultan inocuos para el hombre y ambiente. Así, la aplicación de agentes microbianos es cada vez es más frecuente en sistemas de manejo integrado de plagas como alternativa al uso de insecticidas químicos de amplio espectro (Lacey *et al.* 2001; Nájera-Rincón *et al.*, 2006), ya que el uso de estos microorganismos no ha registrado riesgos en su producción y aplicación, debido a la especificidad de hospederos y a su baja cantidad de metabolitos secundarios.

Entre los agentes de control microbiano se encuentran los hongos entomopatógenos (HEP), un amplio grupo de microorganismos que proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos. Entre estos servicios está la capacidad de regular las poblaciones de insectos plaga para



mantenerlas en niveles por debajo del daño económico (Motta-Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011). Las enfermedades causadas por los hongos en los insectos son muy comunes y a menudo diezman las poblaciones de insectos en epizootias espectaculares, prácticamente todos los órdenes de insectos son susceptibles a enfermedades fúngicas (Hajek y Leger, 1994). Sin embargo, su utilización en los agroecosistemas aún es limitada, y cuando son aplicados, en la mayoría de los casos no se ha evaluado su compatibilidad con las prácticas agrícolas de cada región. Además los inóculos comerciales de estos microorganismos parten generalmente de cepas de origen exótico, y en la mayoría de los casos se ha dedicado muy poca atención al manejo de las poblaciones nativas presentes en la rizósfera. Tomando en cuenta que los HEP presentan un amplio espectro de huéspedes, un vasto intervalo geográfico y un potencial para el control de especies plaga, es importante coleccionar, purificar y conservar el germoplasma de la mayor variedad de sitios y especies. La conservación de cepas en colecciones de referencia debe ser prioritaria, ya que algunos genotipos pudieran perderse debido a cambios ambientales locales; además, en México se conoce poco sobre la presencia y abundancia de hongos entomopatógenos en suelos agrícolas. Por tales razones el presente trabajo se realizó con el objetivo de aislar, identificar y conservar hongos entomopatógenos de suelos cultivados con maíz bajo diferentes sistemas de producción, en los estados de Guanajuato, México y Michoacán.

Materiales y Métodos

Toma de muestras. El presente estudio se realizó a partir de muestras de suelo rizosférico asociado a plantas de maíz. Las muestras fueron colectadas en parcelas de tres sitios, representativo cada uno de ellos, de un sistema de producción agrícola. El sitio 1 corresponde al estado de México, con un sistema de producción tradicional; el sitio 2 al estado de Guanajuato, con un sistema de producción intensivo; y el sitio 3 a Michoacán, con un sistema de producción semi-intensivo. En cada estado se seleccionaron 3 parcelas y los muestreos se realizaron en tres etapas fenológicas del cultivo (V6, floración y senescencia). Las muestras se colectaron en 5 puntos dentro de cada parcela siguiendo un esquema de cinco de oros. Para extraer las muestras se usó una pala recta, con la cual se extrajeron las plantas junto con un cepellón de suelo rizosférico de aproximadamente 20x20x20. Las muestras fueron depositadas en bolsas de plástico para transportarse y ser procesadas en laboratorio.

Cultivo y aislamiento de HEP en medio semiselectivo. De cada una de las 5 muestras por parcela se tomaron 100 g de suelo para formar una muestra representativa de cada parcela. A esta muestra se le extrajeron pequeñas rocas, raíces, organismos vivos visibles y cualquier resto de materia orgánica. A partir de esta muestra se formaron dos submuestras de 80 g para hacer las suspensiones a sembrar y tener así dos repeticiones por parcela. El suelo se licuó con 720 ml de agua destilada y 0.5 ml de dispersante (Tween al 0.01 %) durante 10 segundos. Se tomó 1 ml de esta solución madre y se hicieron diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . A partir de las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} se sembró en cajas de Petri con medio semiselectivo a base de PDA. Las cajas se incubaron durante nueve días en obscuridad total a 26°C, al término de los cuales se procedió a identificar y contar el número de colonias de HEP.



Identificación. La identificación taxonómica de los HEP se realizó a partir de las características morfológicas de las colonias y de la observación bajo microscopio óptico de sus conidióforos y conidias, para así distinguir posición, forma y color, siguiendo las claves de Alves (1986), Samson (1981), Tanada y Kaya (1993), Rombach y Roberts (1989). Para la determinación de las características físico-químicas del suelo se enviaron muestras al Laboratorio Nacional de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal del INIFAP.

Análisis estadísticos. La densidad de HEP se calculó como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa Statgraphics Centurion XVI (v. 16.1.17).

Resultados y Discusión

Se obtuvo un total de 343 aislados. En el estado de México, con un sistema de producción tradicional, se registró el mayor número (181), seguido de Michoacán (145) y, finalmente, Guanajuato, con un sistema de producción intensivo, registró el menor número (17); *M. anisopliae* estuvo ausente en el estado de México y Guanajuato (figura 1). La especie más abundante fue *B. bassiana*; la menos abundante *M. anisopliae* (figura 2).

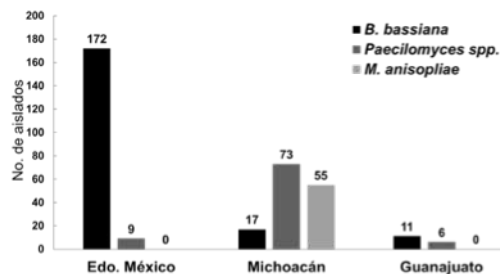


Figura 1. Número de aislados para cada especie en los tres Estados.

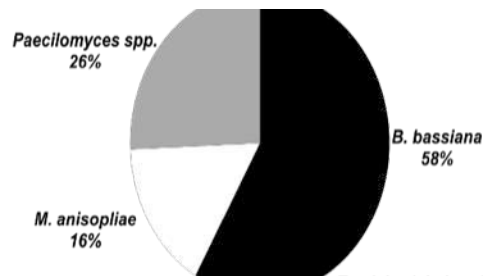
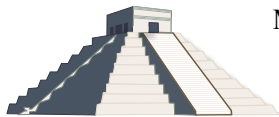


Figura 2. Abundancia relativa de los HEP.

Se determinó la densidad de UFC por gramo de suelo seco para cada especie en cada uno de los sitios y en las tres etapas fenológicas (figuras 3, 4 y 5). En cada caso se realizó un análisis de varianza multifactorial, así como una prueba de comparación de medias LSD. De acuerdo a los análisis de varianza para cada especie se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sitios y, únicamente en el caso de *B. bassiana*, se encontró una diferencia estadísticamente significativa por etapa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción de sitio y etapa. Los valores de P se ilustran en el cuadro 1.

Con base en la prueba de comparación de medias LSD, la figura 6 muestra la diferencia entre tratamientos, tomando como referencia el sitio. Ya que las prácticas agrícolas tienen impacto en la formación de las comunidades microbianas del suelo (Bajsa *et al.*, 2013) se podría inferir que el estado México presentó mayor abundancia de HEP debido a las prácticas tradicionales (sin uso de insumos químicos y siembra de variedades criollas). En cambio, en Guanajuato, con un sistema de producción intensivo, basado en el uso de insumos químicos y variedades de maíz



mejorado, se encontró la menor abundancia de HEP. Muchos estudios han concluido que los fungicidas, y en algunos casos los herbicidas, pueden reducir significativamente la germinación y el desarrollo de los HEP (Samson *et al.*, 2005; Yáñez y Francia, 2010; D'Alessandro *et al.*, 2011). Los fungicidas son más perjudiciales para los HEP. La toxicidad de los fungicidas para los HEP puede variar por principio activo y la especie de interés (Klingen y Huakeland 2006). Además, los insecticidas pueden ser indirectamente perjudiciales para los HEP cuando sus potenciales hospederos son eliminados de un agroecosistema.

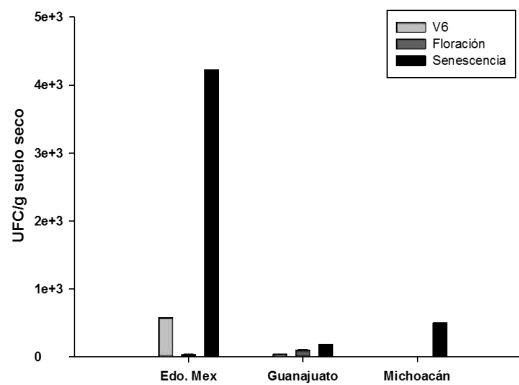


Figura 3. Densidad de UFC de *B. bassiana* en los tres sitios de estudio durante tres etapas fenológicas.

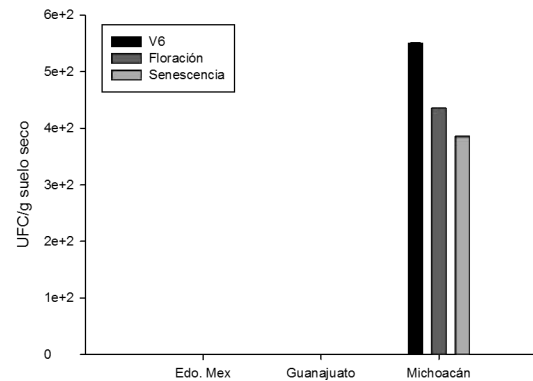


Figura 4. Densidad de UFC de *M. anisopliae* en los tres sitios de estudio durante tres etapas fenológicas.

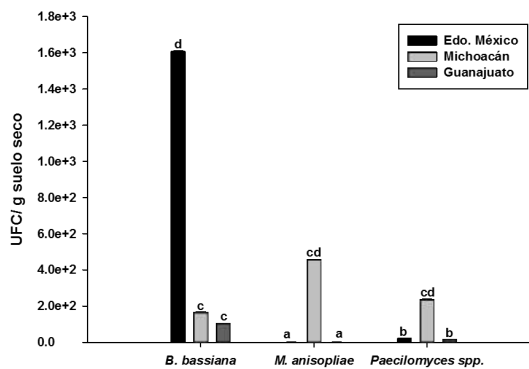


Figura 5. Densidad de UFC de *Paecilomyces spp.* en los tres sitios de estudio durante tres etapas fenológicas.

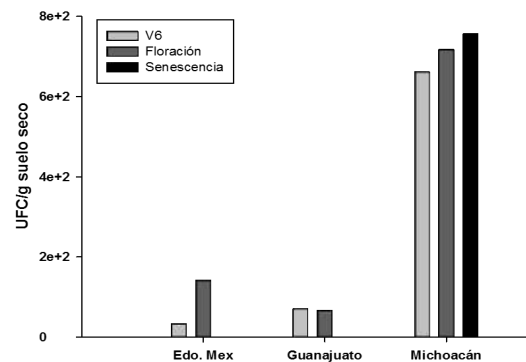


Figura 6. Densidad de UFC para cada especie de HEP en cada sitio de estudio.

Cuadro 1. Valores de P obtenidos del análisis de varianza.

	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Paecilomyces spp.</i>
Efectos principales			
A:Sitio	0.0038	0.0000	0.0000
B:Etapa	0.0000	0.9748	0.3986
Interacción AxB	0.0802	0.9986	0.8892

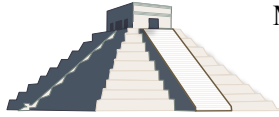


Agradecimientos.

Al Laboratorio de Agroecología (CIEco-UNAM) por facilitar las instalaciones y equipo para la realización del estudio. Al CONACYT, por el financiamiento al proyecto de investigación “Importancia de los microorganismos benéficos de la rizósfera en la producción sustentable del maíz” (con clave T2012-179319) del cual esta investigación formó parte.

Literatura Citada

- Alves, S.B. (1986). Producao de fungos entomopatogenicos. En: Controle microbiano de insectos. (1ª. Ed). pp 311-323.
- Bajsa, N., Morel, M., Braña, V. y Castro-Sowinski, S. (2013). The effect of agricultural practices on resident soil microbial communities: focus on biocontrol and biofertilization. En: Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere. Frans J. De Bruijn (Eds). pp. 687-700.
- D'Alessandro, C.P., Padin, S., Urrutia, M.I. y Lastra, C.C.L. (2011). Interaction of fungicides with the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea*. *Biocontrol Science and Technology*, 21, 189-197.
- Hajek, A.E. y Leger, R.J. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39, 293-322.
- Klingen, I., Eilenberg, J. y Meadow, R. (2002). Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 91, 191-198.
- Lacey, L.A, Frutos, R., Kaya, H. y Vails, P. (2001). Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control*, 21, 230-248
- Motta-Delgado, P.A. y Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente e Água*, 6(2), 77-90.
- Nájera-Rincón, M.B., Jackson, T.A. y López-Mora, J.D. (2006). Hongos entomopatógenos para el control de *Phyllophaga vetula* (Horn) (Coleóptera: Melolonthidae) en cultivos de maíz en Zacapu, Michoacán, México. EN: Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Castro-Ramírez, A. E., M. A. Morón y A. Aragón (Eds.) Publicación especial de El Colegio de la Frontera Sur, Fundación PRODUCE Chiapas, A. C. y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 241-262. ISBN: 970-9712-30-6
- Rombach, M.C. y Roberts D.W. (1989). *Hirsutella* species (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on Philippine insects. *Philippine Entomologist*, 7(5), 491-518.
- Samson, P.R., Milner, R.J., Sander, E.D. y Bullard, G.K. (2005). Effect of fungicides and insecticides applied during planting of sugarcane on viability of *Metarhizium anisopliae* and its efficacy against white grubs. *BioControl*, 50, 151-163.
- Samson, R.A. (1981). Identification Entomopathogenic deuteromycetes. En: Microbial control of pest and plant diseases. H.D. Burges (Eds.). pp. 1970-1980.
- Statgraphics Centurion XVI. (2011). Statgraphics Centurion 16.1.17. StatPoint Technologies, Inc.
- Tanada, Y. y Kaya, H.K. (1993) *Insect Pathology*. Academic Press, Inc., San Diego. 666 pp.
- Yañez, M. y France, A. (2010). Effects of fungicides on the development of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70, 390-398.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS Y FITOPATOGENOS



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA DE NEMATROL PLUS Y BIOXER 1000 CONTRA *Ditylenchus dipsaci* (TYLENCHIDA: ANGUINIDAE)

Agustín Hernández-Juárez^{*2}, Melchor Cepeda-Siller¹, Nazario Francisco-Francisco², Reyna Ivonne Torres-Acosta², Epifanio Castro-Del Ángel² y Gabriel Gallegos Morales¹. Profesor-Investigador¹. Estudiante de posgrado². Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. *chinoahj14@hotmail.com.

Resumen. El nematodo de los bulbos *Ditylenchus dipsaci* Kuhn, 1857 (Tylenchida: Anguinidae) se ha convertido en un grave problema en el cultivo de ajo *Allium sativum* L. 1753 (Liliales: Liliaceae), cuya forma de control es la aplicación de nematicidas químicos al suelo infestado, sin embargo; el costo, la residualidad y fitotoxicidad de estos nematicidas, limitan su aplicación. Se evaluaron en cinco tratamientos con cuatro repeticiones, los nematicidas orgánicos NEMATROL PLUS a diferentes dosis (2, 3 y 4 L/ha/400L agua) y el BIOXER 1000 a 20 L/ha/400 L agua, además de un testigo solo con agua, sobre el nematodo *Ditylenchus dipsaci*, bajo condiciones de laboratorio. Se recolectó suelo con nematodos de un cultivo de ajo, Var. Tacuascaro y se extrajeron los nematodos por el método de embudo de Baerman. Después de 24 horas de ser colocado el embudo se contabilizó la población inicial de nematodos e inmediatamente se regresaron al embudo. A continuación se colocaron los tratamientos a evaluar directamente en el embudo y 24 horas después se contabilizó la población final (vivos). La mortalidad se evaluó mediante la diferencia entre población inicial-población final y se analizó mediante un PROC ANOVA con medias de Tukey ($\alpha=0.05$). La evaluación demostró la eficacia de los tratamientos para el control de *D. dipsaci*, con una mortalidad que fluctuó entre 77 y 98.4 %, con mayor mortalidad en el NEMATROL PLUS a una dosis 4 L/Ha con 98.4 % y el BIOXER 1000 a una dosis de 20 L/Ha con 97.3 % de mortalidad y para el testigo se encontró una mortalidad significativamente menor con una supervivencia de 96.3-99 %. Esto indica que el NEMATROL PLUS Y BIOXER 1000, son alternativas útiles para el control de *D. dipsaci*, en cualquier tipo de agricultura, y pueden sustituir a los fumigantes tóxicos, por sus características de tipo orgánico-biológico.

Palabras clave: *Allium sativum*, control, *Ditylenchus dipsaci*, fitopatógeno, nematodos.



ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE ESPINOSILLA (*Loeselia mexicana*) SOBRE *Fusarium oxysporum* IN VITRO

Alma Teresa Miranda-Quiroz¹, Joshua Emmanuel Hernández-Ramírez¹, Vania Marilyn Marín-Rangel¹, **David García-Hernández¹** y Silvia Patricia Fernández-Pavía^{2,1}. ¹ Universidad Tecnológica de Morelia. Calle Vicepresidente Pino suarez No. 750, Cd. Industrial CP 58200. Morelia, Mich. México. ² Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Mich. dasahim@hotmail.com

Resumen. A nivel mundial, del 20-40% de los cultivos son destruidos por hongos fitopatógenos, destacan *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Phytophthora* y *Pythium* [Agrios, 2005]. El uso excesivo de fungicidas químicos, ha incrementado la resistencia de algunos patógenos [Ochoa-Fuentes *et. al*; 2012]; provocando problemas de contaminación ambiental, el riesgo potencial de envenenamiento en animales y seres vivos, de ahí la necesidad de alternativas naturales para el control de plagas y patógenos. Las plantas producen metabolitos secundarios: aceites, gomas, resinas, saponinas, ácidos orgánicos, alcaloides con actividad antifúngica y antimicrobiana [Jespers y Wards, 1993]; e inducen respuestas de defensa de la planta huésped. *Loeselia mexicana* Lamb (Polemoniaceae) conocida como espinosilla, hierba de la virgen, tarepi (purepecha); originaria de México; es una maleza anual de aproximadamente 80 cm. Crece en diversos climas, entre los 80 y 3900 msnm. Es utilizada en enfermedades de la piel, diarrea, fiebre, etc. Ha sido poco estudiada desde el punto de vista farmacológico o químico [Navarro-García *et. al*; 2011], algunos estudios demuestran la presencia de alcaloides, taninos, saponinas, aceites esenciales y terpenoides pentacíclicos [Jiménez *et. al*; 1998]. *Fusarium* es un grupo de hongos fitopatógenos considerados de gran importancia en el área agrícola [Hadi, *et. al*; 2013]. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antifúngica de extractos etanólicos de espinosilla sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* in vitro. A partir de extractos etanólicos de hoja, tallo y raíz se determinó la inhibición del crecimiento micelial, a diferentes concentraciones (10, 7,5, 5, 2.5 y 1%) por el método de medio envenenado, se utilizó un control envenenado con etanol y uno sin etanol. Los resultados mostraron que los extractos etanólicos de tallo a concentraciones de 10%, inhibieron totalmente el crecimiento de *F. oxysporum*. Por lo cual, los metabolitos presentes en el extracto etanólico presentan un efecto antifúngico sobre *F. oxysporum*.

Palabras clave: Espinosilla, actividad antifúngica, *Fusarium*.

A.B.K. Jespers and M.A.Wards. (1993). Natural products in plant protection, Netherland J.Plant Pathol.99 (3), 109-117.

Agrios, G.N. (2005) Plant Pathology. 5th Edition, Elsevier Academic Press, New York.

Hadi Mahshid, Kashefi Bahareh, Sobhanipur Adeleh and Rezaarabsorkhi Mohammad (2013). Study on Effect of Some Medicinal Plant Extracts on Growth and Spore Germination of *Fusarium oxysporum* schlecht. *In vitro*. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 13 (4): 581-588, 2013.

Jiménez EM, Velásquez K, Lira Rocha A, Ortega A, Diaz A. (1998). Structure of a pentacyclic triterpenyl angelate from *Loeselia mexicana*. *Can J Chem*; 67: 2071-7.

Navarro-García Victor M., Rojas Gabriela, Avilés Margarita, Fuentes Macrina and Zepeda Gerardo. (2011). In vitro antifungal activity of coumarin extracted from *Loeselia mexicana* *Brand Mycoses* 54, e569-e571.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Ochoa Fuentes Ym, E Cerna Chávez, J Landeros Flores, S Hernández Camacho, Jc Delgado Ortiz (2012).
Evaluación *In Vitro* de la Actividad Antifúngica de Cuatro Extractos Vegetales Metanólicos para el Control
de Tres Especies de *Fusarium* Spp. Revista Internacional De Botánica Experimental 81: 69-73.



INHIBICIÓN DE LA GERMINACIÓN DE CONIDIOS DE HONGOS FITOPATÓGENOS POR LA CEPA CP-5 DE *Streptomyces* sp.

Raúl Asael Rodríguez-Villarreal¹, **Raúl Rodríguez-Guerra²**, Patricia Rivas-Valencia³, Carlos Eduardo Hernández-Luna¹, Sergio Manuel Salcedo-Martínez¹. ¹Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Ciudad Universitaria, C.P. 66450 San Nicolás de los Garza Nuevo León, México; ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental General Terán, km. 31 carretera Montemorelos-China, C.P. 67400, General Terán, Nuevo León, México. ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Valle de México, km 13.5 carretera Los Reyes-Texcoco, Coatlinchán, Estado de México, México, C.P. 56250. rodriguez.raul@inifap.gob.mx.

Resumen. Se evaluó la capacidad de la cepa CP-5 de *Streptomyces* sp. sobre la germinación de conidios de cinco fitopatógenos en confrontaciones duales, la acción fungicida contra cuatro de ellos mediante la remoción de conidios de las confrontaciones, y sobre el biocontrol de *Colletotrichum musae* en frutos de plátano por filtrados libres de células. La germinación de conidios fue inhibida de un 98.5 al 100 % y los conidios germinados fueron incapaces de desarrollar colonias, sugiriendo que CP-5 también tiene actividad antagónica contra las hifas de estos fitopatógenos. La remoción de conidios de la confrontación por 24 h con CP-5 demostró una potente acción fungicida. El filtrado libre de células de una colonia de 19 días de edad de CP-5 evitó la formación de apresorios, el desarrollo de lesiones más allá del sitio de inoculación y la producción de acérvulos en frutos inoculados con *C. musae*; mientras que el filtrado de una colonia de 260 días de edad fue similar al testigo inoculado con el fitopatógeno. Los resultados demuestran que la cepa CP-5 tiene capacidad fungicida contra conidios de hongos fitopatógenos y que su filtrado libre de células protege de la antracnosis a frutos de plátano inoculados con *C. musae*.

Palabras clave: *Colletotrichum* spp., *Fusarium oxysporum*, *Monilinia fructicola*, *Penicillium* sp., capacidad fungicida, biocontrol.

Introducción

Los actinomicetos son el mayor grupo de microorganismos que producen compuestos con actividad biológica, por lo que han recibido gran atención en la búsqueda de nuevas cepas y especies capaces de tener alguna actividad biológica en diversos campos de aplicación, incluyendo el área agrícola (Sharma, 2014). En México se han identificado cepas de actinomicetos aisladas de suelos agrícolas (Castillo-Fabela *et al.*, 2001), de hormigas (Dávila *et al.*, 2013) y de suelos no cultivados (Evangelista-Martínez, 2014) que han mostrado actividad antagónica contra diversos fitopatógenos. Sin embargo, es necesario ampliar el número de microorganismos con potencial como agentes de biocontrol que cuenten con un mayor espectro de acción contra fitopatógenos para el desarrollo de nuevos productos o subproductos. El objetivo de esta investigación consistió en determinar la capacidad de la cepa CP-5 de *Streptomyces* sp. para inhibir la germinación de conidios de cinco especies de hongos fitopatógenos y la capacidad de biocontrol de filtrados libres de células en frutos de plátano inoculados con *C. musae*.



Materiales y Métodos

Cepas. La cepa CP-5 de *Streptomyces* fue aislada de suelo del Cerro del Potosí en el 2012. Los fitopatógenos usados fueron *C. gloeosporioides*, *C. musae*, *Monilinia fructicola*, *Penicillium* sp. y *Fusarium oxysporum*.

Inhibición de la germinación de conidios. La cepa CP-5 se inoculó en el centro de cajas Petri conteniendo papa dextrosa agar (PDA), y se mantuvo en crecimiento por 8 días a 26 °C previo a la inoculación con conidios de los fitopatógenos, en cuatro puntos y a una distancia aproximada de 1 cm alrededor de la colonia de CP-5. El testigo consistió en inocular conidios en PDA. Se establecieron cuatro repeticiones tanto con CP-5 como del testigo. A las 24 h se cuantificó, en un campo microscópico a 150 X, los conidios germinados en los cuatro puntos de inoculación por caja Petri y se obtuvo el porcentaje promedio de germinación por repetición en base al total de conidios observados. Sólo en el testigo de *M. fructicola* fue posible determinar la germinación, mientras que en los testigos de los demás fitopatógenos el crecimiento micelial fue denso e imposibilitó la cuantificación de conidios individuales germinados, por lo que se consideró el 100 % de germinación en éstos. A los cuatro días de establecidas las confrontaciones se determinó el porcentaje de puntos de inoculación de conidios que desarrollaron colonias.

Tipo de antibiosis sobre conidios. Se evaluó la capacidad fungicida de CP-5 sobre conidios de *C. musae*, *C. gloeosporioides*, *Penicillium* sp. y *F. oxysporum*. Se inocularon 10 µL de una suspensión de 500 mil conidios mL⁻¹ en cuatro puntos (repeticiones) alrededor de colonias de CP-5 de 20 días de edad, crecidas en el centro de cajas Petri conteniendo PDA; como testigos se inocularon las suspensiones de cada fitopatógeno en cuatro puntos de cajas Petri conteniendo sólo PDA. A las 24 h se determinó la ocurrencia o no de germinación en los puntos inoculados con conidios, y se obtuvo el porcentaje de puntos en los que hubo al menos un conidio germinado.

A partir de la confrontación con CP-5, se transfirieron e invirtieron en una nueva caja Petri con PDA los fragmentos de medio de cultivo en que se inocularon los conidios, para dejarlos depositados y determinar su viabilidad transcurridas otras 24 h. Se determinó el porcentaje de conidios germinados. La germinación mayor al 98 % de los conidios se consideró que es debida a un efecto fungistático, mientras que una germinación menor al 2 % se consideró que hubo un efecto fungicida por parte de CP-5. Adicionalmente, a las 72 h se determinó el porcentaje de colonias que se desarrollaron a partir de los conidios depositados en las cajas Petri conteniendo PDA. Se excluyó a *M. fructicola* de este experimento debido a que fue incapaz de desarrollar colonias visibles en el experimento anterior.

Inhibición de apresorios de *C. musae*. En frutos de plátano se determinó la capacidad del filtrado libre de células, a partir de colonias de 19 y 260 días de edad, de la cepa CP-5 sobre la formación de apresorios a partir de conidios, el diámetro de lesión y la formación de acérvulos de *C. musae*. Los tratamientos consistieron del testigo (20 µL de agua estéril), filtrado (10 µL de agua con 10 µL de filtrado), conidios de *C. musae* (10 µL de agua con 10 µL de suspensión de



conidios) y filtrado más conidios (10 μ L de filtrado con 10 μ L de suspensión de conidios). Los tratamientos se aplicaron en tres sitios de cada fruto (cuatro por tratamiento). A las 24 y 48 h se observó bajo un microscopio estereoscópico a 56 X la ocurrencia o no de apresorios en cada sitio de inoculación, se obtuvo el porcentaje de sitios con presencia de apresorios en cada fruto y se realizó un análisis estadístico con los datos obtenidos a las 48 h. A los nueve días se midió el diámetro de las lesiones (cm) y se determinó la ocurrencia de acérvulos en los sitios inoculados; con los datos se obtuvo un promedio y un porcentaje de ambas variables respectivamente, y se analizaron estadísticamente.

Resultados y Discusión

Inhibición de la germinación de conidios. Los conidios de *C. gloeosporioides*, *C. musae* y *M. fructicola* fueron incapaces de germinar a las 24 h de haberse establecido la confrontación con CP-5. Mientras que para *Penicillium* sp. y *F. oxysporum* la germinación fue de 1.5 y 0.5 %, respectivamente (Cuadro 1), pero no desarrollaron colonias. Lo anterior demuestra que durante la confrontación de conidios de los fitopatógenos con CP-5, estos son inhibidos en su germinación, y aunque algunos conidios de *Penicillium* sp. y *F. oxysporum* germinaron sus tubos germinativos fueron incapaces de desarrollar colonias a las 96 h. Estos resultados indican que CP-5 tiene una fuerte actividad antagónica sobre la germinación de conidios de los fitopatógenos evaluados y los tubos germinativos de los conidios.

Cuadro 1. Conidios germinados a las 24 h, y colonias desarrolladas a los cuatro días, durante la confrontación de cinco fitopatógenos con CP-5.

Tratamiento	Conidios germinados (%)	(n)*	Colonias desarrolladas (%)	(n)**
<i>C. gloeosporioides</i>	100.0 a	Nd***	100.0 a	4
CP-5 vs <i>C. gloeosporioides</i>	0.0 b	257.2	0.0 b	4
<i>C. musae</i>	100.0 a	Nd	100.0 a	4
CP-5 vs <i>C. musae</i>	0.0 b	283.5	0.0 b	4
<i>Penicillium</i> sp.	100.0 a	Nd	100.0 a	4
CP-5 vs <i>Penicillium</i> sp.	1.5 b	255.2	0.0 b	4
<i>F. oxysporum</i>	100.0 a	Nd	100.0 a	4
CP-5 vs <i>F. oxysporum</i>	0.5 b	275.0	0.0 b	4
<i>M. fructicola</i>	80.2 a	284.0	0.0 a	4
CP-5 vs <i>M. fructicola</i>	0.0 b	270.7	0.0 a	4

*= promedio de conidios observados por repetición; **= promedio de puntos inoculados observados por repetición; ***= no determinado.

Tipo de antibiosis sobre conidios. Los conidios inoculados en PDA desarrollaron colonias y en la confrontación con CP-5 no se observó germinación con ningún fitopatógeno a las 24 horas.



Los conidios fueron incapaces de germinar a las 24 posteriores de ser removidos de las confrontaciones y a las 72 horas sólo se desarrolló una colonia de *C. gloeosporioides* y *Penicillium* sp. (Cuadro 2). Algunas investigaciones han evaluado la capacidad antagónica de cepas de *Streptomyces* en confrontaciones duales (Dávila *et al.*, 2013; Kanini *et al.*, 2013; Shahbazi *et al.*, 2014) o sus productos (Alam *et al.*, 2012; Taechowisan *et al.*, 2012) sobre la germinación de conidios de algunos de los fitopatógenos usados en esta investigación, pero sólo se encontró documentada la acción fungicida o fungistática por *Streptomyces* sp. contra *Penicillium digitatum* (Najmeh *et al.*, 2014). Bajo las condiciones *in vitro* utilizadas en esta investigación, se demuestra que la cepa CP-5 de *Streptomyces* sp. tiene una acción fungicida contra conidios de los cuatro fitopatógenos evaluados.

Cuadro 2. Germinación a las 24 h y desarrollo de colonias a las 72 h a partir de conidios de cuatro especies de fitopatógenos después de confrontados con CP-5 por 24 h.

	Conidios germinados		Colonias desarrolladas	
	(%)	(n)*	(%)	(n)
<i>C. gloeosporioides</i>	0.0	529	25.0	4.0
<i>C. musae</i>	0.0	522	0.0	4.0
<i>F. oxysporum</i>	0.0	941	0.0	4.0
<i>Penicillium</i> sp.	0.0	844	25.0	4.0

*= número de observaciones.

Inhibición de apresorios de *C. musae*. El filtrado libre de células de la colonia de CP-5 de 19 días de edad evitó la formación de apresorios y producción de acérvulos en frutos, y el diámetro de lesiones fue similar al testigo y al tratamiento con filtrado más conidios de *C. musae* ($p=0.01$). En el filtrado libre de células de CP-5 de 260 días de edad, los dos tratamientos con inoculación de *C. musae* fueron similares entre sí para el porcentaje de sitios con formación de apresorios y producción de acérvulos, pero diferentes al testigo y al filtrado solo; mientras que para el diámetro de lesión hubo diferencias ($p=0.01$) entre los cuatro tratamientos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de filtrado libre de células de colonias de dos edades de CP-5 sobre la formación de apresorios (a las 24 h), y diámetro de lesión y formación de acérvulos de *C. musae* (a los 9 días) en frutos de plátano.

Tratamiento	Filtrado de colonia de 19 días			Filtrado de colonia de 260 días		
	Sitios con formación de apresorios (%)	Diámetro de lesión (cm)	Lesiones con acérvulos (%)	Sitios con formación de apresorios (%)	Diámetro de lesión (cm)	Lesiones con acérvulos (%)
Testigo	0.0 a	0.61 a	0.0 a	0.0 a	0.40 c	0.0 a
Filtrado	0.0 a	0.59 a	0.0 a	0.0 a	0.60 bc	0.0 a
<i>C. musae</i>	100.0 b	1.17 b	100.0 b	100.0 b	1.35 a	100.0 b
Filtrado + <i>C. musae</i>	0.0 a	0.62 a	0.0 a	100.0 b	0.97 ab	91.66 b

Valores promedio de cada tratamiento seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente ($p=0.01$; Tukey).



El filtrado libre de células de una colonia joven de CP-5 (19 días de edad) es capaz de inhibir la formación de apresorios de *C. musae*, reducir el área dañada por el fitopatógeno y evitar el desarrollo de acérvulos en frutos de plátano. También, se demostró que esta actividad se pierde en filtrados obtenidos de colonias de 260 días de edad. Resultados similares a los obtenidos en esta investigación sobre la reducción del diámetro de las lesiones en fruto han sido presentados por Ara *et al.* (2012). Estos últimos autores inocularon numerosas cepas de actinomicetos en frutos de plátano y encontraron una identificada como *Streptomyces* sp. capaz de inhibir cerca del 85% los daños causados por la enfermedad cuando se inoculó *C. musae*. Se considera que este es el primer trabajo en el que se demuestra el efecto de filtrados libres de células de actinomicetos sobre la formación de apresorios de *C. musae* en su hospedero.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero otorgado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (No. de registro 1322272046; INIFAP) para la realización de esta investigación como parte del proyecto “Desarrollo y establecimiento de estrategias de selección y evaluación de agentes de biocontrol contra hongos y bacterias fitopatógenas”.

Literatura citada

- Alam, M., S. Dharni, A. Khaliq, S.K. Srivastava, A. Samad and M.K. Gupta. 2012. A promising strain of *Streptomyces* sp. with agricultural traits for growth promotion and disease management. *Indian. Exp. Biol.* 50:559-568.
- Ara I., H. Rizwana, M.R. Al-Othman and M.A. Bakir. 2012. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. *African Journal of Microbiology Research* 6:3879-3886.
- Castillo-Fabela, E., G. Gallegos-Morales, F.D. Hernández-Castillo, M. Cepeda-Siller y V.M. Zamora-Villa. 2001. Efectividad *In Vitro* de actinomicetos aislados de rizósfera de papa sobre *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:203-207.
- Dávila M., M.D., G. Gallegos M., F.D. Hernández C., Y.M. Ochoa F. y A. Flores O. 2013. Actinomicetos antagónicos contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:1187-1196.
- Evangelista-Martínez Z. 2014. Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30:1639-1647.
- Kanini G.S., E.A. Katsifas, A.L. Savvides and A.D. Karagouni. 2013. *Streptomyces rochei* ACTA1551, an indigenous Greek isolate studied as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *BioMed Research International*. 2013:10p.
- Najmeh N., G.H. Shahidi Bonjar, S. Sareh and L. Shahidi Bonjar. 2014. Biological control of citrus green mould, *Penicillium digitatum*, by antifungal activities of *Streptomyces* isolates from agricultural soils. *Af. J. Microbiol. Res.* 8:1501-1509.
- Shahbazi P., Md.Y. Musa, G.Y.A. Tan, F.A. Avin, W.F.A. Teo and V. Sabaratnam. 2014. *In vitro* and *in vivo* evaluation of *Streptomyces* suppressions against anthracnose in chili caused by *Colletotrichum*. *Sains Malaysiana* 43:697-705.
- Sharma M. 2014. Actinomycetes: Source, identification, and their applications. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3:801-832.
- Taechowisan T., S. Chanaphat, W. Ruensamran and W.S. Phutdhawong. 2012. Antifungal activity of 3-methylcarbazoles from *Streptomyces* sp. LJK109; an endophyte in *Alpinia galangal*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2:124-128.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Taechowisan T., C. Lu, Y. Shen and S. Lumyong. 2005. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Microbiol.* 151:1691-1695.



CORRECCIÓN DE pH DEL SUELO Y REDUCCIÓN DE LA PUDRICIÓN DE MAZORCA (*Fusarium* spp.) EN EL CULTIVO DE MAÍZ

Jesús Gaudencio Aquino-Martínez. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), Laboratorio de Fitopatología, Conjunto Sedagro S/N, Metepec, edo. de México, CP 52140. jg_aquino@hotmail.com.

Resumen. El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo más importante en el Estado de México y es afectado por enfermedades de la mazorca. Los patógenos que ocasionan la pudrición de la mazorca como *Fusarium* spp., son favorecidos por el pH ácido del suelo. Con el fin de corregir el pH del suelo y disminuir la incidencia de pudrición de la mazorca se hizo un estudio de encalado de suelo en el ciclo agrícola primavera-verano 2013. Se evaluaron tres dosis de carbonato de calcio (Starkopp), aplicado al suelo antes de la siembra, bajo un diseño experimental de bloques al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. La aplicación de Starkopp elevó el pH y corrigió la acidez del suelo de manera muy similar a la cal agrícola convencional, pero a una dosis menor. La corrección de la acidez del suelo con Starkopp incrementó la altura de planta, diámetro de tallo, rendimiento de grano del maíz y disminuyó la pudrición de la mazorca por *Fusarium* spp., por lo que se puede recomendar en paquete tecnológico del cultivo y manejo integrado de la enfermedad en los valles altos de la entidad.

Palabras clave: *Zea mays* L., pH, encalado, pudrición de mazorca, *Fusarium* spp.

Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo más importante en el Estado de México con una superficie cosechada de 566,620 ha, una producción estimada en 2'039,234.44 t y rendimiento promedio de 3.60 t ha⁻¹ (SEDAGRO, 2011). Cada ciclo la producción de maíz depende de la ocurrencia de un buen temporal, siembra de variedades mejoradas, nutrición de la planta, control oportuno de maleza y combate adecuado de plagas y enfermedades, entre otros. El uso continuo de fertilizantes químicos, aunado a la naturaleza ácida de los suelos de la zona, ha provocado que los suelos destinados al cultivo de maíz sean cada vez más ácidos, situación que conlleva al poco aprovechamiento de los nutrimentos por la planta, escaso desarrollo de la misma, disminución en el rendimiento del cultivo, y desarrollo de patógenos de la raíz y tallo del maíz, principalmente aquellos que ocasionan la pudrición del tallo y mazorca como *Fusarium* spp. Por esta razón, se realizó un estudio con el de: a) Determinar las ventajas del uso de carbonato de calcio (Starkopp) en la corrección del pH y reducción de la pudrición de mazorca en el cultivo de maíz, b) Incrementar la eficiencia biológica y agronómica del cultivo de maíz en suelo encalado con Starkopp.

Materiales y Métodos

El estudio se hizo en el ciclo agrícola primavera-verano 2013, en el Campo Experimental del CITT Rancho Arroyo del Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), Almoloya de Juárez, México. Se estableció en un



suelo de textura franca bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con 5 tratamientos (tres dosis de Starkopp, una dosis de cal agrícola y un testigo) y 4 repeticiones (Cuadro 1). Cada parcela experimental estuvo constituida por cuatro surcos de 5 m de largo por 0.9 m de ancho, considerando como parcela útil los dos surcos centrales. La aplicación de Starkopp se hizo después del surcado y un día antes de la siembra, diluyendo el producto en agua y aplicándolo en aspersión dirigida al fondo del surco con una aspersora manual. A lo largo del ciclo del cultivo se realizaron seis muestreos de suelo en la rizósfera de la planta y se determinó el pH en el laboratorio con un potenciómetro, así como altura de planta, diámetro de tallo, porcentaje de mazorcas podridas y rendimiento de grano.

Cuadro 1. Tratamientos y dosis de Starkopp evaluados para corregir el pH del suelo y disminución de la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp. en el cultivo de maíz en Rancho Arroyo, Almoloya de Juárez, Estado de México.

Tratamiento	Ingrediente activo	Concentración (%)	Dosis/ha
1. Starkopp	Carbonato de calcio	66%	30 L
1. Starkopp	Carbonato de calcio	66%	40 L
1. Starkopp	Carbonato de calcio	66%	50 L
4. Cal agrícola	Carbonato de calcio	-	2.25 t*
5. Testigo		-	-

* 1.5 t.ha⁻¹ para incrementar 1 grado de pH del suelo según el valor de pH determinado en laboratorio.

Resultados y Discusión

pH. Después del encalado de suelo se observaron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre los tratamientos a los 15, 30, 45, 60 y 90 días de la siembra. Con la incorporación de carbonato de calcio en formulación floable (Starkopp) y en polvo (cal agrícola), desde el inicio del cultivo (15 dds) se notó un incremento del pH del suelo con respecto al valor inicial; este incremento fue de 1.61, 1.54, 1.67 y 1.75 unidades con Starkopp (30 L.ha⁻¹), Starkopp (40 L.ha⁻¹), Starkopp (50 L.ha⁻¹) y Cal agrícola, respectivamente; en el testigo el aumento fue de 0.31 unidades. Al final de los muestreos (90 dds), el incremento fue de 1.53 en T1 (Starkopp 30 L.ha⁻¹), 1.57 en T2 (Starkopp, 40 L.ha⁻¹), 1.66 en T3 (Starkopp, 50 L.ha⁻¹) y 1.73 unidades en T4 (Cal agrícola, 2.25 t.ha⁻¹); en el testigo el incremento fue de 0.26 unidades (Cuadro 2). La acidez del suelo se elimina mediante una reacción química de neutralización con un material alcalino, dando como resultado la formación de una sal y agua (Castellanos *et al.*, 2000). A pesar de que en este estudio, el mayor incremento de pH del suelo se logró con la cal agrícola, la aplicación de Starkopp tiene varias ventajas como su granulometría, formulación, forma de aplicación en aspersión al suelo con equipo terrestre convencional, menor dosis y costo.

Altura de planta y diámetro de tallo. Las plantas de los tratamientos de Starkopp y cal agrícola superaron la altura de las plantas del testigo, el mejor tratamiento (T1) superó en 25.8 cm la altura de las plantas del testigo. De igual manera, las plantas de los tratamientos de Starkopp y de la cal agrícola tuvieron mayor diámetro que las del testigo, T3 superó en 6.5 mm (25.7%) el diámetro de las plantas del testigo (Cuadro 3). La corrección del pH del suelo con Starkopp incrementó la altura de planta y diámetro del tallo de maíz.



Cuadro 2. Valores promedio de pH del suelo por tratamiento de Starkopp en el cultivo de maíz.

Tratamiento	0 dds	15 dds	30 dds	45 dds	60 dds	90 dds
1. Starkopp, 30 L.ha ⁻¹	4.48 b	6.09 ab	5.80 b	6.11 a	5.90 a	6.01 b
2. Starkopp, 40 L.ha ⁻¹	4.51 ab	6.05 b	6.01 ab	6.13 a	5.92 a	6.08 b
3. Starkopp, 50 L.ha ⁻¹	4.49 b	6.16 ab	6.09 ab	6.14 a	6.10 a	6.15 ab
4. Cal agrícola, 2.25 t.ha ⁻¹	4.63 a	6.38 a	6.27 a	6.13 a	6.07 a	6.36 a
5. Testigo	4.49 b	4.80 c	4.79 c	4.83 b	4.76 b	4.75 c

dds = días después de la siembra. DMS ($\alpha = 0.05$). Letras iguales en la misma columna significan igualdad estadística.

Cuadro 3. Altura de planta, diámetro de tallo, rendimiento de grano y pudrición de la mazorca promedio por tratamiento de Starkopp en el cultivo de maíz.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Rendimiento de grano (kg/ha)	Pudrición de mazorca (%)
1. Starkopp, 30 L.ha ⁻¹	314.25 a	29.37 a	8805.5 b	7.97 a
2. Starkopp, 40 L.ha ⁻¹	312.00 ab	28.87 a	8766.5 b	8.75 ab
3. Starkopp, 50 L.ha ⁻¹	304.25 b	31.72 a	10338.8 a	9.30 ab
4. Cal agrícola, 2.25 t.ha ⁻¹	308.50 ab	30.20 a	8333.3 b	13.37 b
5. Testigo absoluto	288.50 c	25.22 b	6722.3 c	22.52 c

DMS ($\alpha = 0.05$). Letras iguales en la misma columna significan igualdad estadística.

Rendimiento de grano. Los tres tratamientos de Starkopp y el de cal agrícola incrementaron el rendimiento de grano con respecto al testigo, siendo el mejor tratamiento la dosis de 50 L.ha⁻¹ que superó al testigo con 3617 kg, seguido de T1 (30 L.ha⁻¹) y T2 (40 L.ha⁻¹) con 2083 y 2044 kg, respectivamente; mientras que la cal agrícola superó al testigo con 1611 kg (Cuadro 3). La aplicación de cal agrícola incrementa las cosechas porque además de mejorar la acidez del suelo aporta nutrientes, principalmente calcio y magnesio (NMX-K-602-1998-SCFI). Sin embargo, mientras más fina sea la partícula del material encalante como el caso del carbonato de calcio de Starkopp, se incrementa su eficiencia en el mejoramiento de la acidez del suelo, lo cual redundará en un mayor crecimiento de las raíces y mejor aprovechamiento de los nutrientes, tanto los incorporados como aquellos retenidos por las partículas del suelo, que se refleja en un incremento en el rendimiento de los cultivos como el maíz (Urrutia, 1982; Castellanos *et al.*, 2000).

Pudrición de la mazorca. La mayor incidencia de pudrición de la mazorca por *Fusarium* se encontró en el testigo absoluto con 22.52% y luego la cal agrícola con 13.37%. Los tratamientos de Starkopp presentaron la menor incidencia de pudrición de la mazorca, T1 redujo la enfermedad en 14.55% con relación al testigo, mientras que T2 y T3 la disminuyó en 13.77 y 13.2%, respectivamente (Cuadro 3). Las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición rosada de la mazorca del maíz fueron *Fusarium verticillioides* y *F. graminearum* (CIMMYT, 1995; Aquino *et al.*, 2010). Los hongos patógenos presentes en el suelo requieren para su sobrevivencia, multiplicación e infección de la planta un pH ácido (menor a 5), además de otras condiciones ambientales (Díaz, 1993; Romero, 1996). Cuando se encala el suelo, se incrementa el pH por arriba de 5.5 y esa condición reduce la incidencia de enfermedades causadas por hongos que son transportados por el suelo como *Fusarium* spp.



Conclusiones

La aplicación de carbonato de calcio (Starkopp) al suelo antes de la siembra de maíz elevó el pH y corrigió la acidez del suelo de manera muy similar a la cal agrícola, pero con una dosis menor. La corrección de la acidez del suelo con Starkopp incrementó la altura de planta y diámetro de tallo del maíz. Starkopp elevó el rendimiento de grano y disminuyó la pudrición de la mazorca por *Fusarium* spp., por lo que se puede recomendar en paquete tecnológico del cultivo y manejo integrado de la enfermedad en los valles altos de la entidad.

Literatura Citada

- Aquino, M.J.G., Ríos, D.G., Hernández, S.R.S.V. 2010. Manejo integrado de plagas rizófagas y enfermedades de la mazorca del maíz. Informe de investigación. ICAMEX; Metepec, Estado de México, México. 31 p.
- Castellanos, J.Z., Uvalle, J.X., Aguilar, A. 2000. Memoria del curso sobre interpretación de análisis de suelos, aguas agrícolas, plantas y ECP. Universidad Autónoma Chapingo; Chapingo, México, México. 188 p.
- CIMMYT. 1995. Manejo de los ensayos e informe de los datos para el programa de ensayos internacionales de maíz del CIMMYT. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo; México, D. F. 21 p.
- Díaz, A. 1993. Enfermedades infecciosas de los cultivos. Trillas, México, D.F., México. 288 p.
- NMX-K-602-1998-SCFI. 1998. Industria química-Cal para uso agrícola-Especificaciones. Dirección General de Normas. México, D. F. 17 p.
- SEDAGRO. 2011. Cierre de producción agrícola 2010. Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Metepec, México, México. 1 p.
- Urrutia, S. 1982. Conocimiento del suelo agrícola. Centro Nacional de Productividad de México, A. C. México, D. F. 249 p.



REPORTE PRELIMINAR DE LA ABUNDANCIA DE ACTINOMICETOS ANTAGÓNICOS EN SUELOS DE HUERTOS DE MANZANO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA

Daniel Alonso Pérez-Corral¹, Nancy Yasmín García-González², Claudio Rios-Velasco³, María Fernanda Ruiz-Cisneros³, David I. Berlanga-Reyes³.¹ Estudiante de Postgrado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua. E-mail: alonso.perez@estudiantes.ciad.mx.² Estudiante de Licenciatura, Universidad Autónoma Antonio Narro, División de Agronomía, Departamento de Horticultura, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.³ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Resumen. Las plantas cultivadas durante su ciclo de vida, son susceptibles al ataque de una gran diversidad de patógenos, particularmente hongos causantes de enfermedades radiculares. Estos son controlados por fungicidas sintéticos, sin embargo, debido a su uso excesivo e indiscriminado, se ha reducido su efectividad. Una alternativa para revertir esta problemática, es el control biológico, mediante la integración de microorganismos antagónicos, por lo que el objetivo fue aislar actinomicetos nativos de huertos de manzano del estado de Chihuahua. Para lo cual se recolectaron muestras de suelo cercano a la rizosfera de árboles de manzano en huertos de los principales municipios productores del estado de Chihuahua, con el fin de aislar actinomicetos antagónicos al hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. Para lo cual se realizaron diluciones seriadas de las muestras en agua peptonada, procediendo a sembrarlas por difusión en placa en diez diferentes medios de cultivo artificiales semi-selectivos; los actinomicetos fueron purificados y confrontados contra el hongo fitopatógeno bajo condiciones *in vitro*. Se obtuvieron un total de 689 aislados, dentro de los cuales 213 presentaron actividad antagónica. La gran abundancia de aislados y la proporción que presentó antagonismo a *Fusarium* sp., muestra el potencial y la oportunidad de estudiar el antagonismo de estos aislados contra una gran diversidad de fitopatógenos asociados a cultivos de interés agrícola.

Palabras clave: *Malus domestica*, Rizosfera, Antagonismo, Fitopatógeno, *Fusarium* sp.

Introducción

La fruticultura, es una de las principales actividades económicas en el estado de Chihuahua, en particular del manzano (*Malus domestica* Borkh.). La región manzanera la constituyen los municipios de Cuauhtémoc, Guerrero, Namiquipa y Bachíniva; destacando Cuauhtémoc como la zona más importante de Latinoamérica (SIAP-SAGARPA, 2013). La producción de este frutal es inestable por la presencia de plagas insectiles y enfermedades, estas últimas son de mayor interés debido a la gran diversidad de patógenos que lo afectan, destacando los causantes de enfermedades radiculares tales como *Fusarium* spp. (Tewoldemedhin *et al.*, 2011), *Phymatotrichopsis omnivora* (Samaniego-Gaxiola, 2007), *Phytophthora cactorum* (Jeffers, 2006), *Armillaria* spp., *Rhizoctonia* spp. (Tewoldemedhin *et al.*, 2011), *Alternaria* spp. (Serdani *et al.*, 2002), *Rosellinia necatrix* (Hoopen y Krauss, 2006), *Nectria* spp., *Pythium* spp.



(Mostowfizadeh-Ghalamfarsa y Banihashemi, 2005), entre otros. Dichos patógenos, causan graves daños en árboles susceptibles, al bloquear los vasos vasculares (floema y xilema) reduciendo la absorción de nutrientes y agua, e inclusive ocasionando la completa destrucción del sistema radicular y por ende su muerte inmediata. La aplicación de fungicidas sistémicos es una herramienta usada comúnmente para el control de hongos fitopatógenos, sin embargo, su uso se está restringiendo debido a su poca eficiencia, a la inducción de aparición de resistencia en los hongos blanco y no blanco, eliminación de microorganismos antagónicos nativos y afectación a la salud del hombre (Harris *et al.*, 2001).

Una de las alternativas a esto, es la integración del control biológico mediante el uso de microorganismos antagonistas, tales como bacterias (*Bacillus* spp.) (Fernández-Larrea, 2001), hongos (*Trichoderma* spp.) (Bell *et al.*, 1982) y actinomicetos (*Streptomyces* spp.) (Ezziyyani *et al.*, 2004). Estos últimos tienen la capacidad de colonizar la superficie radicular de las plantas protegiéndola contra patógenos (Crawford *et al.*, 1993). Dado lo anterior, el objetivo del estudio fue aislar actinomicetos nativos de huertos de manzano del estado de Chihuahua, con actividad antagónica al hongo fitopatógeno *Fusarium* sp.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio “Fisiología de Postcosecha, Patología Vegetal y Control Biológico” del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua; consistiendo en la recolección de muestras de los cuatro principales municipios productores de manzano del estado de Chihuahua (Cuauhtémoc, Bachíniva, Namiquipa y Guerrero), para lo cual se contemplaron cinco huertos, en cada uno de ellos se tomó una muestra de 800-900 g de suelo cercano a la rizósfera de árboles por huerto, posteriormente se realizaron muestras compuestas (250 g), obteniendo un total de 20.

De las muestras obtenidas se realizaron diluciones seriadas (1:10), en tubos de ensaye con 9 mL de agua peptonada estéril, agregando 1 g de suelo (previamente tamizado), hasta llegar a concentraciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} , de las cuales se tomaron 50 μ L para siembra por difusión en placa (cajas de Petri de 90 mm) por duplicado, que contenían medios de cultivo artificiales semi-selectivos para el aislamiento de actinomicetos: Agar de Bennett (AB), Agar Nutritivo–Glicerol (AN-G), Ashby’s Glucosa Agar (ASHBY), Czapek Peptona Agar (CPA), Czapek Dox Agar con 3% Glucosa (CZAS), Glicerol Glicina Agar (GGA), Gauze’s Medio No. 1 (Gauze’s), GYM *Streptomyces* Agar (GYM), Oatmeal Agar (OA) y Agar Jugo de Vegetales V8 (V8-Agar) (Atlas, 2010); e incubados a 28 °C por un periodo de 15 a 22 d, observando periódicamente el crecimiento característico de los actinomicetos, los cuales fueron purificados en papa-dextrosa-agar (PDA), e incubados en una cámara de crecimiento a 28 °C durante 10-12 d.

Los actinomicetos aislados se confrontaron *in vitro* contra el hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. aislado 97, del cepario del Laboratorio de Fisiología de Postcosecha, Patología Vegetal y Control Biológico, previamente identificado. Cada antagonista se sembró de acuerdo a la metodología descrita por (Castillo-Fabela *et al.*, 2004) con modificaciones, mediante colocación de explantes



de 5 mm de diámetro en los cuatro puntos cardinales de la caja de Petri conteniendo Czapek Dox Agar, incubándose por 10 d a 28 °C, en el último día se colocó un papel filtro de 6 mm de diámetro impregnado con el patógeno en el centro de la caja de Petri, incubándose nuevamente a las mismas condiciones. El testigo del fitopatógeno se sembró por duplicado colocando papel filtro impregnado en cajas de Petri conteniendo Czapek Dox Agar en el centro de la caja. La medición del crecimiento radial del patógeno se realizó diariamente.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron 689 aislados de actinomicetos a partir de muestras de suelo cercano a la rizosfera de árboles de manzano, con diferentes medios de cultivo artificiales semi-selectivos. De los cuales 213 mostraron actividad antagonica contra *Fusarium* sp. (Cuadro 1). Los aislados 12, 14, 15, 29, 55, 56, 57, 58, 59, 76, 78, 84 y 87 del medio Gauze's, así como el aislado 19 de GYM y el 18 de V8, mostraron crecimiento nulo del fitopatógeno, dado que no se registró crecimiento radial del hongo posterior al décimo día de colocación, este grado de inhibición indica que los aislamientos arriba mencionados reducen en gran medida el crecimiento del patógeno, posiblemente por la producción de sustancias biocidas o antibióticos que se difunden a través del medio, tal como lo mencionan (Fonseca-Ardila *et al.*, 2011). Sin embargo, otros aislados difirieron en su capacidad antagonica, por lo que se propuso una escala para facilitar la medición de la capacidad antagonica contra hongos fitopatógenos bajo condiciones *in vitro* (Figura 1).

El municipio con mayor presencia de aislados de actinomicetos fue Namiquipa con 207 (30.04 %), seguido de Bachíniva presentando 194 (28.15 %). Los medios de cultivo que mostraron mejores resultados fueron GYM y Gauze's con 133 y 131 aislados representando el 19.3% y 19.01% respectivamente, el medio en el cual se aisló la menor cantidad de actinomicetos, fue Oatmeal con solo 6 aislados equivalente al 0.87% del total, ampliamente recomendado, en el ISP (International Streptomyces Project) (Shirling y Gottlieb, 1966), sin embargo, contraste con nuestro estudio (Cuadro 1).

El estudio demostró la gran diversidad de actinomicetos nativos presentes en los diferentes suelos de manzano en huertos del estado, así como la capacidad antagonica de algunos aislados, por lo que, estos podrían ser una herramienta efectiva de control de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades radiculares en diferentes cultivos de interés agrícola.

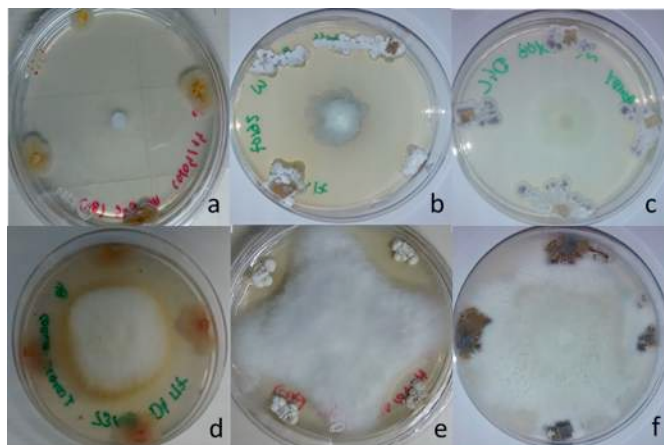
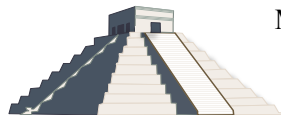


Figura 1. Escala propuesta para la medición de la capacidad antagonista de actinomicetos *in vitro* contra hongos fitopatógenos: a) Crecimiento nulo del fitopatógeno, b) Crecimiento radial de 1-10 mm, c) Crecimiento radial de 11-20 mm, d) Crecimiento radial mayor a 20 mm sin sobrecrecer actinomiceto, e) Presencia de halo y f) Sobrecrecimiento del actinomiceto (sin antagonismo).

Bibliografía

- Atlas, R. M. 2010. Handbook of Microbiological Media Fourth Edition: Taylor and Francis Group.
- Bell, D. K., Wells, H. D., y Markham, C. R. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Ecology and Epidemiology, 72: 379-382.
- Castillo-Fabela, E., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Cepeda-Siller, M., y Zamora-Villa, V. M. 2004. Efectividad de Actinomicetos Aislados de la Rizósfera de Papa sobre *Rhizoctonia solani* Kühn *in vitro*. Revista Mexicana de Fitopatología, 22(2): 203-207.
- Crawford, D. L., Lynch, J. M., Whipps, J. M., y Ousley, M. A. 1993. Isolation and Characterization of Actinomycete Antagonists of a Fungal Root Pathogen. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 59(11): 3899-3905.
- Ezziyiani, M., Sánchez, C. P., Requena, M. E., Rubio, L., y Candela, M. E. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei* -Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. Anales de Biología, 26: 69-78.
- Fernández-Larrea, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 62: 96-100.
- Fonseca-Ardila, Y. A., Castellanos-Suárez, D. E., y León-Sicard, T. E. 2011. Efecto Antagónico *in vitro* de Actinomicetos Aislados de Purines de Chipaca (*Bidens pilosa* L.) Frente a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín, 64(2): 6111-6119.
- Harris, C. A., Renfrew, M. J., y Woolridge, M. W. 2001. Assessing the risk of pesticide residues to consumers: recent and future developments. Food Addit. Contam., 18: 1124-1129.
- Hoopen, G. M. t., y Krauss, U. 2006. Biology and control of *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix* and *Rosellinia pepo*: A review. Crop Protection, 25: 89-107.
- Jeffers, S. N. 2006. Identifying species of *Phytophthora*. Department of Entomology, Soil & Plant Sciences: 1-8.
- Mostowfzadeh-Ghalmfarsa, R., y Banihashemi, Z. 2005. Identification of soil *Pythium* species in fars province of Iran. Iranian Journal of Science & Technology, 29(A1): 79-87.
- Samaniego-Gaxiola, J. A. 2007. Research perspectives on *Phymatotrichopsis omnivora* and the disease it causes. Agricultura Técnica en México, 33(3): 309-318.
- Serdani, M., Kang, J. C., Andersen, B., y Crous, P. W. 2002. Characterisation of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa. Mycological Research, 106(5): 561-569.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
 Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Shirling, E. B., y Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. Int. J. Syst. Bacteriol., 16: 313-340.

SIAP-SAGARPA. (2013). Producción Agrícola por Estado. Revisado en Octubre, 2013, de http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351

Tewoldemedhin, Y. T., Mazzola, M., Botha, W. J., Spies, C. F. J., y McLeod, A. 2011. Characterization of fungi (*Fusarium* and *Rhizoctonia*) and oomycetes (*Phytophthora* and *Pythium*) associated with apple orchards in South Africa. European Journal of Plant Pathology, 130: 215-229.

Cuadro 1. Actinomicetos nativos del Estado de Chihuahua aislados de suelo de huertos de manzano con diferentes medios de cultivo semi-selectivos (2013-2014).

Municipio	Medios Semi-selectivos										Total
	CZAS	CPA	GGA	AN-G	AB	GYM	ASHBY	V8-Agar	GAUZE'S	OA	
Namiquipa	28(11)	21(0)	13(4)	11(2)	23(10)	22(3)	19(3)	38(14)	31(14)	1(0)	207(61)
Guerrero	8(4)	9(1)	8(2)	12(5)	8(2)	35(4)	14(2)	37(6)	22(7)	1(0)	154(33)
Cuauhtémoc	5(1)	11(5)	14(5)	3(2)	6(3)	24(7)	15(6)	25(6)	31(11)	0(0)	134(46)
Bachiniva	8(6)	12(5)	28(6)	17(8)	15(11)	20(4)	10(3)	33(12)	47(18)	4(0)	194(71)
Total	49(22)	53(11)	63(17)	43(17)	52(26)	101(18)	58(14)	133(38)	131(50)	6(0)	689(213)

Czapek Dox Agar con 3% Glucosa (CZAS), Czapek Peptona Agar (CPA), Glicerol Glicina Agar (GGA), Agar Nutritivo–Glicerol (AN-G), Agar de Bennett (AB), GYM *Streptomyces* Agar (GYM), Ashby's Glucosa Agar (ASHBY), Agar Jugo de Vegetales V8 (V8-Agar)Gauze's Medio No. 1 (Gauze's), Oatmeal Agar (OA)

*Los valores mostrados entre paréntesis corresponden al número de aislados que presentaron antagonismo contra *Fusarium* sp.



MANEJO DE *Stromatinia cepivora* BERKELEY (HELOTIALES: SCLEROTINIACEAE) EN COSTA RICA EN CULTIVOS DE LILIACEAS

Claudia Zúñiga-Vega¹, Jaime Brenes-Madriz¹, William Rivera-Méndez¹.¹Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Central Cartago, Costa Rica. 506 2555 9296 czuniga@itcr.ac.cr.¹Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Central Cartago, Costa Rica. 506 2555 9296 czuniga@itcr.ac.cr

Resumen. En Costa Rica los cultivos de cebolla y ajo se ven afectados principalmente por el hongo *Stromatinia cepivora* conocida como pudrición blanca o torbó. Este patógeno es una fuente importante de pérdidas para los productores. El objetivo de esta investigación consistió en valorar en el campo, el efecto antagónico de un aislamiento de *Trichoderma* sp previamente seleccionado contra *S. cepivora* y compararlo con el control químico tradicional usado por estos productores. Lo anterior para ofrecer alternativas de biocontrol tendientes a disminuir el inóculo de la mencionada enfermedad y aumentar la productividad en estos cultivos. Se trabajó en fincas de la zona de Llano Grande, provincia de Cartago, Costa Rica.

Para ambos cultivos, se evaluaron 6 parcelas, a las cuales se les determinó la cantidad de esclerocios presentes durante el ciclo de cultivo. Se realizaron 5 muestreos. El primero para determinar el inóculo inicial presente. En los siguientes cuatro se evaluó cada 30 días, la concentración de esclerocios en ambos tratamientos. El Tratamiento 1 correspondió a la utilización de una cepa previamente seleccionada de *S. cepivora* y el Tratamiento 2 al manejo tradicional empleado por los productores locales. Además todas las actividades fueron acompañadas de producción de material didáctico y capacitaciones para los agricultores de ajo y cebolla.

Los resultados mostraron que para tanto para el ajo como para la cebolla no existieron diferencias significativas entre el control mediante agroquímicos y el biocontrolador. *Trichoderma* sp controló las poblaciones de *S. cepivora* de una forma menos agresiva que el tratamiento químico. El proyecto impactó a una población de más de 100 agricultores de hortalizas de Costa Rica.

Palabras clave: *Trichoderma* sp, *Stromatinia cepivora*, ajo, cebolla, control biológico.



***Aureobasidium pullulans*, COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Typha domingensis*. TULE**

Manuel Silva-Valenzuela¹, Gloria de los Ángeles Zita-Padilla², Reyna I. Rojas-Martínez¹, Emma Zavaleta-Mejía¹.
¹Colegio de Posgraduados-Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, C.P. 56230 Texcoco, Estado de México. ²UNAM- Ingeniería Agrícola, Carretera Federal a Teoloyucan Km 2.5, C.P. 54714 Cuautitlán Izcalli, Estado de México. manuel.silva@colpos.mx

Resumen. El tule (*Typha domingensis*) ocupa el tercer lugar dentro de las malezas de importancia económica en México. Su manejo mediante el control químico y mecánico ha sido poco efectivo. El control biológico constituye una alternativa para mitigar los efectos del tule; por lo anterior, se colectaron y aislaron ocho cepas de hongos: *Mucor* sp., *Peyronellaea glomerata*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Aureobasidium* sp, *Cladosporium* sp y dos de *Alternaria alternata* (cepas 2.5 y 2.6), que se encontraron asociados a lesiones necróticas en hojas de tule. En pruebas de patogenicidad *in vitro*, realizadas en hojas desprendidas de tule, se determinó que los hongos: *Mucor* sp, *Peyronellaea glomerata*, *Cladosporium* sp, *Alternaria alternata* 2.5 y *Aureobasidium* sp fueron patógenos, siendo *Aureobasidium* sp el más virulento y agresivo. Con la inoculación de *Aureobasidium* sp en plantas de tule adultas se reprodujo la sintomatología observada en campo y se reaisló al hongo. Para determinar su potencial patógeno en especies de plantas cultivadas, se realizaron “pruebas de rango de hospedantes” con 43 cultivares de hortalizas y gramíneas de importancia agrícola, para ello, las hojas de cada plántula se asperjaron 2 ml de una suspensión de inóculo (10^4 ó 10^6 propágulos/ml); solamente las plantas de chícharo, cilantro, col de brucas, espinaca, melón, y sandía mostraron susceptibilidad a *Aureobasidium* sp y los 37 cultivares restantes no fueron infectados. Con base en las características morfológicas del hongo y mediante técnicas moleculares se corroboró su identidad y fue identificado como *Aureobasidium pullulans*. Los resultados obtenidos indican que *A. pullulans* es patógeno del tule y que habrá que determinar mediante evaluaciones en campo su potencial como agente de control biológico del tule.

Palabras clave: Tule, *Aureobasidium* sp., Control biológico



“CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE IMPORTANCIA AGRÍCOLA UTILIZANDO COMO AGENTE A *Bacillus thuringiensis* (Berliner)”

H.M. Muñoz-Villarreal¹, L.H. Morales-Ramos¹, L.L. Palacios-Cortez¹, I. Quintero-Zapata¹, Raúl Rodríguez-Guerra² y L.J. Galán-Wong¹, ¹Instituto de Biotecnología, F.C.B. U.A.N.L. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán. Apdo. Postal 2790 y 414. Cd. Universitaria. C.P. 66450. Tel/fax (81) 8352 2422 y 8376 4537 E-mail: lmorales@ccr.dsi.uanl.mx; ²INIFAB, Carretera Montemorelos-China Km. 31, Col. ex hacienda las anacuas, General Terán C.P. 67413, Nuevo León, Tel: 01-826-2670260.

Resumen. La investigación fue realizada en el Laboratorio L1 del Instituto de Biotecnología de la Facultad Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Los objetivo fue demostrar el uso potencial de *B. thuringiensis* como agente antagonico de hongos fitopatogénos utilizando 17 cepas de *B. thuringiensis* de la colección del Instituto de biotecnología contra algunos de los principales hongos fitopatogénos. Las cepas de *B. thuringiensis* que se probaron como agentes antagonistas fueron proporcionadas por la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL y los hongos fitopatogénos usados fueron proporcionados por la colección del INIFAP de general Terán, Nuevo León. Los resultados mostraron que el efecto antagonico de *B. thuringiensis* depende de la cepa utilizada y el hongo fitopatogénico blanco. *P. infestans* fue el fitopatogénico más susceptible y la cepa con mayor porcentaje de inhibición para este hongo fue la HD-263. Este trabajo demuestra que algunas cepas de *B. thuringiensis* pueden ser agentes efectivos de control biológico contra hongos fitopatogénos.

Palabras Claves: efecto antagonico, hongos fitopatogénos, *Bacillus thuringiensis*

Introducción

El uso constante y creciente de los productos que se obtienen a partir de *B. thuringiensis* se debe fundamentalmente a su alta especificidad, así como a su inocuidad para insectos benéficos, plantas y mamíferos, incluidos los humanos, se sabe que produce una gran diversidad de metabolitos, como bacteriocinas, antibióticos y enzimas extracelulares (proteasas y quitinasas), elementos clave en el fenómeno de supresión de patógenos por agentes biológicos. Mundialmente se conoce un grupo importante de hongos y bacterias con efecto antagonico, el cual es aprovechado por el hombre para la regulación de patógenos cuyo hábitat es el suelo y por aquellos que se desarrollan en la parte foliar de las plantas. El género *Bacillus*, ha tenido mucho éxito en la prevención de patologías vegetales causadas por hongos. Sin embargo, hay poca información de su potencial antifúngico.

Metodología

Las cepas se incubaron en agitación a 250 rpm a 30° C por 16 hrs. en Caldo nutritivo y Medio melaza en matraces Erlenmeyer de 250 ml. Los cultivos fueron separados mediante centrifugación a 15,000 rpm durante 20 minutos, obteniendo el sobrenadante y precipitado el cual se resuspendió en agua destilada para ser utilizados para comparar el efecto de estos contra



el cultivo total. Para el bioensayo de antagonismo se colocó un disco de agar con el cultivo puro del hongo fitopatógeno a evaluar en el centro de una caja petri con PDA, posteriormente se trazó un disco de 6 cm de diámetro rodeando el inóculo fúngico con una suspensión bacteriana del antagonista. Los bioensayo de inocuidad de *B. thuringiensis* sobre plántulas de chile, tomate y frijol se realizaron a partir de las cepas activadas de *B. thuringiensis*, se tomaron varias asadas para inocular matraces Erlenmeyer de 250 ml por cepa con 50 ml de Caldo Triptosa y Fosfato (CTP), los cuales se incubaron en agitación a 250 rpm a 30° C por 16 hrs. Posteriormente se utilizaron como inóculo en una proporción 1% (V/V) para 100 ml Caldo nutritivo en matraces Erlenmeyer de 250 ml, los cuales se incubaron en agitación a 250 rpm a 30° C por 16 hrs. Las soluciones preparadas fueron asperjadas sobre 25 plántulas para evaluar el daño causado a los 15 días de la aspersión del inóculo.

Resultados y Discusión

Los microorganismos antagonistas tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales (Hernández *et al.* 2007). Algunas especies de los géneros *Bacillus spp.* producen varios tipos de metabolitos, algunos de los cuales poseen actividad antifúngica, estos componentes tienen una importancia fundamental en el control biológico de hongos fitopatógenos como *Phytophthora* (Reinoso *et al.* 2007). En el presente estudio, la prueba de inhibición mostró resultados favorables para ocho de las 17 cepas de *B. thuringiensis* probadas, contra 5 hongos fitopatógenos, se encontró que *P. infestans* fue el más susceptible a la inhibición, mientras que el hongo fitopatógeno *Macrophomina spp.* no fue afectado por ninguna de las cepas de *B. thuringiensis* probadas. El efecto inhibitorio de las cepas de *B. thuringiensis* en hongos fitopatógenos se puede asociar a la producción de enzimas que pueden actuar contra la pared celular, esto es debido a que algunas bacterias antagonistas de hongos fitopatógenos producen quitinasas (Mojica *et al.* 2009). Se probaron dos medios de cultivo los cuales fueron caldo nutritivo y medio melaza. Los mejores porcentajes de inhibición mostrados por las cepas de *B. thuringiensis* crecidas en caldo nutritivo contra los hongos probados fueron para *P. infestans* con las siguientes cepas de B.t: GM-54 (63.92%), HD-263 (68.35%), HD-24 (60.75%), HD-29 (60.12%), GM-58 (59.49%), HD-1 (59.49%) y HD-331 (52.53%). Para las cepas crecidas en medio melaza también se observaron contra *P. infestans* con los resultados siguientes: GM-54 (56.96%), HD-263 (64.55%), HD-1 (60.12%), HD-29 (52.53%), GM-58 (56.96%), HD-24 (67.72%) y HD-331 (52.53%). Cada uno de los medios de cultivo fueron separados en sobrenadante y precipitado los cuales fueron comparados contra el cultivo completo, los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$), los cuales mostraron que las cepas GM-58 y HD-1 no mostraron diferencia significativa entre los medios de cultivo utilizados. El resto de los medios de cultivo probados para las cepas de *B. thuringiensis* mostraron diferencias significativas entre ellos, el medio CNCT el que mostró mayor porcentaje de inhibición para las cepas GM-54 y HD-29 y HD-263, las cepas restantes mostraron el mayor porcentaje de inhibición con la utilización del medio melaza HD-24 (MCT) y HD-331 (MP).



Tabla I. Porcentajes de inhibición (72 hrs) para cepas antagonistas de *B.thuringiensis* cultivadas en dos medios diferentes contra hongos fitopatógenos

	<i>Pythophthora infestans</i>		<i>Colletotrichum spp¹</i>		<i>Colletotrichum spp²</i>		<i>Fusarium solani</i>	
	MM	CN	MM	CN	MM	CN	MM	CN
GM-1								
Sobrenadante	-	-	-	-	13.75	33.75	-	-
Precipitado	-	-	-	-	28.75	43.18	-	-
Cultivo Total	-	-	-	-	9.6	28.57	-	-
GM-54								
Sobrenadante	67.08	69.62	22.41	4.16	41.25	35	-	-
Precipitado	64.55	68.98	36.66	24.13	42.5	47.72	-	-
Cultivo Total	56.96	63.92	32.35	32.43	33.33	32.85	-	-
GM-58								
Sobrenadante	50.63	62.65	3.44	2.08	32.5	21.25	-	-
Precipitado	57.59	54.43	15	12.06	13.75	20.45	-	-
Cultivo Total	56.96	59.49	19.11	17.56	22.22	17.14	-	-
HD-1								
Sobrenadante	58.22	56.32	36.25	43.9	37.8	42.68	9.09	5
Precipitado	58.86	56.96	36.84	47.56	42.85	43.18	9.09	4.76
Cultivo Total	60.12	59.49	44.59	45.12	52.32	41.66	6.81	15
HD-24								
Sobrenadante	58.22	63.29	30.65	34.48	38.46	38.46	-	-
Precipitado	59.49	67.72	4.76	11.76	39.18	42.1	-	-
Cultivo Total	67.72	60.75	41.17	29.31	50	51.28	-	-
HD-29								
Sobrenadante	52.53	57.59	-	-	-	-	-	-
Precipitado	52.53	49.36	-	-	-	-	-	-
Cultivo Total	52.53	60.12	-	-	-	-	-	-
HD-263								
Sobrenadante	67.08	60.12	-	-	-	-	-	-
Precipitado	63.29	65.18	-	-	-	-	-	-
Cultivo Total	64.55	68.35	-	-	-	-	-	-
HD-331								
Sobrenadante	47.46	50.63	27.5	41.46	-	-	-	-
Precipitado	55.06	51.89	30.26	42.68	-	-	-	-
Cultivo Total	52.53	52.53	27.02	42.68	-	-	-	-

Conclusiones

Se logró demostrar el uso potencial de *B. thuringiensis* como agente de control de hongos fitopatógenos, *P. infestans* fue el hongo fitopatógeno que mostró mayor susceptibilidad. La cepa HD-263 mostro un mayor efecto antagónico contra *P. infestans*. Las cepas crecidas en CNCT mostraron mayor efecto antagónico para la mayoría de las cepas probadas. *B. thuringiensis* fue 100% inocuo para las plántulas de frijol, chile y tomate.

Agradecimientos. Proyecto financiado PAICYT y SEP.

Literatura Citada

- Hernández Lauzardo, A.N., Bautista Baños, S., Velázquez del Valle, M.G. y Hernández Rodríguez, A. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Revista Mexicana de Fitopatología 25:66-74.
- Mojica Marín, V., Luna Olvera H.A., Sandoval Coronado, F.F., Pereyra Alférez, B., Morales Ramos, L.H., González Aguilar, N.A., Hernández Luna, C.E., Alvarado Gomez, O.G., 2009. Control Biológico de la marchitez del chile (*capsicum annum L.*) por *Bacillus thuringiensis*. Revista Internacional de Botánica Experimental 78:105-110.
- Reinoso Pozo, Y., Vaillant Flores, D., Casadesús Romero, L., García Pérez, E., Álvarez Ribera, V., 2007. Selección de cepas de *Bacillus* y otros géneros relacionados para el control biológico de hongos fitopatógenos. Fitosanidad Vol. 11, no. 1: 35-40.

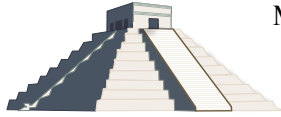


REPORTE PRELIMINAR DE ACTINOMICETOS ANTAGÓNICOS ASOCIADOS A SISTEMAS NATURALES Y AGROECOSISTEMAS DEL ESTADO DE CHIHUAHUA

Daniel Alonso Pérez-Corral¹, Claudio Rios-Velasco², David I. Berlanga-Reyes², Carlos Horacio Acosta-Muñiz², Guadalupe Isela Olivas-Orozco, José de Jesús Ornelas-Paz² y María Fernanda Ruiz-Cisneros². ¹ Estudiante de Postgrado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. E-mail: alonso.perez@estudiantes.ciad.mx. ² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. E-mail: claudio.rios@ciad.mx

Resumen. En los sistemas naturales y agroecosistemas, se encuentra en abundancia una gran diversidad de microorganismos tales como los actinomicetos con capacidad antagonica a fitopatógenos del suelo, conferido por su producción de una amplia variedad de antibióticos. Razón por la cual se han usado como agentes de control biológico, como una alternativa al control químico. Dado lo anterior, el objetivo del estudio fue aislar actinomicetos nativos con actividad antagonica a hongos fitopatógenos de diferentes agroecosistemas. Para lo cual, se recolectaron muestras de suelo cercano a la rizosfera de manzano, maíz, frijol, pastizal, encino y hormiguero y fueron sembradas por difusión en placa en doce medios de cultivo artificiales semi-selectivos, obteniendo 1,766 actinomicetos, los cuales fueron confrontados *in vitro* contra los fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp., colocándolos 10 d post-siembra de los antagonistas, así mismo, se colocaron tres testigos de los fitopatógenos a evaluar. A los cinco días post-confrontación, 510 (28.87 %) aislados mostraron antagonismo a *Fusarium* sp., 566 (32.04 %) a *Sclerotium* sp. y 233 (13.19 %) para ambos fitopatógenos. Los actinomicetos que mostraron inhibición, se siguieron monitoreando 5 d más para evaluar la conservación del antagonismo, obteniendo que 178 (10.07 %) aislados conservaron el antagonismo a *Fusarium* sp., 359 (20.32 %) a *Sclerotium* sp. y 73 (4.13 %) para ambos. Cabe señalar, que algunos de estos actinomicetos inhibieron por completo el crecimiento de los fitopatógenos: 17 (0.96 %) inhibieron a *Fusarium* sp., 37 (2.09 %) a *Sclerotium* sp. y 2 (0.11 %) a ambos. La gran abundancia de actinomicetos encontrados y la proporción antagonista a *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp., muestran que estos microorganismos pueden ser usados como agentes de control biológico de fitopatógenos, como una alternativa efectiva y viable al control químico.

Palabras clave: Rizosfera, Antagonismo, Fitopatógenos, *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ENTOMÓFAGOS



EFECTO DE TAMAÑO DE PRESA Y EDAD DE DEPREDADOR EN RESPUESTA FUNCIONAL DE *Chrysoperla carnea* (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) SOBRE *Bactericera cockerelli* (HEMIPTERA: TRIOZIDAE)

Carlos Enrique Ail-Catzim¹, Ernesto Cerna-Chávez², M. H. Badii³, Alejandro Manelik García López¹ y Jonathan Medel Verdugo¹. ¹Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera a Delta s/n Ejido Nuevo León, C. P. Mexicali, Baja California. carlos.ail@uabc.edu.mx. ail_car@yahoo.com.mx. ²Departamento de Parasitología. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315. ³Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Zoología de invertebrados. UANL.

Resumen. La investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto del tamaño de presa y edad del depredador en la respuesta funcional de *Chrysoperla carnea* para diferentes densidades de *Bactericera cockerelli*. Los experimentos se realizaron en laboratorio, se evaluaron los tres estadios larvales (L_1 , L_2 y L_3) de crisopa sobre dos grupo de ninfas; chicas (n_1 - n_2) y grandes (n_4 - n_5) de la presa, se empleó el método de hoja arena, en el cual se depositaron diferentes densidades de la presa. El tipo de respuesta funcional se determinó mediante análisis de regresión logística. El análisis de regresión logística reveló que la respuesta funcional tipo II fue la más común en larvas de crisopa sobre *B. cockerelli*. Pero el tamaño de presa afectó la respuesta funcional del tercer estadio larval, pasando de respuesta tipo II sobre ninfas grandes a respuesta tipo III sobre ninfas chicas. En relación al tiempo de manipuleo (T_h), se observó un efecto del tamaño de presa, el T_h se incrementó con un incremento en el tamaño de presa, por el contrario la edad del depredador provocó una reducción en los valores de este parámetro, el T_h del tercer instar larval resultó menor a los valores del primero y segundo instar larval de *C. carnea*. Estos resultados confirman el potencial de *C. carnea* como agente de control biológico de esta plaga, así también estos resultados nos sugieren que este depredador puede ser incluido en sistemas de manejo de plagas basados en el control biológico aumentativo

Palabras claves: Regresión logística, coeficiente de ataque, tiempo de manipuleo.

Introducción

La respuesta funcional tipo II es la más común reportada en insectos (Begon *et al.*, 1996) e incluso en *C. carnea* (Montoya *et al.*, 2010), sin embargo diferentes factores pueden influir en esta respuesta; abióticos, tales como la temperatura y humedad relativa (Skirvin y Fenlon, 2003), y bióticos tales como la especie de la presa, presencia de alimento alternativo, sexo del depredador, edad del depredador e historia de alimentación (Donnelly y Phillips, 2001). *C. carnea* exhibe diferentes tipos de respuesta, las larvas de primero y segundo estadio presenta tipo II y el tercer estadio tipo III sobre *Tetranychus urticae* (Hassanpour *et al.*, 2009), por su parte Streams (1994) menciona que en algunas especies el tipo de respuesta funcional puede cambiar de una respuesta tipo II para presas grandes, a una respuesta tipo III para instares pequeños de la misma presa o vice-versa en otras especies (Eggleston, 1990). Debido a lo anterior el objetivo de este estudio fue investigar los efectos del tamaño de presa y edad del depredador en la respuesta funcional de *C. carnea* para diferentes densidades de *B. cockerelli*, a fin de incrementar nuestro



entendimiento de las interacciones depredador-presa entre *C. carnea* y *B. cockerelli*, lo que puede ser de ayuda para optimizar el control biológico de esta plaga de importancia económica.

Materiales y Métodos

Respuesta funcional. Se evaluaron los tres estadios larvales (L_1 , L_2 y L_3) de *C. carnea* sobre dos grupo de ninfas; chicas (n_1 - n_2) y grandes (n_4 - n_5) de *B. cockerelli*, para esto se empleo el método de hoja arena, el cual consistió de una caja petri (6cm de diámetro) conteniendo un disco de tela de fieltro húmedo en el fondo, sobre este se colocó un disco de hoja de papa (*Solanum tuberosum* cv. Cesar) de 5 cm de diámetro (Legaspi *et al.* 1994), en el cual se depositaron diferentes densidades de la presa, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 96, 112 para los tres instares larvales, se incluyeron 10 repeticiones para cada una de las densidades a evaluar. El primer instar larval se empleo 24h después de haber emergido del huevo, el segundo y tercer instar larval se emplearon 24h después de haber mudado de un instar a otro. Una hora después de haber depositado a las presas, se introdujo un depredador por arena experimental, antes de iniciar el experimento las larvas se mantuvieron durante 12h en ayuno. Después de un periodo de forrajeo de 6h el número de presas consumidas por el predador se registro, las presas consumidas por el depredador no fueron remplazadas durante el experimento. El estudio se llevó a cabo bajo condiciones controladas en una cámara bioclimática, temperatura $25\pm 2^\circ$ C, humedad relativa de 70 ± 10 % y fotoperiodo 14:10 h Luz: oscuridad.

Análisis de resultados. El tipo de la respuesta funcional (Tipo II o III), se determino por análisis de regresión logística [PROC LOGISTIC de SAS/STAT (SAS 2001)] de la proporción de presas consumidas (N_e) en relación a la densidad inicial de presas ofrecidas (N_0), un modelo logístico polinomial se ajusto a los resultados (Juliano 2001).

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{\exp(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)}{1 + \exp(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)}$$

Donde P_0 , P_1 , P_2 y P_3 son los parámetros hacer estimados. Si $P_1 < 0$ (Negativo), la proporción de presas consumidas decrece monotónicamente con el número inicial de presas ofrecidas (respuesta funcional de tipo II), pero si $P_1 > 0$ (Positivo), la proporción de presas consumidas es dependiente de la densidad inicialmente (respuesta funcional de tipo III) (Juliano 2001). Se estimaron el tiempo de manipuleo (T_h) y coeficiente de ataque (a) con la técnica mínimos cuadrados no-lineal [PROC NLIN de SAS/STAT (SAS 2001)], para la ecuación del depredador al azar de Rogers (1972), para ambas respuestas tipo II y tipo III. Se empleo este modelo debido a que en el experimento no se remplazaron presas consumidas.

$$N_e = N_0 \{1 - \exp[a(T_h N_e - T)]\} \quad (\text{Modelo para respuesta funcional tipo II})$$

$a = (d + bN_0) / (1 + cN_0)$, por sustitución en la ecuación 1 se obtiene:

$$N_e = N_0 \{1 - \exp[(d + bN_0)(T_h N_e - T) / (1 + cN_0)]\} \quad (\text{Modelo para respuesta funcional tipo III})$$



Donde N_e es número de presas consumidas, N_0 es la densidad inicial de presas, T es el tiempo total de duración de experimento (En este estudio $T=6$ h), T_h es tiempo de manipuleo, (a) es el coeficiente de ataque, b , c y d son constantes relacionadas al coeficiente de ataque. En el caso donde los resultados revelaron respuesta funcional tipo III, para este estudio las constantes c y d no fueron significativamente diferentes de 0, por tanto se uso un modelo reducido de respuesta tipo III, para ajustar los resultados del experimento (Juliano, 2001)

$$N_e = N_0\{1 - \exp[(bN_0)(T_h N_e - T)]\}$$

Resultados

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de regresión logística y al criterio establecido podemos afirmar que la respuesta funcional de los tres estadios larvales de *C. carnea* sobre ninfas grandes (n_4 - n_5) de *B. cockerelli* es de tipo II ($P_I < 0$), el mismo resultado se presento cuando el primer y segundo estadio larval se alimentaron sobre ninfas chicas (n_1 - n_2), sin embargo la respuesta cambio a tipo III ($P_I > 0$), para el tercer estadio depredando sobre este grupo de ninfas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estimadores de la máxima verosimilitud de la regresión logística de la proporción de presas consumidas como una función de las densidades iniciales de presas para los tres estadios larvales de *Chrysoperla carnea* sobre dos grupos de ninfas de *Bactericera cockerelli*

Estadio	Parámetro	Presa					
		Ninfa Chica			Ninfa Grande		
		Estimado (±SE)	χ^2	P	Estimado (±SE)	χ^2	P
L ₁	Intercepto (P_0)	1.865(0.175)	114.3305	<0.0001	1.204(0.234)	26.531	<0.0001
	Lineal (P_1)	-0.043(0.006)	55.0992	<0.0001	-0.170(0.020)	71.075	<0.0001
	Cuadrático (P_2)	1.0 E-4(4.1 E-5)	12.3586	0.0004	0.002(4.1E-4)	33.105	<0.0001
	Cubico (P_3)	----	----	----	1.0E-5(2.3E-6)	21.476	<0.0001
L ₂	Intercepto (P_0)	2.537(0.287)	77.9740	<0.0001	1.718(0.233)	54.071	<0.0001
	Lineal (P_1)	-0.083(0.018)	22.4551	<0.0001	-0.110(0.016)	45.900	<0.0001
	Cuadrático (P_2)	0.001(3.0 E-4)	12.7825	0.0003	0.001(3.0E-4)	18.2450	<0.0001
	Cubico (P_3)	-5.1E-6(1.5E-6)	11.2130	0.0008	5.1E-6(1.6E-6)	10.365	0.0013
L ₃	Intercepto (P_0)	1.6148(0.232)	48.3424	<0.0001	5.601(0.602)	81.465	<0.0001
	Lineal (P_1)	0.0579(0.009)	43.1999	<0.0001	-0.1614(0.031)	27.696	<0.0001
	Cuadrático (P_2)	-5.2E-4(6.7E-5)	61.2250	<0.0001	0.002(4.7E-4)	10.508	0.0012
	Cubico (P_3)	----	----	----	5.0E-6(2.2E-6)	5.236	0.0221

(*) Las regresiones se realizaron iniciando con el modelo cubico y los coeficientes de mayor orden que no fueron significativamente diferentes de cero se eliminaron, hasta que todos los coeficientes que permanecieron en el modelo sean significativamente diferentes de cero. Un modelo logístico simple, cual contiene solo P_0 y P_1 , es el modelo de orden más bajo que puede ser ajustado

Los valores estimados para coeficiente de ataque (a), tiempo de manipuleo (T_h) y el consumo máximo teórico (T/Th), de los tres estadios larvales de *C. carnea* consumiendo ninfas chicas y



grandes se muestran en el cuadro 2. El T_h de las L_1 depredando sobre ninfas grandes (1.436) es mayor en comparación cuando se alimento con ninfas chicas (0.183), comportamiento similar presento la L_2 depredando sobre ninfas grandes (0.326) y chicas (0.107) donde el valor de T_h fue mayor para ninfas grandes. Por otro lado se observa que el tiempo de manipuleo decreció con respecto al estado de desarrollo del depredador, el T_h de la L_3 (0.136) alimentado con ninfas grandes resulto menor en comparación al T_h de la L_1 (1.436) y L_2 (0.326) depredando sobre este mismo grupo de ninfas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Parámetros de depredación de la respuesta funcional Tipo II y Tipo III de *Chrysoperla carnea* sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* estimados mediante regresión no lineal.

Tamaño de presa	Depredador	Respuesta funcional					
		Tipo II			Tipo III		
		a	T_h	T/T_h **	b^*	T_h	T/T_h **
Ninfa chica	L1	0.415	0.183	36.990			
	L2	0.300	0.107	62.938			
	L3	-----	-----	-----	0.035	0.060	100.000
Ninfa grande	L1	0.502	1.436	4.254			
	L2	0.195	0.326	22.807			
	L3	0.686	0.136	45.943			

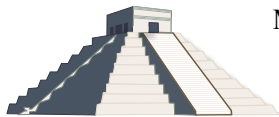
*Constante relacionada al coeficiente de ataque (a).

** Consumo máximo teórico de ninfas de la plaga durante un periodo de 6 horas

El coeficiente de ataque para la L_3 fue mayor en comparación de la L_1 y L_2 cuando se alimentaron de presas grandes, sin embargo la L_1 presento mayor coeficiente de ataque comparada con la L_2 cuando depredo sobre ninfas chicas. El consumo máximo teórico (T/T_h) de la L_1 depredando sobre ninfas grandes (4.254) fue menor en comparación cuando se alimento con ninfas chicas (36.990), comportamiento similar presento la L_2 depredando sobre ninfas grandes (22.807) y chicas (62.938) donde el valor de T/T_h fue mayor para el grupo de ninfas chicas. El consumo máximo teórico se incremento con respecto al estado de desarrollo del depredador, el T/T_h de la L_3 (45.943) alimentado con ninfas grandes resulto mayor en comparación al T/T_h de la L_1 (4.254) y L_2 (22.807) depredando sobre este mismo grupo de ninfa. El mismo comportamiento se presento cuando el primero (36.990) y segundo (62.938) instar larval consumieron ninfas chicas (Cuadro 1).

Discusión

El análisis de regresión logística revelo que la repuesta funcional para el primero y segundo estadio larval depredando sobre ambos tamaños de presa es de tipo II. Sin embargo el tamaño de presa afecto la respuesta funcional del tercer estadio larval de *C. carnea*, pasando de respuesta tipo II cuando depredo sobre ninfas grandes a una respuesta tipo III cuando consumió ninfas chicas, lo que concuerda con lo obtenido por Hassell *et al.* (1977), quienes reportan que *Coccinella septempunctata* presenta respuesta funcional tipo III cuando forrajea sobre primer estadio de *Brevicoryne brassicae* y respuesta tipo II cuando forrajea sobre quinto estadio de esta plaga. Sin embargo la respuesta funcional tipo II es la más común reportada en insectos (Begon *et*



al, 1996) e incluso en *C. carnea* (Montoya *et al.*, 2010) y otras especies de crisopas (Stewart *et al.*, 2002).

Los valores de coeficiente de ataque (a) que se obtuvieron en este experimento se incrementaron ligeramente en relación al tamaño del depredador, el coeficiente de ataque del tercer y primero estadio larval depredando ninfas grandes fue de 0.686 y 0.502 respectivamente, lo que concuerda con Persson *et al.* (1998) quienes reportan un ligero incremento con el tamaño del depredador. En relación al tiempo de manipuleo (T_h), se observó un efecto del tamaño de presa y edad del depredador sobre este parámetro, los valores T_h fueron menores cuando las larvas de crisopa forrajearon sobre ninfas chicas en comparación a ninfas grandes, lo que indica que el T_h se incrementa, con un incremento en el tamaño de presa. Esto concuerda con lo mencionado Flinn *et al.* (1985), quienes señalan que el tiempo de manipuleo es proporcional al tamaño de la presa, el T_h de un depredador decrece sobre presas pequeñas, mientras se incrementa cuando las presas son más grandes (Persson *et al.* 1998), tal como ocurrió en esta investigación. El efecto de la edad del depredador (L_1 , L_2 y L_3) sobre el tiempo de manipuleo, provocó una reducción en los valores de este parámetro, el T_h del tercer estadio larval resultó menor a los valores del primero y segundo estadio larval de *C. carnea* depredando sobre ninfas grandes, mismo resultado se obtuvo cuando consumieron ninfas chicas. En relación a esto Fernando y Hassell (1980) mencionan que depredadores de mayor tamaño, buscan vigorosamente, capturan y consumen más fácilmente a su presa, lo que se refleja en una reducción en el tiempo de manipuleo (T_h), en general los depredadores de mayor tamaño presentan T_h menor, en comparación a los depredadores más pequeños. Rogers (1972) menciona que tiempo de manipuleo es un factor importante que influye en la cantidad de presas consumidas, de ahí que el consumo máximo teórico de un depredador está definido por la razón T/T_h (Hassell *et al.* 1977), En relación a este parámetro (T/T_h), se observó un efecto significativo del tamaño de presa y edad del depredador sobre este parámetro, lo que indica que el consumo máximo teórico T/T_h disminuye con un incremento en el tamaño de presa y se incrementa con el estado de desarrollo del depredador (mayor tamaño del depredador).

Conclusiones

Este estudio demostró que *C. carnea* presenta funcional tipo II y tipo III sobre *B. cockerelli* y su capacidad depredadora está en función a su estado de desarrollo y tamaño de presa, tiene tiempo de manipuleo relativamente corto y alto consumo sobre ninfas de *B. cockerelli*, lo que nos confirma su potencial como agente de control biológico de esta plaga, así también estos resultados nos sugieren que este depredador puede ser incluido en sistemas de manejo de plagas basados en el control biológico aumentativo.

Literatura Citada

Begon M, Harper JL, Townsend CR (1996) Ecology: individuals, populations, and communities. Blackwell, London.
Donnelly BE, Phillips TW, 2001. Functional response of *Xylocoris flaviceps* (Hemiptera: Anthocoridae): effects of prey species and habitat. Environ. Entomol. 30, 617–624.



- Eggleston, D.B. (1990) Functional responses of blue crabs *Callinectes sapidus* Rathbun feeding on juvenile oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin): effects of predator sex and size, and prey size. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 143, 73.
- Fernando, M. H. J. P. and Hasell, M. P. 1980. Predator-prey responses in an acarine systems. *Research Population Ecology*. 22: 301-322
- Flinn, P. W., A. A. Hower, and R.A.J. Taylor. 1985. Preference of *Reduviolus americanoferus* (Hemiptera: Nabidae) for potato leafhopper nymphs and pea aphids. *Can. Entomol.* 117: 1503-1508.
- Hassanpour, M.; Nouri-Ganbalani, G.; Mohaghegh, J. and Enkegaard, A. 2009. Functional response of different larval instars of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera:Chrysopidae), to the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). *Journal of Food Agriculture & Environment (Finlandia)*. 7(2): 424-428.
- Hassell, M. P., Lawton, J. H., and Beddington, J. R. 1977. Sigmoid functional response by invertebrate predators and parasitoids. *Journal of Animal Ecology*, 46, 249–262.
- Juliano, S. A. 2001. Non-linear curve fitting: Predation and functional response curves. In: Scheiner SM and Gurevitch J, editors. *Design and analysis of ecological experiments*. 2nd edition, 178–196. New York: Chapman and Hall.
- Legaspi, J. C.; Carruthers, R. I. and Nordlund, D. A. 1994. Life history of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) provided sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) and other food. *Biological Control*. 4: 178-184.
- Montoya A. A. F., Ito K., Nakahira K., and Arakawa R. 2010. Functional response of *Chrysoperla nipponensis* and *C. carnea* (Neuroptera:Chrysopidae) to the cotton aphid *Aphis gossypii* Glove (Homoptera:Aphididae) under laboratory conditions. *Applied entomology and Zoology*. 45(1): 201-206.
- Persson L., K. Leonardsson, A, M, de Roos, M. Gyllenberg and B. Christensen. 1998. Ontogenetic scaling of foraging rates and the dynamics of a size-structure consumer-resource model. *Theoretical Population Biology*. 54: 270-293.
- Rogers, D. 1972. Random search and insect population models. *Journal Animal Ecology*. 41:369-383.
- SAS Institute 2001. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Skirvin DJ, Fenlon JS, 2003. The effect of temperature on the functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol*. 31, 37–39.
- Stewart C. D., K. Braman and A. F. Pendley.2002. Functional response of the azalea plant bug (Heteroptera:Miridae) and a green lacewing *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera:Chrysopidae), two predators of the azalea lace bug (Heteroptera:Tingidae). *Environmental Entomology*. 31(6): 1184-1190.
- Streams, F.A. (1994) Effect of prey size on attack components of the functional response by *Notonecta undulata*. *Oecologia*, 98, 57–63.
- Svendsen MS, Enkegaard A, Brødsgaard H, 1999. Influence of humidity on the functional response of larvae of the gall midge (*Feltiella acarisuga*) feeding on spider mite eggs. *IOBC/WPRS Bull*. 22(1): 243–246



OCURRENCIA NATURAL DE *Podisus* sp., DEPREDANDO LARVAS DE *Choristoneura rosaceana* (HARRIS) EN MANZANO Y DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) EN MAÍZ EN NAMIQUIPA, CHIHUAHUA

Daniela Nájera-Miramontes¹, Magali Ordoñez García¹, Claudio Rios-Velasco², David I. Berlanga-Reyes², Paul B. Zamudio-Flores², Alejandro Romo-Chacón² y Juan L. Jacobo-Cuellar³. ¹Estudiante de post-grado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial, C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial, C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ³Campo Experimental de la Sierra de Chihuahua, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Apdo. Postal 554. Hidalgo 1213, Zona Centro, C.P 31500, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. e-mail: daniela.najera@estudiantes.ciad.mx

Resumen. *Choristoneura rosaceana* es una plaga del manzano de reciente aparición en el país, *Spodoptera frugiperda* es la principal plaga del maíz. El control de ambos insectos, depende básicamente de insecticidas químicos. Se recolectó un total de 1200 larvas de *C. rosaceana* de las cuales no se obtuvieron parasitoides. Sin embargo se recolectaron 92 especímenes del depredador generalista *Podisus* sp., de diferentes estados ninfales y 22 masas de huevos, de los cuales 75 especímenes se capturaron en manzano y 17 en maíz. El consumo promedio de *Podisus* sp., fue 1.4 larvas por día, siendo el primer estadio ninfal el que mostró un mayor promedio (1.75 larvas consumidas/día).

Palabras clave: Cogollero del maíz, Depredador, Enrollador de la hoja, Chinche soldado.

Introducción

Choristoneura rosaceana (Harris), es una plaga del manzano de reciente introducción en el país, principalmente en el estado de Chihuahua. Las larvas de este insecto, se alimentan y refugian en las hojas del manzano, además de causar daños al fruto, afectando la estética de los mismos. El primer reporte de su presencia en México, fue hecho por Bautista-Martínez *et al.*, (2011), en el municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua, donde se estipula su estatus fitosanitario, como de distribución restringida, sin embargo, este insecto se encuentra ampliamente distribuido en huertos del estado. *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), es un insecto polífago y cosmopolita que causa pérdidas económicas considerables en diversos cultivos como maíz, sorgo, arroz, algodón, alfalfa, pastos, entre otros (Sparks, 1986). En maíz puede reducir el rendimiento por arriba del 30 % (García *et al.*, 2012), al alimentarse provocando raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, una vez que la larva alcanza cierto tamaño, se alimenta del cogollo y follaje, y en etapas tardías del elote (Soto, 2008).

El control de estos insectos, depende básicamente de insecticidas químicos con resultados satisfactorios (Ramírez *et al.*, 2004). Sin embargo, su manejo es muy complejo debido a que se encuentra protegido en la hoja, en el caso de *C. rosaceana*. Su control en México ha dependido básicamente de insecticidas químicos, que han resultado ineficientes, debido a su uso excesivo e



indiscriminado, además de causar daños al medio ambiente, inducir la aparición de resistencia en organismos blanco entre otras (Tinoco y Halperin, 1998; Soto, 2008).

En la actualidad se han reportado muchos enemigos naturales tanto de *C. rosaceana* como de *S. frugiperda* tales como parasitoides, depredadores y patógenos. De Bortoli *et al.* (2011), mencionan que la efectividad del uso de enemigos naturales como agentes de control biológico depende de su facilidad de reproducción y almacenamiento en laboratorio.

Straub *et al.* (2007), reportan que el control biológico de conservación, intenta reducir los problemas de plagas mediante el incremento de la abundancia y diversidad de las comunidades de enemigos naturales por lo que, el balance sugiere la conservación de la diversidad de enemigos naturales y el control biológico como metas compatibles. Este tipo de control involucra la manipulación de hábitats agrícolas a favor de los enemigos naturales, que ofrecen la conservación simultánea de la biodiversidad de los mismos y la reducción de problemas de plagas (Barbosa, 1998). Los parasitoides y depredadores ofrecen una herramienta potencial de control biológico de estas plagas en particular *C. rosaceana* y *S. frugiperda* (Jones *et al.*, 2009). El manejo del hábitat para el control biológico de conservación, es usado ampliamente para proveer las condiciones que aseguran una diversidad de especies depredadoras para que persistan espacial y temporalmente dentro de los cultivos agrícolas de manera natural, para el control de su presa (insectos plaga), condiciones óptimas dadas en los sitios contemplados en este estudio. Dado lo anterior el objetivo de este trabajo fue recolectar especímenes de depredador en huertos de manzano y del depredador *Podisus* sp., en un huerto de manzano y una parcela de maíz y evaluar su capacidad depredadora sobre larvas de *C. rosaceana*.

Materiales y Métodos

Muestreo y recolecta de enemigos naturales

Se estimó el número de larvas de *C. rosaceana* en el huerto ubicado en El Terrero, municipio de Namiquipa (29° 18' 84''N; 107° 44' 21''O). Para lo cual se muestrearon 50 árboles (10 en cada punto cardinal y en el centro). También se muestreo un huerto ubicado en el Campo 18 (28° 45'08.10" N y 106° 55' 57.85" O), pertenecientes al Ejido Vista Hermosa, municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua. Se recolectaron 1200 larvas de diferentes estadios de desarrollo, para la posible obtención de parasitoides, dichas larvas fueron colocadas en contenedores plásticos de 1 onza y alimentadas con dieta artificial (Southland Products Incorporated, USA), mantenidas bajo condiciones de laboratorio en una cámara de cría a una temperatura de 27±1 °C, con una humedad relativa > 70 % y un fotoperiodo de 12:12 (L: O).

Los especímenes de *Podisus* sp., fueron recolectados en un huerto de manzano y una parcela de maíz ubicados en El Terrero, Namiquipa (29° 18' 84''N; 107° 44' 21''O). Los insectos fueron colocados en contenedores plásticos de 1 oz, dentro de los cuales se les colocó una larva de *C. rosaceana* o *S. frugiperda* y fueron trasladados al Laboratorio de Fisiología, de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico del CIAD, Unidad Cuauhtémoc. Las ninfas y adultos de *Podisus* sp. Se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio en una cámara de cría a una



temperatura de 27 ± 1 °C, con una humedad relativa > 70 % y un fotoperiodo de 12:12 (L: O), alimentadas con larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebroide), *C. rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) y *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Evaluación de la capacidad depredadora de *Podisus* sp., sobre larvas de *C. rosaceana*

Los bioensayos de laboratorio se realizaron de acuerdo a la metodología de Zanuncio *et al.*, (2008), para lo cual, los especímenes de *Podisus* sp., se mantuvieron en inanición por 6 h previo a los bioensayos. Posterior a esto, se colocaron 5 larvas de *C. rosaceana* de tercer y cuarto estadio con un espécimen de *Podisus* sp., dentro de contenedores plásticos (8 compartimentos de 8x9x3 cm) y se observó el número de larvas consumidas por un periodo de 24 h.

Resultados Y Discusión

De las 1200 larvas de diferentes estadios de *C. rosaceana*, recolectadas en campo y mantenidas en laboratorio, alimentadas con dieta artificial, no se obtuvieron parasitoides.

De los insectos depredadores recolectados en huertos de manzano y parcelas de maíz del municipio de Namiquipa, fue el depredador polífago *Podisus* sp., que se alimenta de muchas especies de insectos fitófagos, particularmente de larvas de lepidópteros, coleópteros, áfidos, entre otros (De Bortoli *et al.*, 2011), en este estudio se encontró a *Podisus* sp., alimentándose de larvas de *C. rosaceana* y *S. frugiperda* (Figura 1, a y b). Se recolectaron 75 especímenes de *Podisus* sp., y 5 masas de huevos con un promedio de 21 huevos por masa en huertos de manzano; y 17 adultos y 17 masas de huevos con un promedio de 22 huevos por masa en parcelas de maíz (Cuadro 1).

Este insecto es encontrado desde Sudamérica hasta América Central (Thomas, 1992) y depreda cerca de 90 especies de larvas de insectos de importancia económica con mayor afinidad a lepidópteros (Torres *et al.*, 2006). Sarvary *et al.* (2010) comentan que las generaciones de verano de *C. rosaceana* son escasos en hábitats no perturbados, pero abundantes en huertos de manzano manejados y lo atribuye a la velocidad relativa del parasitismo o depredación por algunas especies que difiere en ambos sistemas.

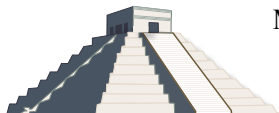


Figura 1. Adultos de *Podisus* sp., alimentándose de larvas de; a) *C. rosaceana* y b) *S. frugiperda* (b).

Cuadro 1. Número de especímenes de *Podisus* sp., recolectados en manzano y maíz.

Cultivo	Estadio	Número
Manzano	Ninfa 1	44
	Ninfa 2	10
	Ninfa 3	5
	Ninfa 4	5
	Ninfa 5	1
	Adulto	5
	Masas de huevos	5
Maíz	Adulto	17
	Masa de huevos	17
Total	Especímenes	92
	Masas de huevos	22

Podisus sp., es un depredador de tamaño mediano (Fig. 2). Cuando las presas son escasas, pueden alimentarse de jugos de plantas, sin embargo, no se ha reportado como fitófago.

Los huevos son de aproximadamente 1 mm de diámetro, con proyecciones alargadas alrededor del opérculo que es una característica distintiva del género *Podisus* spp. Los huevos son depositados en masas ovaes sueltas que van de 17 a 70 (Fig. 2 a).

La ninfa del primer instar tiene una longitud de 1.3 a 1.5 mm, el ancho de la cabeza incluyendo los ojos es de 0.6 mm y el ancho del humeral es de 0.9 mm. En este instar la cabeza y el tórax son negruzcos y el abdomen rojizo, con placas laterales y dorsales negras (Fig. 2 b). Las ninfas de segundo instar tienen un tamaño de 2.5 a 3.0 mm, el ancho de la cabeza es de 0.9 mm el ancho del humeral es de 1.3 mm. En la coloración se asemeja al primer estadio solo cambia el tamaño (Fig. 2 c). El tercer instar tiene una longitud de 6 mm aproximadamente, el ancho de la cabeza es de 1.7 mm y el ancho del humeral es de 3.2 mm. La coloración y patrones del cuarto instar son similares a los del tercero, pero las bases alares se hacen más evidentes (Fig. 2 d, e). Las ninfas



del quinto instar tienen una longitud de 8-10 mm, el ancho de la cabeza es de 2.2 mm y el ancho del humeral es de 4.8 mm. Las alas en desarrollo son más prominentes y la cabeza y el tórax se tornan de color moteado con marrón. Las marcas abdominales son blancas o bronceadas o negras (Fig. 2 f).

El adulto macho es de aproximadamente 11 mm de longitud. El ancho de su cabeza es de 2.3 mm y el ancho del humeral, incluyendo las espinas, es de 7.6 mm. Las hembras son ligeramente más grandes. Cada femur posterior de *Podisus* spp., tiene dos puntos negros en el tercio apical (Fig. 2 g, h) (Universidad de Florida, s/a).

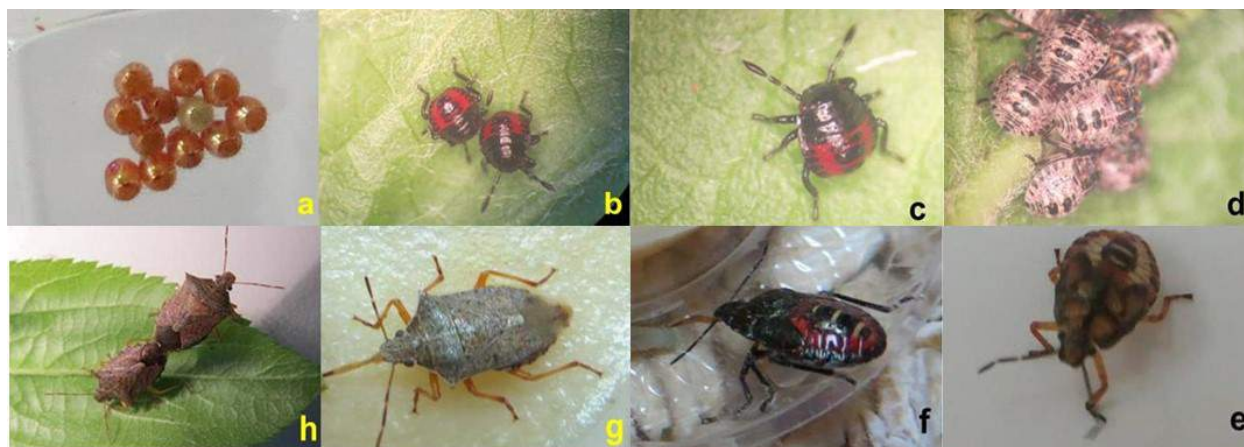


Figura 2. Estados de desarrollo del depredador generalista *Podisus* sp. a) huevos, b) ninfa de primer estadio, c) ninfa de segundo estadio, d) ninfa de tercer estadio, e) ninfa de cuarto estadio, f) ninfa de quinto estadio, g y h) adultos.

De las 220 larvas de *C. rosaceana* que se colocaron a las ninfas de primer estadio de *Podisus* sp., solo 77 fueron consumidas dentro de las primeras 24 h, con un consumo promedio de 1.75 larvas por ninfas de primer estadio (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados preliminares de depredación de ninfas de *Podisus* sp., sobre larvas de tercer y cuarto estadio de *Choristoneura rosaceana*.

Depredador	Estadio ninfal y número de individuos	No. inicial y total de larvas de <i>C. rosaceana</i>	Consumo	
			Número de individuos	Promedio
<i>Podisus</i> sp.	Ninfa 1 (44)	5 (220)	77	1.75
	Ninfa 2 (10)	5 (50)	13	1.3
	Ninfa 3 (5)	5 (25)	6	1.2
	Ninfa 4 (5)	5 (25)	7	1.4



Literatura citada

- Barbosa, P. 1998. Conservation Biological Control. Academic Press, San Diego, pp396.
- Bautista-Martínez, N., Chavarín, C., López, E. 2011. Primer reporte del enrollador de bandas oblicuas, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae), en manzano en el Ejido Vista Hermosa, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Acta Zoológica Mexicana. 27(3), 819-824.
- De Bortoli S. A., A. K. Otuka, A. M. Vacari, Ma. I.E.G. Martins, H. X.L. Volpe. 2011. Comparative biology and production costs of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) when fed different types of prey. Biological Control. 58: 127-132.
- García, C., González, M. B., Cortez, E. 2012. Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. Ra Ximhai. 57-70.
- Jones, V. P.; Unruh, T. R.; Horton, D. R.; Mills, N. J.; Brunner, J. F.; Beers, E. H.; Shearer, P. W. 2009. Tree fruit IPM programs in the western United States: the challenges of enhancing biological control through intensive management. Pest Management Science. 65: 1263-1377.
- Ramírez, M. R., Jacobo, J. L., Ávila, M. R., y Parra, R. A. 2004. Eficiencia del uso de paguicidas en huertos de manzano [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. domestica (Borkh.) Mansf.] en Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 22(3): 403-413.
- Sarvary, M. A.; Nyrop, J.; Reissing, H. 2010. Effects of natural enemies and host plants in wild and orchard habitats on obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) larval survival. Biological Control. 55: 110-117.
- Soto, J. 2008. Caracterización molecular de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y evaluación de su toxicidad sobre gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente. IPN. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, México. 87:22-30.
- Sparks, A.N. 1986. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): potential for area-wide management. Florida Entomol. 69: 603:614.
- Straub, C. S.; Finke, D. L.; Snyder W. E. 2007. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biological Control. 45: 225-237.
- Thomas, D. 1992. Taxonomic synopsis of the Asopinae Pentatomidae (Heteroptera) of the western Hemisphere. Entomological Society of America, Lanham.
- Tinoco, R., and Halperin, D. 1998. Poverty, production and health: inhibition of erythrocyte cholinesterase through occupational exposure to organophosphate insecticides in Chiapas, México. Arch. Environ. Health. 53:29-35.
- Torres, J. B.; Zanoncio, J.C.; Moura, M A. 2006. The predatory stinkbug *Podisus maculiventris*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* forest in Brazil. Biocontrol News and Information. 27: 1-18.
- Universidad de Florida. S/a. Disponible en línea http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/beneficial/podisus_maculiventris.htm, consulta septiembre 2014.
- Zanoncio, J. C., Domínguez, C. A., Rodrigues, E., Fagundes, F., Souza, F., and Serrao, J. E. 2008. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Brazilian archives of biology and technology. 51: 121-125.



PARASITISMO NATURAL DE ÁFIDOS (Hemiptera: Aphididae) EN EL CULTIVO DE NOGAL *Carya illinoensis* (Wang.) K. Koch EN LA COMARCA LAGUNERA

Carmen Angélica Vacio-Fraga¹, Verónica Ávila-Rodríguez¹ y Urbano Nava-Camberos². ¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México. C.P. 35010. carmenvacio@gmail.com, vavilar@gmail.com. ²Facultad de Agricultura y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango, Ej. Venecia, Gómez Palacio, Durango, México. Apartado Postal 1-142. C.P. 35000. nava_cu@hotmail.com

Resumen. El mayor parasitismo fue en el áfido negro (25.9 %), mínimo en el áfido amarillo de márgenes negros (0.3 %) y nulo en el áfido amarillo. El mayor nivel de parasitismo fue en la huerta con manejo convencional. Se identificaron parasitoides de la superfamilia Chalcidoidea: familias Aphelinidae (género *Aphytis*), Eulophidae (género *Quadrasticus*), Encyrtidae y Torymidae; y de la superfamilia Ichneumonoidea: la familia Braconidae.

Palabras clave: Nogal pecanero, parasitismo, áfidos, Comarca Lagunera, México.

Introducción

El valor de la producción de la nuez pecanera en la Comarca Lagunera fue de \$389.151 millones de pesos (\$55,000/ha) (El Siglo de Torreón, 2013). Entre las plagas que atacan este cultivo destacan los áfidos, los barrenadores de la nuez y las chinches (Aguilar-Pérez, 2007). Las especies que conforman el complejo de áfidos del nogal son *Monellia caryella* Fitch, *Monelliopsis pecanis* Bissell y *Melanocallis caryaefoliae* Davis (Hemiptera: Aphididae) (Sáenz, 1999 y Tarango, 2005). El áfido amarillo de márgenes negros (*M. caryella*) y el áfido amarillo (*M. pecanis*) extraen savia de hojas y producen mielecilla, mientras que el áfido negro *M. caryaefoliae* succiona savia lo que provoca defoliaciones (Nava y Ramírez, 2002). El control de áfidos se lleva a cabo principalmente con el uso de insecticidas (Bahena-Juárez *et al.*, 2000), pero actualmente se hace uso de sus enemigos naturales para disminuir sus poblaciones (Muñiz-Reyes *et al.*, 2011). Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue determinar el parasitismo natural de los áfidos en el cultivo de nogal en la Comarca Lagunera e identificar sus parasitoides.

Materiales y métodos

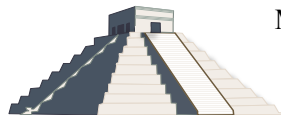
El presente trabajo se realizó en tres huertas de la Comarca Lagunera: en el ejido Hormiguero, del municipio de Matamoros, Coah., El Refugio y Venecia, del municipio de Gómez Palacio, Dgo. Estos cultivos se encuentran bajo distintos manejos de plaguicidas, como convencionales, biorracional y orgánico, respectivamente. La siguiente etapa fue en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango (FCB-UJED). Para la recolecta de áfidos para determinar parasitismo se realizaron 2 muestreos en promedio al mes de abril a septiembre de 2012 en los cuales se recolectaron 30 áfidos por localidad en cada muestreo (sin importar el estadio en el que se encontraban); posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Entomología de la FCB-UJED para su



procesamiento. Las ninfas y áfidos adultos recolectados se metieron en cajas de Petri de 85 x 15 mm donde se les colocó un algodón con agua y un foliolo del nogal, y se sellaron con papel parafina (Ceballos *et al.*, 2009). Los áfidos parasitados se individualizaron en cajas de Petri de 35 x 10 mm que fueron selladas con papel parafina. Muestras adicionales de áfidos no parasitados se vaciaron en alcohol al 70 % y para su identificación se utilizaron las claves de Quiñones (1997). Los áfidos momificados se dejaron en las cajas de Petri selladas hasta que el parasitoide adulto emergió de ellos. Los parasitoides fueron observados en el microscopio estereoscópico. Para la ubicación taxonómica se utilizó la guía de identificación de himenópteros de Goulet y Huber (1993), las claves de Myartseva *et al.*, (2012), así como las claves de himenópteros parasíticos reportadas por González-Hernández *et al.*, (2010).

Resultados

Se identificaron los áfidos *Monellia caryella* Fitch, *Monelliopsis pecanis* Bissell y *Melanocallis caryaefoliae* Davis (Hemiptera: Aphididae). De los áfidos recolectados del mes de abril a junio no se obtuvieron parasitoides, sino hasta los muestreos realizados de julio a septiembre. De los 810 áfidos amarillos y negros recolectados en las tres localidades de la Comarca Lagunera se obtuvieron 61 parasitoides, lo que corresponde a un 7.5 % de parasitismo en las tres especies de áfidos, durante todo el período de muestreo. De los 61 parasitoides obtenidos, 60 de ellos emergieron de áfidos negros *M. caryaefoliae* con un 25.9 % de parasitismo durante todo el ciclo del cultivo. El parasitismo de esta especie fluctuó de 0 a 95.7 % a lo largo de todo el período de estudio, durante abril a junio no se registró parasitismo, en julio el parasitismo fue bajo (4.3 a 15.8 %) mientras que el máximo nivel de parasitismo ocurrió a finales de agosto (6.7 a 95.7 %), y en septiembre, a finales del ciclo del cultivo, el nivel de parasitismo fue intermedio (18.2 a 44.4 %). En el caso de los áfidos amarillos con márgenes negros *M. caryella* sólo se obtuvo un parasitoide durante todo el período de muestreo, lo que corresponde a un 0.3% de parasitismo. En tanto que en los áfidos amarillos *M. pecanis* no se observó parasitismo. El nivel de parasitismo más bajo se presentó en la huerta con manejo biorracional de plagas, El Refugio, Dgo. con 2.1 % para las tres especies de áfidos y 8.8 % para el áfido negro; el parasitismo fue intermedio en la huerta con manejo orgánico, Venecia, Dgo. con 5.6 % para las tres especies de áfidos y 21.5 % para el áfido negro; mientras que el nivel más alto de parasitismo tuvo lugar en la huerta con manejo convencional, Hormiguero, Coah. con 17.1 % para las tres especies de áfidos y 43.5 % para el áfido negro. Todos los parasitoides de las tres localidades pertenecieron al Orden Hymenoptera; la mayoría de ellos se ubicaron en la Superfamilia Chalcidoidea, excepto uno de ellos que se ubicó en la Superfamilia Ichneumonoidea (Cuadro 1). En la localidad de Hormiguero, Coah., de los 38 parasitoides emergidos, 36 pertenecieron a la familia Aphelinidae y al género *Aphytis* (Figura 1) incluyendo el único parasitoide del áfido amarillo con márgenes negros, y los restantes 2 parasitoides se ubicaron en la familia Encyrtidae (Figura 1). De los 17 parasitoides que emergieron de la localidad Venecia, Dgo., 15 de ellos fueron de la familia Aphelinidae del género *Aphytis*, 1 de la familia Eulophidae del género *Quadrastichus mendeli* (Figura 1) y 1 de la familia Encyrtidae. De los 6 parasitoides de la localidad El Refugio, Dgo., 1 pertenece a la Superfamilia Ichneumonoidea en la familia Braconidae y subfamilia



Microgastrinae (Figura 1), 1 de la familia Torymidae (Figura 1), 1 de la familia Encyrtidae y 3 son de la familia Aphelinidae del género *Aphytis*.

Cuadro 1. Ubicación taxonómica de los parasitoides emergidos de los áfidos del nogal en tres huertas de cultivo de nogal, Comarca Lagunera, 2012.

Localidad	Superfamilia	Familia	Género	No de individuos	Especie de áfido huésped
Hormiguero, Coah.	Chalcidoidea	Aphelinidae	<i>Aphytis</i>	35	<i>M. caryaefoliae</i>
		Encyrtidae		1	<i>M. caryella</i>
		Encyrtidae		2	<i>M. caryaefoliae</i>
Venecia, Dgo.	Chalcidoidea	Aphelinidae	<i>Aphytis</i>	15	<i>M. caryaefoliae</i>
		Eulophidae	<i>Quadrastichus</i>	1	<i>M. caryaefoliae</i>
		Encyrtidae		1	<i>M. caryaefoliae</i>
El Refugio, Dgo.	Chalcidoidea	Aphelinidae	<i>Aphytis</i>	3	<i>M. caryaefoliae</i>
		Torymidae		1	<i>M. caryaefoliae</i>
		Encyrtidae		1	<i>M. caryaefoliae</i>
		Ichneumonoidea	Braconidae		1

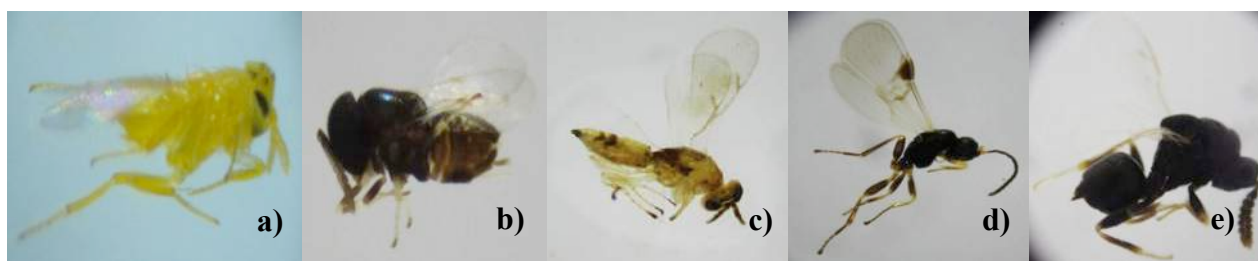


Figura 1. Parasitoides emergidos de áfidos del nogal en la Comarca Lagunera en el ciclo agrícola 2012. a) Parasitoides del género *Aphytis*. b) Parasitoides de la familia Encyrtidae. c) Parasitoides de la especie *Quadrastichus mendeli*. d) Parasitoides de la familia Braconidae, de la subfamilia Microgastrinae. e) Parasitoides de la familia Torymidae.

Discusión

Parasitismo de los áfidos del nogal. El parasitismo encontrado en los áfidos en la Comarca Lagunera fue bajo, con sólo 7.5 % de parasitismo general. Pero en el caso específico del áfido negro el parasitismo fue alto alcanzando hasta un 95.7 % a finales del mes de agosto. El 98% de los parasitoides obtenidos emergieron del áfido negro *M. caryaefoliae*, solamente se obtuvo un parasitoides que emergió de un áfido amarillo con márgenes negros *M. caryella* y ninguno



emergió del áfido amarillo *M. pecanis*. Lo encontrado en este trabajo no coincide con las investigaciones de Tedders (1978), Sáenz (1999), en los reportes de Zavala (1997) y Tarango (2005) ya que ellos han encontrado que los áfidos amarillos *M. caryella* y *M. pecanis* cuentan con diversos parasitoides que lo atacan, por lo cual se sugiere realizar otro estudio poniendo mayor énfasis en el parasitismo de las dos especies de áfidos amarillos con el propósito de confirmar los resultados obtenidos en el presente estudio. En relación con el alto nivel de parasitismo observado en la huerta de Hormiguero, Coah. con manejo convencional en comparación al nivel de parasitismo bajo en las huertas de manejo orgánico y biorracional, parece estar relacionado con las altas densidades de áfidos negros en la huerta de Hormiguero, Coah. a partir del mes de julio, en comparación con las poblaciones bajas observadas en las huertas de El Refugio y Venecia, Dgo., es decir que los parasitoides contaron con una gran cantidad de huéspedes (alimento) durante los meses de julio y agosto en la huerta de Hormiguero, Coah.; al respecto Nicholls (2008), determina que existe una relación de densodependencia entre los parasitoides y sus huéspedes: si la población de insectos disminuye debido a los parasitoides, habrá un punto en el que éstos últimos no contarán con alimento suficiente, su población se verá afectada y declinará.

Identificación de parasitoides. Las especies de parasitoides encontradas en el presente trabajo se ubicaron en las familias Aphelinidae (género *Aphytis*), Eulophidae (género *Quadrasticus*), Encyrtidae y Torymidae dentro de la superfamilia Chalcidoidea y dentro de la superfamilia Ichneumonoidea a un organismo de la familia Braconidae, subfamilia Microgastrinae. Los resultados obtenidos en relación a las especies de parasitoides encontrados difieren por los reportados por Tedders (1978) quien identificó a *A. perpallidus* y al braconido *Trioxys* sp. parasitando a áfidos en huertas de Georgia, E. U.; por su parte Zavala (1997) reporta a *A. schlingeri*, *T. complanatus*, *T. monelliopsis* y *T. pallidus* como parasitoides de áfidos en huertas de E. U. En relación a los parasitoides encontrados en huertas de nogal en México, Sáenz (1999) y Tarango (2005) reportan en nogaleras del estado de Chihuahua a la especie *Aphelinus* sp. parasitando al complejo de áfidos. Aunque la diversidad de parasitoides encontrados en las huertas de la Comarca Lagunera es diferente a las reportadas por los autores mencionados, se requiere incrementar el número de localidades a muestrear para poder observar mayor diversidad.

Agradecimientos. De forma especial agradecemos a los dueños, encargados y demás personal laboral de las tres nogaleras (Hormiguero, Coah., El Refugio y Venecia, Dgo.) por las facilidades otorgadas durante esta investigación en el ciclo agrícola 2012.

Literatura citada

- Aguilar-Pérez, J. H. 2007. Principales plagas de nogal en el Norte de Coahuila. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Sitio Experimental Zaragoza. Folleto Técnico Núm. 14, Zaragoza, Coahuila, México. 28 p.
- Bahena-Juárez, F., R. Peña-Martínez y J. R. Lomelí-Flores. 2000. Los áfidos (Homoptera: Aphididae) y sus parasitoides, en el Valle Morelia-Querétaro, Michoacán, México. Memoria del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico. Guanajuato, Gto., México. 16-18 Nov, pp. 44-46. INIFAP, MEXICO.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Ceballos, M., Martínez, M. A., Duarte, L., Lellanis, H. y Sánchez, A. 2009. Asociación áfidos-parasitoides en cultivos hortícolas. *Revista Protección Vegetal* 24: 180-183.
- El Siglo de Torreón. 2013. Resumen económico anual de la Comarca Lagunera. Edición especial. Torreón, Coahuila. Miércoles 1 de enero del 2014. P. 26.
- González-Hernández, A., España-Luna, M. P. y Ávila-Rodríguez, V. 2010. Principales familias de Hymenoptera-Parasítica y aplicaciones de la Sistemática Molecular en himenópteros parasitoides. En: Toledo, R., Coria, V. M. y Rocha, M. C. (eds.). Memoria del XXI Cuso Nacional de Control Biológico. Uruapan, Mich., México. 08-10 Nov., pp. 30-60.
- Goulet, H. and Huber, J. 1993. Hymenoptera of the world: An identification guide to families. Agriculture Canada. Ottawa, Canada. P. 668.
- Muñiz-Reyes, E., Lomeli-Flores, J. R. y Sánchez-Escudero, J. 2011. Parasitoides nativos de *Rhagoletis Pomonella* Walsh (Dípera-Tephritidae) en tecojote *Crataegus spp. en el centro de México. Acta Zoológica Mexicana* 27: 425-440.
- Myartseva, S. N., Ruíz, E. y Coronado, J. M. 2012. Aphelinidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) de importancia agrícola en México. Revisión y claves. Universidad Autónoma de Tamaulipas. P. 400.
- Nava, U. y Ramírez, M. 2002. Manejo integrado de plagas de nogal, pp. 145-172 *In: Tecnología de producción en nogal pecanero. CELALA-CIRNOC-INIFAP Matamoros, Coah. Libro técnico no.3.*
- Nicholls, C. I. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. P. 278.
- Quiñones, F. J. 1997. Muestreo y control de pulgones del nogal En: Rodríguez, L. A. y Tarango, S. H. (eds). Manejo integrado de plagas del nogal. INIFAP, C. E. Delicias, Chihuahua, México pp 81-109.
- Sáenz, M. T. 1999. Pulgones (Homoptera: Aphididae) del nogal, *Carya illinoensis* (Wanggenh) K. Koch y el efecto de los ácidos polihidroxicarboxílicos (PHCA) sobre poblaciones de campo. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad de Chihuahua.
- Tarango, S. H. 2005. Control biológico de áfidos del nogal pecanero. Folleto Técnico No 22. INIFAP. Campo Experimental Delicias, Chihuahua. P. 37.
- Tedders, W. L. 1978. Important biological and morphological characteristics of the foliar-feeding aphids of pecan. Technical Bulletin 1579. USDA. 29 p.
- Zavala, M. G. 1997. Parasitoides asociados a las plagas del nogal. En: Rodríguez, L. A. y Tarango, S. H. (eds). Manejo integrado de plagas del nogal. INIFAP, C. E. Delicias, Chihuahua, México pp 229-237.



PARASITISMO NATURAL DE CRISÓPIDOS EN EL CULTIVO DE NOGAL *Carya illinoensis*, K. Koch, EN LA COMARCA LAGUNERA

Josué Manuel De La Cruz-Ramos¹, Verónica Ávila-Rodríguez¹, Urbano Nava-Camberos², María Guadalupe Torres-Delgado¹. ¹Facultad de Ciencias Biológicas, UJED, Gómez Palacio Dgo. ²Facultad de Agricultura y Zootecnia, UJED, Venecia, Dgo. Josueramos1091@gmail.com

Resumen: Se obtuvieron 64 parasitoides, 15 de ellos emergieron de huevecillos y 49 de pupas de crisópidos, todos los parasitoides pertenecieron al orden Hymenoptera, los cuales se ubican dentro de la Superfamilia Chalcidoidea y las familias Aphelinidae, Eurytomidae, Scelionidae, Pteromalidae y Perilampidae. Los parasitoides más abundantes pertenecieron al género *Perilampus* con 40.6% del total de parasitoides emergidos, los cuales parasitaron pupas de crisopas. En segundo lugar se encuentran los parasitoides de pupas del género *Pachyneuron* con 31.3% del total de parasitoides. Los parasitoides de pupas del género *Eurytoma* ocuparon el tercer lugar en abundancia con 21.9%. Los parasitoides de huevecillos de los géneros *Telenomus* y *Aphitis* presentaron una baja abundancia, con 4.7 y 1.6%, respectivamente.

Palabras clave: Parasitoides, *Chrysoperla*, nogal, Comarca Lagunera, México.

Introducción

El nogal pacanero (*Carya illinoensis* K. Koch) es una especie hortofrutícola de alta rentabilidad, por lo que anualmente se incrementa la superficie dedicada a este frutal (Orona *et al.*, 2006). La producción de nuez ha alcanzado un importante crecimiento en el norte de México y sur de Estados Unidos. La superficie sembrada en el 2013 fue de 7,075 ha con una producción total de 8,648 toneladas (1.22 t/ha) representando un valor de 389,151,270 mdp (\$55,003/ha) (El siglo de Torreón *et al.*, 2013). Algunas de las variedades en la Comarca Lagunera son: Western, Wichita, Burkett, San Saba improved, Stuart, Barton y Mahan, siendo las más importantes la Western y la Wichita (González *et al.*, 2009).

Las principales plagas en el cultivo de nogal en la región de Coahuila son: Salivazo (*Clastoptera achatina*), Barrenador De La Nuez (*Acrobasis nuxvorella*), Pulgón Amarillo (*Monellia caryella*), Barrenador Del Ruezno (*Cydia cariana*), Pulgón Negro (*Melanocallis caryaefoliae*), Chinchas (*Nezara viridula* (Linnaeus), *Euschistus servus* (Say), *Leptoglossus phyllopus* (Linnaeus), *Chlorochroa ligata* (Say) (Aguilar *et al.*, 2007).

Debido a los distintos daños que las plagas pueden provocar a los árboles de nogal se han aplicado una gran variedad de insecticidas para disminuir las poblaciones, pero en los últimos 100 años se ha tratado de implementar el control biológico para aplicar cualquier método de control natural en el que por medio del estudio de la biología de las plagas se puede encontrar un depredador que pueda estabilizar las poblaciones, y de esta manera remplazar a los productos químicos, debido a la serie de problemas que les preceden. Los principales depredadores usados en el nogal son: crisopa verde (*Chrysoperla carnea* y *C. rufilabris* (Stephens)), catarina japonesa (*Harmonia axyridis* (Pallas)), catarina gris (*Olla v-nigrum* (Mulsant)) y catarina convergente



(*Hippodamia convergens* (Mulsant)). Otros depredadores de gran importancia, son algunas especies nativas de chinche asesina (*Zellus spp.*) (Nava y Ramírez *et al.*, 2003).

Los crisópidos constituyen una de las familias de enemigos naturales más importantes en programas de Manejo Integrado de plagas (Hagen *et al.*, 1999). A su vez los crisópidos poseen enemigos naturales que atacan a sus estados de desarrollo reduciendo su capacidad depredadora para controlar las plagas como son el complejo de pulgones (Johnson *et al.*, 1989). Actualmente se tienen pocos registros acerca de las especies de parasitoides presentes en las nogaleras de la región, al igual que datos sobre el porcentaje de parasitismo de crisópidos, por lo que el objetivo del presente trabajo fue identificar y conocer el porcentaje de parasitismo sobre las especies cultivo del nogal de la Comarca Lagunera.

Materiales y métodos

Trabajo en campo: El presente estudio se realizó durante el 2012 en tres huertas de nogal: 1) Hormiguero, 2) El Refugio y 3) Venecia (FAZ- UJED), con diferente tipo de manejo, convencional, bioracional y orgánico respectivamente. Se colectaron crisópidos en los distintos estadios (huevecillo, larva, pupa y adulto) mensualmente por localidad y se llevaron al laboratorio. Los especímenes recolectados fueron depositados en frascos (cámaras de emergencia) pequeños, con alimento para las larvas y algodón y una solución de sacarosa para los adultos.

Trabajo de laboratorio: Las muestras se depositaron en cámaras de emergencia por separado, para poder tener una revisión periódica cada tercer día durante dos semanas y observar la presencia de parasitoides. Para la identificación de especímenes se realizaron mediante claves específicas: Principales familias de Hymenoptera-Parasítica y aplicaciones de la sistemática molecular en Himenópteros parasitoides (González-Hernández *et al.*, 2010)

Resultados y discusión

Parasitismo: De los 64 parasitoides obtenidos en todas las localidades muestreadas, 15 de ellos emergieron de huevecillos y 49 de pupas de crisópidos, todos los parasitoides pertenecieron al orden Hymenoptera, los cuales se ubican dentro de la Superfamilia Chalcidoidea.

Identificación de parasitoides: se identificaron parasitoides de las familias Aphelinidae, Eurytomidae, Scelionidae, Pteromalidae y Perilampidae (Figura 1). En la localidad de Hormiguero, Coah., de los 31 parasitoides emergidos, 16 pertenecieron a al género *Perilampus* de la familia Perilampidae, 14 parasitoides pertenecieron al género *Pachyneuron* de la familia Pteromalidae y un parasitoide identificado como cercano al género *Aphitis sp.* de la familia Aphelinidae. Para la localidad de la FAZ-UJED emergieron 26 parasitoides, 11 de ellos pertenecieron al género *Telenomus* de la familia Scelionidae, 7 parasitoides pertenecieron al género *Perilampus*, 5 pertenecieron al género *Pachyneuron* y 3 parasitoides pertenecieron al género *Eurytoma* de la familia Eurytomidae. De los 7 parasitoides emergidos en la localidad de



El Refugio, 3 pertenecieron al género *Telenomus*, 3 pertenecieron al género *Perylampus* y 1 perteneció al género *Pachyneuron* (Cuadro 1).

Los parasitoides más abundantes pertenecieron al género *Perilampus* con 40.6% del total de parasitoides emergidos, los cuales parasitaron pupas de crisopas. En segundo lugar se encuentran los parasitoides de pupas del género *Pachyneuron* con 31.3% del total de parasitoides. Los parasitoides de pupas del género *Eurytoma* ocuparon el tercer lugar en abundancia con 21.9%. Los parasitoides de huevecillos de los géneros *Telenomus* y *Aphitis* presentaron una baja abundancia, con 4.7 y 1.6%, respectivamente. De acuerdo con los datos obtenidos, la mayoría de los parasitoides (93.7%) atacaron pupas de crisopas y el resto (6.3%) atacaron huevecillos del depredador (Cuadro 2). Al respecto Quintana *et al.*, (2013) indican que en huertas comerciales de manzano de los municipios de Guereño y Cuauhtémoc en el estado de Chihuahua se colectaron pupas de crisópodos de las cuales obtuvieron 5 especies de parasitoides que corresponden a las familias Ichneumonidae y Encirtidae, la especie más abundante fue *Brachycytrus ornatus* con un 50 %, seguida por *Isodromus Iceryae* con un 9 % y las 3 especies restantes con un 5.6 % con respecto al parasitismo sobre crisópodos, en el presente estudio se encontraron familias completamente diferentes con lo que respecta a las pupas colectadas, las cuales pertenecen a las familias Pteromalidae, Perilampidae y Eurytomidae y a los géneros *Pachyneuron*, *Perilampus* y *Eurytoma* respectivamente, siendo *Perilampus* el más abundante con 26 parasitoides emergidos, seguido de *Pachyneuron* con 20 ejemplares y por ultimo con menor número fue *Eurytoma* con tres ejemplares.



Figura 1. Familias y géneros de parasitoides de crisopidos identificados del cultivo del nogal en la Comarca Lagunera: a) Eurytomidae: *Eurytoma*, b) Pteromalidae: *Pachyneuron*, c) Scelionidae: *Telenomus*, d) Perilampidae: *Perilampus*, y e) Aphelinidae: *Aphitis*.

Conclusiones

1. Los parasitoides de huevecillos y pupas de crisopas pertenecieron a los siguientes géneros: *Perilampus* (Perilampidae), *Pachyneuron* (Pteromalidae), *Eurytoma* (Eurytomidae), *Telenomus* (Scelionidae) y *Aphitis* (Aphelinidae).
2. No se observó parasitismo en larvas y adultos de crisopas. Se registró parasitismo en huevecillos y pupas de crisopas, el parasitismo de pupas fue mayor que el de huevecillos.
3. El parasitismo fue bajo (0 a 20%) tanto en huevecillos como en pupas de crisopas a lo largo del ciclo del cultivo de nogal. Se encontró mayor parasitismo en la huerta con



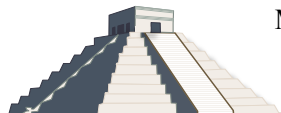
manejo orgánico de plagas, en comparación con las huertas con manejo biorracional o convencional.

Literatura citada

- Aguilar-Pérez, J. H. 2007. Principales plagas de nogal en el norte de Coahuila. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Saltillo. Sitio experimental Zaragoza. Folleto técnico Núm. 14. Zaragoza, Coahuila, México. 28 Pp.
- El Siglo de Torreón. 2013. Resumen económico anual de la Comarca Lagunera. Edición especial. Torreón Coahuila. p. 24.
- González-Hernández, A., M. P. España-Luna y V. Ávila-Rodríguez. 2010. Principales familias de Hymenoptera-Parasítica y aplicaciones de la sistemática molecular en Himenópteros parasitoides. pp 30-60. En XXI Curso Nacional de Control Biológico. Uruapan, Michoacán, México. Del 8 al 10 de noviembre.
- Hagen, K.S., Mills, N. J., Gordh, G. y Mcmurtry, J. A., 1999. Terrestrial Arthropod Predators of Insects and Mite Pest. En: Bellows, T. S and T.S. and T. W. Fisher (Eds.) Hand Book of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control. Academic Press. San Diego, USA 1046pp.
- Johnson, F.N. y Bin, F. 1982. Species of *Telenomus* (Hymenoptera: Scelionidae), parasitoids of stalked eggs of Neuroptera (Chrysopidae and Berothidae). Redia, LXV: 189- 206.
- Nava, C. U. y Ramírez D, M. 2003. Uso de Depredadores en el Control de Plagas del Nogal. INIFAP Campo Experimental la Laguna, Curso Nacional Identificación de Depredadores en Control Biológico Chrysopidae y Coccinellidae, Monterrey Nuevo León, México. Km 17 Carretera Torreón Matamoros, 27000 Matamoros, Coahuila.
- Orona, I.; Espinoza, J.; González, G.; Murillo, B.; García, J. L.; Santamaria, J. 2006. Aspectos técnicos y socioeconómicos de la producción de nuez (*Carya illinoensis*) en la Comarca Lagunera, México. Agric. Téc. Méx. 32: 295–301.

Cuadro 1. Número de parasitoides emergidos de huevecillos y pupas de crisopas colectados en tres huertas de nogal, Comarca Lagunera, 2012.

Localidad	Familia	Género	Número de parasitoides	Estado biológico de crisopas	
Hormiguero	Aphelinidae	<i>Aphitis</i>	1	Huevecillo	
	Pteromalidae	<i>Pachyneuron</i>	14	Pupa	
	Perilampidae	<i>Perilampus</i>	16	Pupa	
FAZ- UJED	Scelionidae	<i>Telenomus</i>	11	Huevecillo	
	Pteromalidae	<i>Pachyneuron</i>	5	Pupa	
	Eurytomidae	<i>Eurytoma</i>	3	Pupa	
	Perilampidae	<i>Perilampus</i>	7	Pupa	
Refugio	Scelionidae	<i>Telenomus</i>	3	Huevecillo	
	Pteromalidae	<i>Pachyneuron</i>	1	Pupa	
	Perilampidae	<i>Perilampus</i>	3	Pupa	
Total	Perilampidae	<i>Perilampus</i>	26	Pupa	
	Pteromalidae	<i>Pachyneuron</i>	20	Pupa	
	Eurytomidae	<i>Eurytoma</i>	14	Pupa	
	Scelionidae	<i>Telenomus</i>	3	Huevecillo	
	Aphelinidae	<i>Aphitis</i>	1	Huevecillo	
	Gran total			64	



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
 Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Cuadro 2. Porcentajes de parasitismo en diferentes estados biológicos de crisopas en tres huertas de nogal, Comarca Lagunera, abril a septiembre del 2012.

Fecha de colecta	Localidad	Estado biológico de crisopas			
		Huevo	Larva	Pupa	Adulto
26 -28 de Abril	Hormiguero	0 (4)*	----	----	----
	Refugio	2.1 (97)	0 (5)	----	0 (1)
	Faz-Ujed	2.7 (37)	0 (5)	0 (1)	0 (1)
17-18 de Mayo	Hormiguero	0 (30)	0 (6)	0 (1)	0 (3)
	Refugio	3.3 (30)	0 (5)	----	0 (4)
	Faz-Ujed	3.3 (30)	0 (10)	0 (1)	----
29-30 de Junio	Hormiguero	0 (22)	0 (2)	4.2 (24)	0 (15)
	Refugio	0 (37)	0 (2)	20.0 (5)	0 (20)
	Faz-Ujed	0 (41)	0 (1)	4.8 (21)	0 (10)
30-31 de Julio	Hormiguero	-	0 (2)	6.3 (16)	0 (2)
	Refugio	0 (18)	----	0 (12)	----
	Faz-Ujed	4.0 (50)	0 (5)	3.3 (30)	0 (13)
23-25 de Agosto	Hormiguero	6.7 (15)	0 (9)	0 (20)	0 (30)
	Refugio	0 (30)	----	0 (6)	0 (6)
	Faz-Ujed	20.0 (30)	0 (3)	17.2 (29)	0 (6)
21-24 de septiembre	Hormiguero	0 (2)	----	0 (9)	----
	Refugio	0 (30)	0 (5)	0 (9)	0 (4)
	Faz-Ujed	0 (30)	0 (1)	0 (12)	0 (8)
Total	Hormiguero	1.4 (73)	0 (19)	2.9 (70)	0 (50)
	Refugio	1.2 (242)	0 (17)	3.1 (32)	0 (35)
	Faz-Ujed	4.6 (218)	0 (25)	7.4 (94)	0 (38)

*Los valores entre paréntesis corresponde al número de insectos colectados.



INFLUENCIA DE LA PROPORCIÓN SEXUAL SOBRE LA DESCENDENCIA de *Engytatus varians* (Dist.): la CHINCHE DEPREDADORA DEI PSÍLIDO DEL TOMATE, *Bactericera cockerelli* (Sulc.)

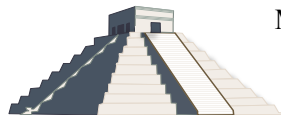
Laura Verónica Mena-Mociño¹, Ana Mabel Martínez-Castillo¹, Samuel Pineda-Guillermo¹, Benjamín Gómez Ramos², Juan Manuel Chavarrieta-Yañez¹ y José Isaac Figueroa-De la Rosa¹ Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Km. 9.5 carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán, 58880, México. laura.vmm1@gmail.com; figueroaji@yahoo.com.mx

Resumen. *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae) es una especie depredadora que se alimenta de las ninfas del psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Este estudio se realizó con el objetivo de conocer si el número de machos de *E. varians* que fecundan a una hembra (proporción sexual) influye en su descendencia. Se evaluaron las proporciones sexuales 1:1, 2:1 y 3:1 (macho:hembra) como tratamientos. Los resultados sugieren que las hembras de *E. varians* podrían ser poliándricas, debido a que hubo más descendencia en la proporción sexual 3:1.

Palabras clave: Depredador, Fecundidad, Proporción sexual, Progenie.

Introducción

Las especies que integran a la familia Miridae son conocidas como chinches de las plantas (Wheeler, 2001). A nivel mundial se conocen alrededor de 11,020 especies incluidas en 1,383 géneros, lo que comprende el 25% de todas las especies descritas del orden Heteroptera (Cassis y Schuh, 2012; Schuh, 1995). Los míridos tienen una amplia variedad de hábitos alimenticios, incluyendo aquellos grupos que son fitófagos, zoófagos y oportunistas (Wheeler, 2001). Diversas especies tienen la particularidad de que en sus primeras etapas de vida son fitófagos y después adquieren el hábito zoófago (Kullenberg, 1946), razón por lo cual son utilizados en programas de control biológico. En Europa y Norteamérica, varias especies de míridos zoofitófagos tales como *Macrolophus caliginosus* (Wagner), *Dicyphus hesperus* (Knight), *Dicyphus tamaninii* Wagner, *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) y *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Urbaneja *et al.* 2005; Castañe *et al.* 2011) se han usado en programas de control biológico de mosquitas blancas, áfidos, ácaros, minadores de hojas y trips. En México no hay registros de alguna especie de la familia Miridae que se haya usado para controlar plagas agrícolas, aunque recientemente en Michoacán se encontró a *Engytatus varians* (Dist.) depredando a las ninfas de diferentes instares del psílido del tomate, *B. cockerelli*, en plantas de tomate *Lycopersicon esculentum* Miller (Martínez *et al.* 2014). Actualmente, solo se han realizado los estudios de ciclo de vida (Medina, en preparación) y de evaluación preliminar de sus aspectos de depredación de este mírido (Velázquez *et al.* 2014), no obstante aún se desconoce muchos aspectos de su biología, entre ellos que no se conoce si el número de machos que fecundan a una hembra (proporción sexual) tiene un efecto en el número total de progenie. Por ello, se planteó como objetivo evaluar la influencia de la proporción sexual de los adultos de *E. varians* sobre su descendencia.



Materiales y Métodos

La cría de *E. varians* se realizó a través de la metodología propuesta por Mena *et al.* (2014) en plantas de tomate variedad “saladet”, donde se les ofrecieron ninfas de diferentes instares de *B. cockerelli* y huevos de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) como fuente de alimento. Para determinar la influencia de la proporción sexual de *E. varians* sobre su descendencia se utilizaron los siguientes tres tratamientos: i) 1:1, ii) 2:1 y iii) 3:1 (macho:hembra). Una planta de tomate (4-5 hojas jóvenes y ~10-12 cm de altura), que se encontraba en un vaso de unicel (1 L) con sustrato rico en humus fue confinada en otro vaso de plástico (Reyma^{M.R.}) transparentes de 1 L de capacidad, cuyos fondos y lados fueron acondicionados con tela organza para permitir la circulación del aire y evitar el escape de los insectos. Posteriormente, se colocaron, según el tratamiento (uno, dos o tres machos por cada hembra), hembras y machos vírgenes de 5 días de edad, mismos que previamente se sexaron e individualizaron en cajas Petri cuando se encontraban en quinto estadio ninfal. Los adultos de *E. varians* se alimentaron con ninfas de segundo y tercer instar de *B. cockerelli* y huevos de *S. cerealella* que se dispersaron sobre las hojas de las plantas de tomate. Cada planta se dejó expuesta a la oviposición de las chinches adultas por cuatro días, consecutivamente se cambiaron por nuevas plantas hasta completar cuatro días, así sucesivamente hasta la muerte de los adultos. Se realizaron siete repeticiones por cada tratamiento. A los ocho días después de cada exposición, cada planta de tomate se revisó cada 24 h para registrar el número de emergencias de ninfas de *E. varians* y determinar así su fecundidad aparente. El experimento se realizó en el mes de octubre 2013 en condiciones de laboratorio de ~24-27°C HR y fotoperiodo de 12:12 H (luz:oscuridad).

Resultados y discusión

La proporción sexual tuvo un efecto significativo ($F = 10.02$; $gl = 53,6$; $P \leq 0,0001$) en el número de descendencia promedio por hembra/día de *E. varians*. La proporción sexual 3:1 (machos:hembras) tuvo más descendencia (4 ninfas/día/hembra) que las proporciones 2:1 y 1:1 (cada una con 3 ninfas/hembra/día) (Cuadro 1). Estos datos sugieren que las hembras de *E. varians* podrían ser poliándricas, donde sus múltiples apareamientos podrían incrementar su fecundidad.

Cuadro 1. Fecundidad aparente de hembras de *E. varians* de acuerdo a la proporción sexual.

Proporción sexual (macho: hembra)	Ninfas/día/hembra
Macho - Hembra	
1:1	2.60 ± 0.32a
2:1	2.90 ± 0.32a
3:1	4.25 ± 0.32b

Los datos se expresan como la media ± EE. Dentro de la misma columna, los datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($P \leq 0.0001$). $F = 10.02$; $gl = 53,6$; $P \leq 0,0001$.

Se tiene conocimiento que el apareamiento múltiple en machos y hembras en la clase insecta está muy extendido, sin embargo no es común en las especies zoofitófagas de la familia Miridae, como sucede en *M. caliginosus* (Gemeno *et al.* 2007) y *M. pygmaeus* (Franco *et al.* 2011) que



son monándricas. Según Franco *et al.* (2011), *N. tenuis* es una especie poliándrica que acepta a cualquier macho, pasan mucho tiempo en la cópula y reciben un gran volumen de líquido eyaculatorio. Fedorka y Mousseau (2002) argumentan que la poliandria es un fenómeno adaptativo de algunos insectos, donde la acción de copular con varios machos reduce la posibilidad de aparearse con machos genéticamente incompatibles o infértiles, donde además se aumenta la diversidad genética de la siguiente generación. Según estos mismos autores la poliandria promueve la selección intrasexual entre los espermatozoides más aptos de diferentes machos para fertilizar la mayor proporción de huevos. Por su parte Arnqvist y Nilsson (2000) mencionan que en la eyaculación del macho, las hembras reciben diversas sustancias de constitución proteínica que favorecen a la salud de las hembras, por lo mismo se estimula la maduración del óvulo, producción y la puesta de huevos. Independientemente de los mecanismos responsables de los resultados obtenidos con *E. varians*, la poliandria sería la única razón para explicar el por qué en el tratamiento de la proporción sexual 3:1 (macho: hembra) se obtuvo la mayor cantidad de descendencia.

Se encontraron diferencias significativas ($F = 4.27$; $gl = 45.14$; $P \leq 0,0001$) en la fecundidad de hembras por edad o exposición, así como en las distintas proporciones sexuales. Las hembras de las tres proporciones sexuales tuvieron como promedio entre 2 a 6 descendencias en las cinco exposiciones, pero las hembras de la proporción 3:1 fueron más fecundas en el periodo de 5-9 y 13-17 días ($p > 0.01$). Por otra parte, en las primeras cuatro exposiciones, las hembras de cada proporción mantuvieron una fecundidad similar en los tres tratamientos ensayados, mismas que fueron significativamente mayor a la última exposición (21 a 25 días) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedio de descendencia por hembra en distintas exposiciones por proporción sexual de adultos de *E. varians*.

Proporción sexual (macho: hembra)	y/o Número de exposición de las hembras (Edad en días)				
	1ra. (5-9 días)	2da. (9-13 días)	3ra. (13-17 días)	4ta. (17-21 días)	5ta. (21-25 días)
1:1	3.25 \pm 0.83Aa	4.50 \pm 0.83Aa	2.25 \pm 0.83Aa	2.25 \pm 0.83Aa	0.75 \pm 0.83Ab
2:1	4.0 \pm 0.83Aa	4.50 \pm 0.83Aa	3.0 \pm 0.83Aa	2.0 \pm 0.83Aab	1.0 \pm 0.83Ab
3:1	5.75 \pm 0.83Ba	6.25 \pm 0.83Aa	5.25 \pm 0.83Ba	2.75 \pm 0.83Aa	1.25 \pm 0.83Ab

Medias dentro de las columnas (letras mayúsculas) y dentro de filas (letras minúsculas) seguidas por la misma letra no difieren significativamente ($P \geq 0,01$; LSD separación de medias). $F = 4.27$; $gl = 45.14$; $P \leq 0,0001$.

Un estudio similar fue conducido por Sánchez *et al.* (2008), quienes observaron la fertilidad de *N. tenuis* hasta 21 días después de sus emergencia y con diferentes temperaturas. Ellos observaron que las temperaturas afectan los picos de fertilidad. Por ejemplo, arriba de 30 °C los picos más altos se presentaron entre 10 a 14 días, mientras que a 25°C, el pico más alto se mostró a los 17 días. En el presente estudio, donde las hembras del tratamiento de la proporción sexual 3:1 (machos: hembras) de *E. varians* fueron las más fecundas, los picos de fertilidad más alto se presentaron en los periodos de 5-9 y de 13-17 días de edad de las hembras. A pesar que los rangos de temperatura en que se llevó a efecto este estudio fue más amplio (sin estricto control de



temperatura) hay cierta coincidencia con el trabajo de Sánchez *et al.* (2008), entendiendo que la fertilidad más alta de *E. varians* se encontró de 13-17 días. Hace falta hacer un estudio más estricto donde se controle temperatura y humedad realtiva para dilucidar con precisión el periodo más fértil de la especie encontrada recientemente en Michoacán.

Agradecimientos. Los autores expresan su agradecimiento a la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por los financiamientos otorgados.

Literatura citada

- Arnqvist, G. y T. Nilsson. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour*. 60: 145-164.
- Cassis, G. y R.T Schuh. 2012. Systematics, biodiversity, biogeography, and host associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). *Annual Review Entomology*. 57: 377-404.
- Castañé, C., J. Arnó, R. Gabarra y O. Alomar. 2011. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biological Control*. 59: 22-29.
- Fedorka K. M. y Mousseau T. A. 2002. Material and genetic benefits of female multiple mating and polyandry. *Animal Behaviour*. 64: 361-367.
- Franco K., A. Jauset, C. Castañé. 2011. Monogamy and polygamy in two species of mirid bugs: A functional-based approach. *Journal of Insect Physiology*. 57: 307-315.
- Gemeno, C., O. Alomar, J. Riudavets, C. Castañé, 2007. Mating periodicity and postmating refractory period in the zoophytophagous plant bug *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *European Journal of Entomology*. 104: 715-720.
- Kullenberg, B. 1946. Studien über die Biologie der Capsiden. *Zoologiska Bidrag fram Uppsala* 23: 1-522.
- Martínez A. M., M. Baena, J. I. Figueroa, P. del Estal, M. Medina, E. Guzmán-Lara y S. Pineda. 2014. Primer registro de *Engytatus varians* (Distant) (Heteroptera: Miridae) en México y su depredación sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Trioizidae): una revisión de su distribución y hábitos. *Acta zoológica mexicana*.
- Medina P.M. 2014. Identificación y biología de *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Miridae): depredación sobre el psilido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulc). (Hemiptera: Trioizidae). Tesis de licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Mena Mociño L. V., A. M. Martínez, M. Medina, S. Pineda, A. L. Escalante Jiménez, B. Gómez Ramos, M. Chavarrieta y J. I. Figueroa. 2014. Metodología para la cría inicial de una especie de *Engytatus* Reuter (Hemiptera: Miridae), depredador de *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioizidae). XXV Congreso Brasileiro de Entomología. Goiânia, Brasil. 14-18 septiembre de 2014.
- Sanchez, J. A., A. Lacasa, J. Arnó, C. Castañé y O. Alomar. 2009. Life history parameters for *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Het., Miridae) under different temperature regimes. *Journal of Applied Entomologist*. 133: 125-132.
- Schuh, R. T. 1995. Plant bugs of the world (Insecta: Heteroptera: Miridae). Systematic catalog, distributions, host list, and bibliography. The New York Entomological Society. 1329 pp.
- Urbaneja, A., G. Tapia y P. A. Stansly. 2005. Influence of host plant and prey availability in the developmental time and survival of *Nesidiocoris tenuis*. *Biocontrol Science and Technology*. 15(5): 513-518.
- Velázquez-Rodríguez, Y.B., S.I. Morales-Alonso, S. Pineda, L.V. Mena-Mociño, J.M. Chavarrieta-Yañez y A.M. Martínez. 2014. Depredación de la chinche *Engytatus* sp. (Hemiptera: Miridae) sobre huevos y ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioizidae). pp. 208-212. *En: Estrada Venegas E.G., M.P. Chaires Grijalva, J.A. Acuña Soto, A. Equihua M., A. Pescador Rubio y M.V. Rodríguez Iglesias (eds.). Entomología mexicana Vol. XIII. Sociedad Mexicana de Entomología. 1243 pp.*
- Wheeler, A. G. 2001. Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell Univ. Press., London. 507 pp.



EVALUACIÓN DE *Mesocyclops edax* (Crustacea: Copepoda) COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

José Israel Torres-Avenidaño¹, María Guadalupe Vázquez-Martínez², Edith Hilario Torres-Montoya¹, Hipólito Castillo-Ureta¹. ¹Laboratorio de Conservación de la Fauna Silvestre, Unidad Académica Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas y Universitarios, s/n, Ciudad Universitaria, 80040 Culiacán Rosales, Sinaloa. Tel: 01 667 713 4043 y 53, jois_toav@hotmail.com. ²Centro Regional de Investigación en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud Pública. 4a. Norte y 19 Poniente s/n Colonia Centro, C.P. 30700 Tapachula, Chiapas. México. Tel: 01 962 6262219, mguadalu@insp.mx.

Resumen. Con el objetivo de evaluar la eficiencia depredadora de *Mesocyclops edax*, se expuso diferentes densidades de larvas del primer estadio de *Aedes aegypti* (5, 10, 30, 50 y 100 larvas), a una hembra adulta de *M. edax*, en recipientes que contenían 250 ml de agua desclorada. Se observó que *M. edax* causó una mortalidad del 100% en densidades bajas (5 y 10 larvas), disminuyendo el porcentaje de mortalidad a medida que aumentaba el número de larvas, sin embargo el promedio de larvas muertas creció al aumento de la carga larval, encontrándose diferencias significativas en los promedios de cada densidad y con respecto a los controles. Por lo cual se concluye que *M. edax* es un activo depredador de larvas de *Ae. aegypti* en condiciones de laboratorio y un prospecto para su implementación en los programas de control de mosquitos vectores del dengue.

Palabras clave. *Aedes aegypti*, control biológico, copépodos, entomófagos, *Mesocyclops edax*.

Introducción

Dada la importancia del mosquito *Aedes aegypti* como vector del virus del dengue y otras enfermedades, se han implementado diferentes métodos para su control, como la gestión del medio, mejorando las condiciones físicas de las viviendas, evitando los criaderos del mosquito; así como el uso de insecticidas contra las fases inmaduras y adulta (WHO, 2014). Sin embargo, el control biológico a diferencia de los métodos químicos, ha cobrado auge debido a las ventajas que ofrece, particularmente la especificidad y seguridad para el hombre (Lacey, 2007). En este particular se han desarrollado diferentes estudios con el fin de disminuir las poblaciones del mosquito *Ae. aegypti* utilizando copépodos ciclopoideos, demostrando su efectividad en diferentes países como Vietnam (Nam *et al.*, 1998). En México, se han realizado diferentes trabajos en condiciones de laboratorio y campo con copépodos ciclopoideos, principalmente la especie *Mesocyclops longisetus*, la cual ha demostrado eficacia en el control de las poblaciones de *Ae. aegypti* (Quiroz-Martínez *et al.*, 1993; Pérez-Serna *et al.*, 1996; Gorrochoteguei-Escalante *et al.*, 1998), sin embargo es necesario un mayor conocimiento sobre el potencial de estos organismos en la reducción de las fases larvarias de mosquitos. Por lo que es importante evaluar si una especie nativa como *Mesocyclops edax* tiene capacidad depredadora sobre larvas de *Ae. aegypti* y pueda recomendarse su uso como agente de control biológico.



Materiales y Métodos

Material biológico. Los copépodos *M. edax* y larvas de *Ae. aegypti* fueron recolectados en diferentes tipos hidrobiológicos del municipio de Escuinapa y Culiacán Rosales, Sinaloa y trasladados al Laboratorio de Conservación de la Fauna Silvestre de la Unidad Académica de Biología-UAS.

Los copépodos colectados en campo se identificaron de acuerdo a los criterios de Mercado-Salas y Suárez-Morales (2011) para *M. edax*. Hembras grávidas de *M. edax* se aislaron en recipientes de vidrio para la obtención de poblaciones F2, utilizadas en los estudios experimentales. Las poblaciones de copépodos fueron alimentadas cada 10 días con 2 ml de *RotiGrow-Plus*[®].

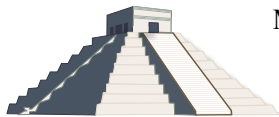
Las larvas del IV estadio se identificaron de acuerdo a los criterios de Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos (1994) para *Ae. aegypti*, y se utilizaron como pie de cría para la colonización y obtención del material biológico para los bioensayos. Las larvas se alimentaron diariamente con comida comercial para perros *Pedigree*[®] pulverizada.

Eficiencia depredadora de *M. edax*. Se expusieron diferentes densidades larvales del primer estadio de *Ae. aegypti* (5, 10, 30, 50 y 100 larvas), a un copépodo adulto de *M. edax* con ayuno de 24 hrs previo al bioensayo. Los ejemplares se colocaron en un recipiente de vidrio (7x7x13 cm) que contenía 250 ml de agua desclorada y se mantuvieron con un fotoperiodo de 12:12 hrs Luz:Oscuridad. A las 24 hrs de exposición se contó el número de larvas vivas bajo el microscopio estereoscópico. El experimento se replicó tres veces, en cada experimento se colocaron tres repeticiones de cada densidad larval y del control (larvas sin copépodo).

Análisis estadístico. Los datos de mortalidad se transformaron a raíz cuadrada para la homogeneidad de varianza y normalidad, mediante la prueba de Levene y Shapiro-Will. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor y la prueba de Tukey para valorar la diferencia entre los promedios de mortalidad, asimismo los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal para determinar la tendencia de depredación. El procesamiento estadístico fue llevado a cabo por el paquete estadístico SPSS Statistics 20.

Resultados y Discusión

Se observó que una hembra adulta de *M. edax* al exponerse por 24 hrs a diferentes densidades larvales de *Ae. aegypti* (5, 10, 30, 50 y 100 larvas), causó 100% de mortalidad en densidades bajas de 5 y 10 larvas, a diferencia de 78, 72 y 49% de mortalidad en las densidades de 30, 50 y 100, respectivamente (Cuadro 1). Los resultados de la prueba del análisis de varianza (ANOVA) y de Tukey indicaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el promedio de mortalidad en las distintas densidades con respecto al control, asimismo no fue significativo ($P < 0.05$) el número de larvas muertas entre diferentes densidades expuestas a una hembra adulta de *M. edax* en 24hrs.



El copépodo *M. edax* tuvo mayor tasa de depredación a medida que aumentaba el número de larvas, causando un promedio de mortalidad de $22.81 \pm .87$, 36.18 ± 4.00 y 49.18 ± 4.24 en densidades 30, 50 y 100 (Fig. 1).

Cuadro 1. Mortalidad en las diferentes densidades larvales de *Ae. aegypti* expuestas por 24 hrs a una hembra de *M. edax*.

Tratamientos	Mortalidad ($\bar{x} \pm \sigma$)	Mortalidad (%)
5 larvas	$5 \pm 0a$	100
10 larvas	$10 \pm 0b$	100
30 larvas	$22.81 \pm .87c$	78
50 larvas	$36.18 \pm 4.00d$	72
100 larvas	$49.18 \pm 4.24e$	49
Control 5	0a	0
Control 10	0b	0
Control 30	0c	0
Control 50	$1.83 \pm .69d$	4
Control 100	$2.41 \pm 1.59e$	3

Los valores con la misma letra difieren significativamente ($P < 0.05$, prueba de Tukey)

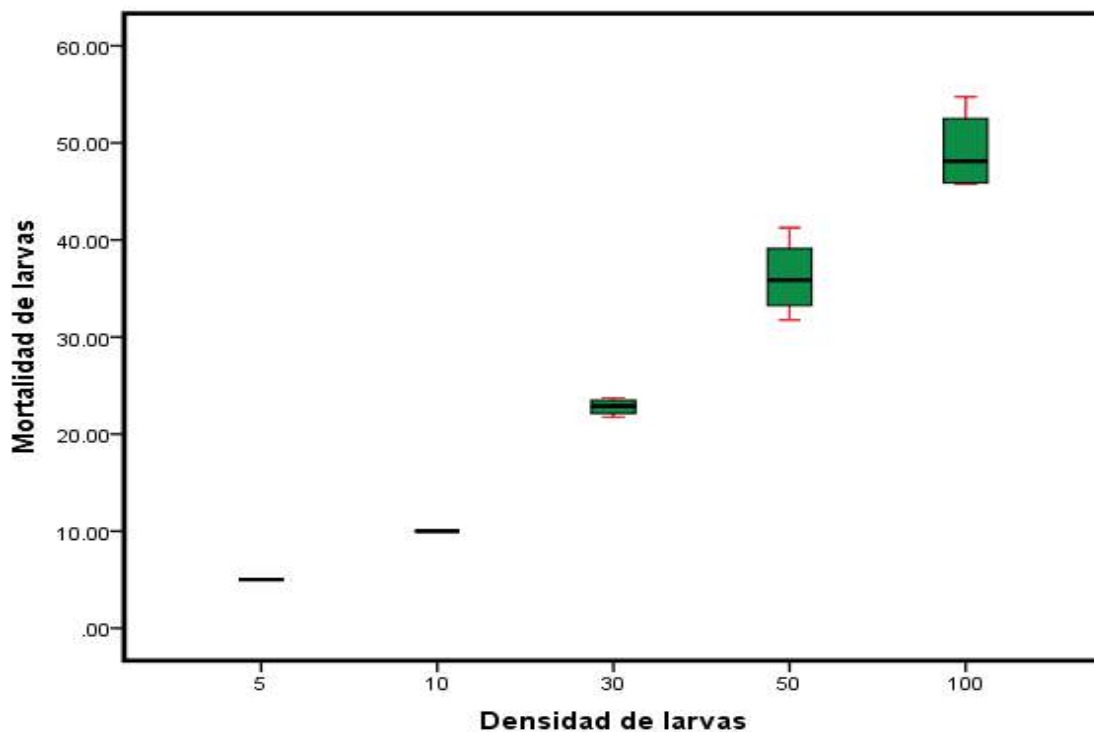
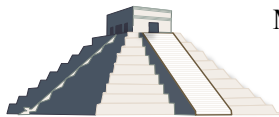


Figura 1. Diagrama de cajas del promedio de mortalidad en las diferentes densidades de larvas de *Ae. aegypti* expuestas por 24 hrs a una hembra de *M. edax*.



Por otra parte, se observó mediante regresión lineal una tendencia creciente de mortalidad causada por *M. edax* a medida que aumentaba la densidad de larvas, asimismo la relación del número de larvas y la mortalidad fue alta, con un coeficiente de determinación de .924, lo que indica que la mortalidad de larvas de *Ae. aegypti* por una hembra de *M. edax* depende del 92.4% de la densidad larval (Fig.2).

Estudios similares se han realizado en laboratorio con *M. annulatus* el cual causó un promedio de mortalidad de 23 ± 4.35 en densidad de 100 larvas, teniendo una tasa de depredación más alta en 1/50 larvas, a diferencia de *M. edax* el cual depredó más larvas en 1/100 larvas (Micieli *et al.*, 2002). Sin embargo esto pudiera deberse a que *M. edax* es de mayor tamaño longitudinal que *M. annulatus*, tomando en cuenta que los copépodos con mayor longitud corporal depredan más larvas que los de menor tamaño (Marten y Reid, 2007).

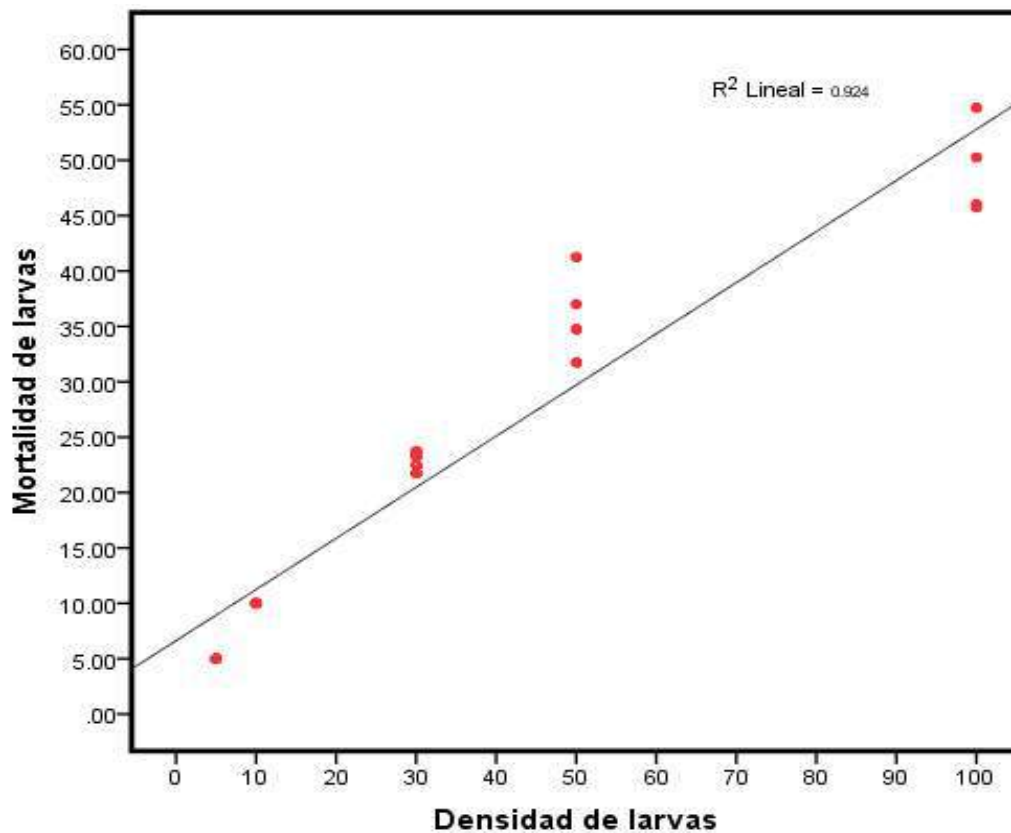


Figura 2. Regresión lineal y coeficiente de determinación del promedio de mortalidad en las diferentes densidades de larvas de *Ae. aegypti* expuestas por 24 hrs a una hembra de *M. edax*.

Por lo anterior, se concluye que *M. edax* es un activo depredador de larvas de *Ae. aegypti* en condiciones de laboratorio y un prospecto para su implementación en los programas de control de mosquitos vectores del dengue.



Agradecimientos. A la Unidad Académica Escuela de Biología-UAS por el espacio otorgado para la presente investigación, así mismo a la Dra. María Guadalupe Vázquez Martínez, Dr. Edith Hilario Torres Montoya y Dr. Hipólito Castillo Ureta por su apoyo académico y profesional para la realización del proyecto de tesis.

Literatura citada

- Gorrochotegui-Escalante, N., Fernández-Salas, I., Gómez-Dántes, H. 1998. Field evaluation of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopoidea) for the control of larval *Aedes aegypti* (Diptera Culicidae) in northeastern México. *J Med Entomol* 35(5):699-703.
- Ibáñez-Bernal, S., Martínez-Campos, C. 1994. Clave para la identificación de larvas de mosquitos comunes en las áreas urbanas y suburbanas de la República Mexicana. *Folia Entomol Mex* 92:43-73.
- Lacey, L.A. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc* 23:133-163.
- Marten, G.G., Reid, J.M. 2007. Cyclopoid copepods. *J Am Mosq Control Assoc* 23(2):65-92.
- Mercado-Salas, N. F., Suárez-Morales, E. 2011. Morphology, diversity, and distribution of the Cyclopoida (Copepoda) from arid areas of central-north Mexico. I. Cyclopinae. *Hidrobiológica* 21(1):1-25.
- Miceli, M.V., Marti, J., García, J.J. 2002. Laboratory Evaluation of *Mesocyclops annulatus* (Wierzejski, 1892) (Copepoda: Cyclopidea) as a Predator of Container-breeding Mosquitoes in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97(6):835-838.
- Nam, V.S., Yen, N.T., Kay, B.H., Marten, G.G., Reid, J.W. 1998. Eradication of *Aedes aegypti* from a village in Vietnam, using copepods and community participation. *Am J Trop Med Hyg* 59:657-660.
- Pérez-Serna, S.M., Quiroz-Martínez, H., Ornelas-Nava, N., Badii, M.H., Suárez, M.F., Rodríguez-Tovar, M.L. 1996. Prey selectivity of three aquatic predators of mosquito larvae. *Southwest Entomol* 21(4): 471-475.
- Quiroz-Martínez, H., Solís-Rojas, C., Rodríguez-Tovar, M.L. 1993. Field releases of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda, Cyclopidae) for control of *Aedes aegypti* larvae in 55-gallon metal drums in Monterey, Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 9:452.
- WHO. 2014. Dengue and severe dengue. available online at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> (Consultado el 18 de Mayo 2014).



BRACONIDOS PRESENTES EN EL CULTIVO DE CHILE EN MÉXICO

Santiago Israel del Toro¹, **Julio Lozano-Gutiérrez**¹, Martha Patricia España-Luna¹, J. Jesús Balleza-Cadengo¹, Ernesto González-Gaona², y Alejandro González-Hernández³. ¹Unidad Académica de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Carretera Zacatecas- Guadalupe km 15. Cieneguillas, Zac. ²Campo Agrícola Experimental de Pabellón de Arteaga, Ags. INIFAP-CAEPAB. ³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N.L. México. CP 66450. jlozano_75@yahoo.com.mx

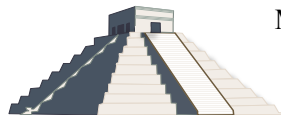
Resumen. Los braconidos son un grupo diverso de parasitoides que tienen la función ecológica de regular poblaciones de insectos, entre los que destacan los fitófagos. Son abundantes y se presentan en ambientes diversos, aunque principalmente prefieren aquellos con climas templados. En el cultivo de chile se presentan diversas plagas que afectan su rendimiento, por lo que también presenta enemigos naturales, entre ellos los parasitoides de la familia Braconidae. El objetivo de esta investigación fue determinar los géneros de braconidos presentes en el cultivo de chile establecido en diversas regiones del México, para lo cual se aprovecharon parcelas establecidas y manejadas en condiciones propias de los productores en los estados de Guanajuato, San Luis Potosí, Sinaloa, Yucatán, y Zacatecas. Se tomaron muestras con red entomológica de golpe durante el ciclo de producción del año 2013. Los géneros identificados fueron *Leiophron* sp., *Diaeretiella* sp., *Aphidius* sp., *Habrobracon* sp., *Ephedrus* sp., *Opius* sp., *Apanteles* sp., *Microctonus* sp., *Hypomicrogaster* sp., *Leptodreprana* sp., *Helcon* sp., y *Centistes* sp. Muchos de estos están reportados como parasitoides importantes de insectos plaga del cultivo del chile.

Palabras clave: parasitoides, *Capsicum annum*.

Introducción

La Familia Braconidae es la segunda más grande de parasitoides después de Ichneumonidae, pues se estima que alcanza cerca de 40,000 especies en todo el mundo (Sharkey, 1993). Los braconidos son parasitoides obligados de insectos, los principales huéspedes pertenecen a los ordenes Coleoptera, Lepidoptera y Diptera, aunque también Hemiptera, Mecoptera, Psocoptera y ocasionalmente Hymenoptera son atacados por los braconidos (Shaw y Huddleston, 1991). Pocas especies se comportan como fitófagos, algunos son *Hansonia* Dangerfield (Dangerfield *et al.*, 1996). *Allorhogas* Gahan (Macedo y Monteiro, 1989) y *Monitoriella* Hedquist (Infante *et al.*, 1995). Las hembras parasitoides inyectan veneno a sus hospederos para paralizarlos ya sea temporal (koinobiosis) o permanentemente (idiobiosis). Después las hembras depositan su o sus huevos dentro (endoparasitoides), a un lado o sobre el hospedero (ectoparasitoides). Se ha observado que la mayoría de los braconidos endoparasitoides son koinobiontes, mientras que los ectoparasitoides son por lo regular son idiobiontes (Quicke, 1997). Asimismo, se ha sugerido que las especies idiobiontes tienen un rango de hospederos más amplio que los koinobiontes (Askew y Shaw, 1986).

La importancia ecológica de los braconidos radica en que son agentes reguladores de diversos grupos de insectos fitófagos, sirviendo además como indicadores de la presencia o ausencia de



sus hospederos (Lasalle, 1993). Desde hace algunos años ha aumentado el interés por los parasitoides de Hymenoptera, como resultado de una mayor demanda de su uso como fauna beneficiosa en el control biológico de plagas (Quicke, 1997).

En el cultivo de chile se tienen reportes de la presencia de estas avispas como agentes de control biológico natural. Michelena *et al.* (2004) reportan a *Aphidius matricariae* como parasitoide de *Myzus persicae*. Hagvar y Hofsvang (1991) además de *A. matricariae* mencionan *A. semiflavus* en los EE.UU. asimismo *A. colemani* es un importante enemigo natural de *M. persicae* en Norte y Sur América. Con relación al picudo del chile *Anthonomus eugenii*, Riley y Schuster (1992) mencionan a *Urosigalphus* sp. y *Triaspis eugenii* como parasitoides de larvas del picudo del chile. Con respecto a la mosca minadora *Liriomyza* sp el braconido *Opius* sp es de los parasitoides más importantes (De Freitas *et al.*, 2007). El gusano soladado *Spodoptera exigua* se ve afectado por los parasitoides *Cotesia* sp (Sourakov y Mitchell, 2000) y *Meteorus* sp. (Guo *et al.*, 2013). En México pocos estudios se han llevado a cabo para determinar los braconidos en el cultivo de chile, y la relación con los insectos plaga. El objetivo de este trabajo fue determinar los parasitoides de la familia Braconidae presentes en el cultivo de chile en México.

Materiales y Métodos

Se establecieron parcelas de colecta en los principales estados productores de chile en México (Cuadro 1).

Cuadro 1. Localización de las parcelas de colecta en México.

ESTADO	MUNICIPIO	TIPO CHILE	COORDENADAS	
Guanajuato	Dolores Hgo	Poblano	N 21°11'48.1"	O 100°52'07.6"
		Poblano	N 21° 11' 66."	O 100°52'04.0"
		Poblano	N 21° 11' 51.5"	O 100° 52' 13.1"
		Poblano	N21°11'14.7"	O 100°49'55.5"
		Poblano	N 21°26'34"	O 100°52' 29"
Zacatecas	Fresnillo	Mirasol	N 23°13'38"	O 102°56'29"
		Mirasol	N 23°16'35"	O 102°58'21"
		Mirasol	N 23°13'14"	O 103° 1' 23"
	E. Estrada	Poblano	N 23°11'47"	O 103° 8' 4"
		Mirasol	N 22°56'17"	O 102° 41'21"
	V. Rosales	Mirasol	N 22°46'29"	O 102° 34'21"
		Mirasol	N 22°56' 2"	O 102°41'4"
		Mirasol	N 22°57'50"	O 102°40'42.6"
		Mirasol	N22°58'56"	O102°39'56"
	Villa de Cos	Poblano	N23°07'29.6"	O 102°26'00.6"
		Mirasol	N23°11'02.5"	O 102° 22' 15.4"
Villanueva	Mirasol	N 22°34'20.4"	O 102°46'51.8"	
	Mirasol	N 22°34'25.4"	O 102°49'02.7"	
	Mirasol	N 22°46'04"	O 102°36'41"	
San Luis Potosí	Rio Verde	Serrano	N 21°54'57.7"	O 100°03'32.6"
		Jalapeño	N 21°57'60.1"	O100°06'20.6"
Yucatán	Mérida	Habanero	N 20°18'58"	O 89°37'16"
		Habanero	N 20°17'52"	O 89°23'41"
Sinaloa	Novolato	Pimiento	N 27°48'53"	O 107°38'22"
		Jalapeño	N 27°49'33"	O 107°37'77"
	El Dorado	Jalapeño	N24°18'52"	O 107°21'06"
	El Rosario	Jalapeño	N 23°13'29"	O 106°20'31"
		Serrano	N23°14'27"	O 106°19'30"



Durante el ciclo vegetativo del cultivo de chile en 2013 se realizaron tres muestreos en las parcelas de estudio. Las muestras fueron tomadas al inicio de floración y desarrollo del fruto. Se realizaron 100 redazos completos en cada parcela mediante el uso de la red entomológica o de golpe, los insectos de cada muestreo se depositaron en recipientes de plástico con alcohol al 70 % y se llevaron al Laboratorio de Entomología y Control Biológico de la Universidad Autónoma de Zacatecas, donde se separaron los braconidos y se identificaron taxonómicamente con las claves de Wharton *et al.* (1998) y Sharkey (1993).

Resultados y Discusión

Los géneros identificados fueron *Leiophron* sp., *Diaeretiella* sp., *Aphidius* sp., *Habrobracon* sp., *Ephedrus* sp., *Opius* sp., *Apanteles* sp., *Microctonus* sp., *Hypomicrogaster* sp., *Leptodrepana* sp., *Helcon* sp., y *Centistes* sp. (Figura 1).

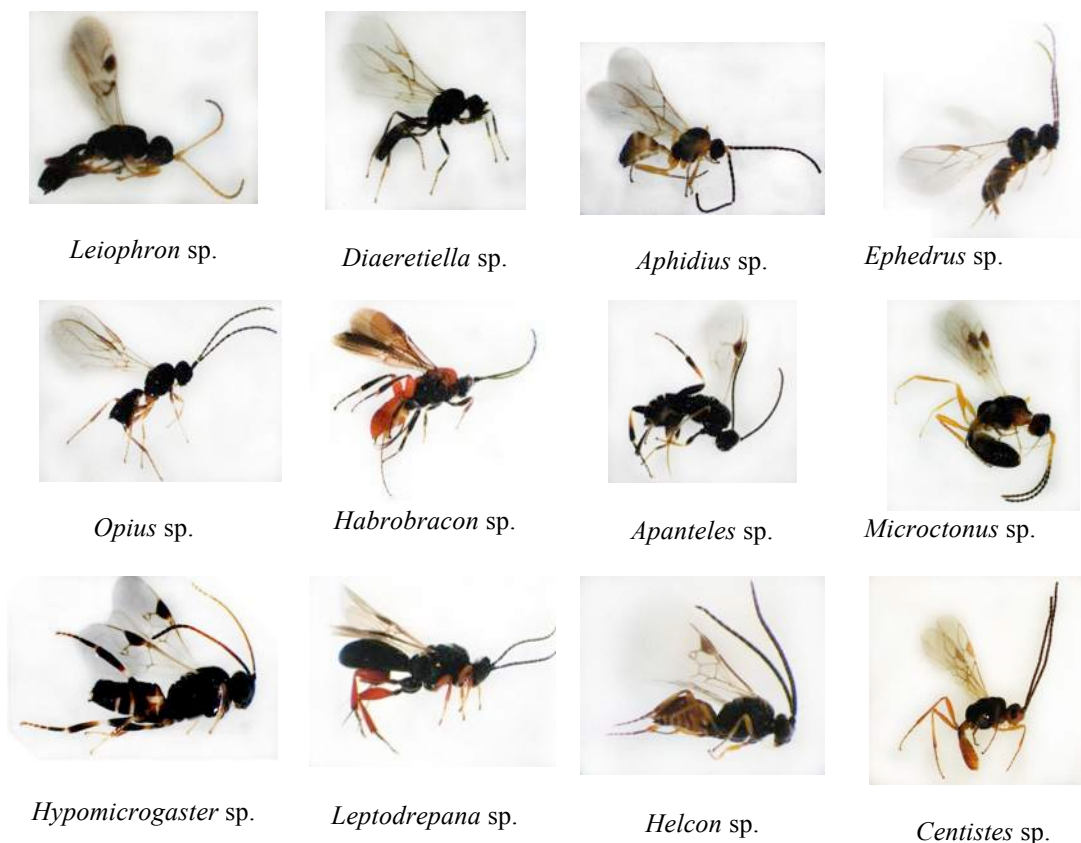


Figura 1. Braconidos colectados en parcelas de chile de los principales estados productores.

Las especies de *Leiophron* son de distribución cosmopolita (Chen y van Achterberg, 1997), se reportan como parasitoides principalmente de ninfas y adultos de chinches entre las que destaca

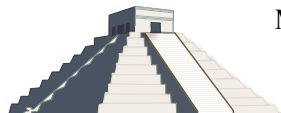


el género *Lygus* (Hemiptera: Miridae) (Efil *et al.*, 2009), estas chinches ocasionan daños económicos en varios cultivos, entre los que se menciona el chile con pérdidas económicas (Dixon y Fasulo, 2006). Las avispa de los géneros *Diaeretiella* sp., *Aphidius* sp. y *Ephedrus* sp. pertenecen a la subfamilia Aphidiinae, estos son endoparasitoides koinobiontes de áfidos. Los pulgones *Myzus persicae* (Sulzer) y *Aphis gossypii* Glover son plagas comunes en el cultivo del chile, ambas especies de áfidos son parasitadas por *Aphidius colemani* Viereck (van Driesche *et al.*, 2006), *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Desneux *et al.*, 2005), y con menos frecuencia por *Ephedrus* (Tomanovic *et al.*, 2009).

El parasitoide *Opius* sp. pertenece a la subfamilia Opiinae que se caracterizan por ser parasitoides solitarios de Diptera, especies como *Opius bellus* Gahanse son enemigos naturales de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Schliserman *et al.*, 2014), sin embargo el hospedero más frecuente de *Opius* spp. son las moscas de la familia Agromyzidae (Fisher, 2005), en esta familia se ubica el minador *Liriomyza* sp., cuya importancia resulta relevante por su frecuencia como plaga en el cultivo de chile en México.

Wharton *et al.*, (1998) mencionan que la avispa *Habrobracon* parasita una amplia variedad de coleópteros, dípteros, himenópteros y lepidópteros; en este último orden, se reporta como parasitoides de larvas, en particular de las familias Tortricidae (Daane *et al.*, 2013), Pyralidae (Amir-Maafi y Chi, 2006), y Noctuidae, donde el gusano soldado *Spodoptera exigua* (Hubner) se reporta como uno de sus hospederos más importantes (Madhi *et al.*, 2010), esta plaga es frecuente en el cultivo del chile, donde origina pérdidas económicas significativas. El género *Apanteles* es un parasitoide cosmopolita y diverso, parasita larvas de lepidópteros de todas las clases (Wharton *et al.*, 1998). *Hypomicrogaster* es parasitoide de microlepidopteros, entre los que se encuentran algunos minadores de hojas; mientras que *Leptodrepana* parasita larvas de la familia Plutellidae (Wharton *et al.*, 1998).

El género *Microctonus*, es un parasitoide de escarabajos adultos, principalmente Curculionidae, Chrysomelidae y Carabidae (Wharton *et al.*, 1998), Loan (1967) lo reportan como parasitoide de la pulga saltana *Epitrix cucumeris* (Harris) entre otros, es probable que en el cultivo del chile parasite a este insecto plaga u otros crisomélidos comunes. Asimismo, *Centistes* sp. está relacionado como parasitoide de *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) (Schroder y Athanas, 2002), las cuales son frecuentes en la mayoría de los cultivos hortícolas. En el caso de la avispa *Helcon* sp., Wharton *et al.* (1998), la reportan como parasitoide de la familia Cerambycidae.



Cuadro 2. Braconidos colectados en las parcelas de chile de México durante 2013

LOCALIDAD	SUBFAMILIA	GENERO	TIPO PARASITOIDE
Guanajuato	Opioniinae	<i>Opius</i> sp	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Diaeretiella</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Aphidius</i> sp.	Koinobionte
	Euphorinae	<i>Microctonus</i> sp.	Koinobionte
	Braconinae	<i>Habrobracon</i> sp	Idiobionte
Zacatecas	Euphorinae	<i>Leiophron</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Diaeretiella</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Aphidius</i> sp.	Koinobionte
	Braconinae	<i>Habrobracon</i> sp.	Idiobionte
	Aphidiinae	<i>Ephedrus</i> sp.	Koinobionte
	Opioniinae	<i>Opius</i> sp.	Koinobionte
	Microgastrinae	<i>Apanteles</i> sp.	Koinobionte
	Euphorinae	<i>Microctonus</i> sp.	Koinobionte
	Microgastrinae	<i>Hypomicrogaster</i> sp.	Koinobionte
	Cheloninae	<i>Leptodreprana</i> sp.	Koinobionte
	Helconinae	<i>Helcon</i> sp.	Koinobionte
Euphorinae	<i>Centistes</i> sp.	Koinobionte	
San Luis Potosí	Opioniinae	<i>Opius</i> sp.,	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Apanteles</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Aphidius</i> sp.	Koinobionte
Yucatán	Opioniinae	<i>Opius</i> sp	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Diaeretiella</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Aphidius</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Ephedrus</i> sp.	Koinobionte
Sinaloa	Opioniinae	<i>Opius</i> sp	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Diaeretiella</i> sp.	Koinobionte
	Aphidiinae	<i>Aphidius</i> sp.	Koinobionte

Los géneros de braconidos presentes en el cultivo de chile, son un indicador de la diversidad de insectos fitófagos presentes. Al respecto Lasalle (1993), menciona que los parasitoides como agentes reguladores de diversos grupos de insectos fitófagos pueden ser utilizados como indicadores de la presencia o ausencia de sus hospederos. La diversidad de parasitoides presentes en las parcelas es directamente proporcional con los huéspedes presentes, se encuentran en gran diversidad de hábitats y son muy abundantes en las regiones templadas (Lewis y Whitefield, 1999).

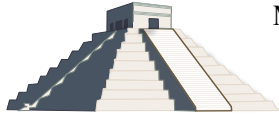
Conclusiones

En el cultivo de chile en México se presentan braconidos que regulan poblaciones de insectos fitófagos en forma natural. En esta investigación se identificaron 12 géneros de la familia Braconidae; la mayoría koinobiontes, lo que indica que han desarrollado estrategias especialistas y cuentan con mayor potencial de éxito como agentes de control biológico. Este proyecto continua con las colectas, incluyendo además a los insectos fitófagos vivos o momificados.



Literatura citada

- Amir-Maafi, M. and H. Chi. 2006. Demography of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on two Pyralids hosts (Lepidoptera: Pyralidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99(1): 84-90.
- Askew, R. R. y M. R. Shaw. 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. In *Insect parasitoids*, J. Waage, D. Greathead (eds.). Academic Press, London. p. 225-264.
- Chen, X. and C. van Achterbergh. 1997. Revision of the subfamily Euphorinae (excluding the tribe Meteorini Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) from China. *Zoologische Verhandelingen Leiden* 313(1): 1-217.
- Daane, K. X. Wang, S. S. Duerr, E. Kuhn, Y. Son and G. Y. Yokota. 2013. Biology of *Habrobracon gelechiai* (Hymenoptera: Braconidae), as a parasitoid of the oblique banded leaf roller (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.* 42(1): 107-115.
- Dangerfield, P.C., J. Whitfield, M. Sharkey, J. Jansen, and I. Mercado. 1996. *Hansonia* a new genus of cardiochilinae Braconidae (Hymenoptera) from Costa Rica with notes on its biology. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 98:592-596.
- De Freitas, B. A., ZechmannII, B., Watt, H. W., Olivera, B. R. C., y Aparecido, F. O. 2007. Serpentine leafminer (*Liriomyza trifolii*) on potato (*Solanum tuberosum*): field observations and plant photosynthetic responses to injury. *Ciência Rural Santa Maria* 37(6):1510-1517.
- Desneux, N. X. Fauvergue, F. X. M. Dechaume, L. Kerhoas, Y. Ballanger and L. Kaiser. 2005. *Diaeretiella rapae* limits *Myzus persicae* populations after applications of deltamethrin in oilseed rape. *J. Econ.Entomol.* 98(1): 9-17.
- Dixon, W. and T. R. Fasulo. 2006. Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Insecta: Hemiptera: Miridae). UF University of Florida IFAS Extension EENY-245.
- Efil, L., C. Güclu, and S. A. Belokobylskij. 2009. *Leiophron* (Euphorus) deficiens Ruthe (Hymenoptera, Braconidae, Euphorinae), A Parasitoid of *Campyloomma diversicornis* (Reuter) (Heteroptera, Miridae) in Turkey. *J. Ent. Res. Soc.*, 11(3): 65-73.
- Fisher, M. 2005. Some new Opiinae (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) in the Natural History Museum Vienna. *Ann. Naturhist. Mus. Wien.* 106 B: 107-133.
- Hagvar, E. B. and T. Hofsvang. 1991. Aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): biology, host selection and use in biological control. *Biocontrol News Inform.* 12: 13-41
- Guo, H. F., Fang, J. C., Zhong, W. F., and Liu, B.S. 2013. Interactions between *Meteorus pulchricornis* and *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus. *Journal of Insect Science* 13: 1-12.
- Infante, F., P. Hanson, and R. Wharton. 1995. Phytophagy in the genus *Monitoriella* (Hymenoptera: Braconidae) with description of new species. *Annals of the Entomological Society of America.* 88:406-415.
- Lasalle, J. 1993. Parasitic Hymenoptera, biological control and diversity. In Lasalle, J. & Gauld, I. D. (Eds.) *Hymenoptera and Biodiversity*: 197-215. C. A. B. International, Wallingford.
- Lewis, C. N. and Whitfield, J. B. 1999. Braconid wasp (Hymenoptera: Braconidae) diversity in forest plots under different silvicultural methods. *Environmental Entomology*, 28 (6): 986-997.
- Loan, C. C. 1967. Studies on the taxonomy and biology of the Euphorinae (hymenoptera: Braconidae). II. Host Relations of six *Microctonus* species. *Ann.Entomol. Soc. Am.* 60(1): 236-240.
- Macedo, M.V., and R.F. Monteiro. 1989. Seed predation by braconid wasp *Allorhogas* sp (Hymenoptera). *J.N.Y. Entomol. Soc.* 97:353-358.
- Madhi, R. M., A. A. Seraj, and R. T. Hassanlou. 2010. Interaction between MbMNPV and the braconid parasitoid *Habrobracon hebetor* (Hym.; Braconidae) on larvae of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae). *Bioco. Sci. Technol.* 20(10): 1075-1078.
- Michelena, J. M., P. González, y E. Soler. 2004. Parasitoides afidiinos (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) de pulgones de cultivos agrícolas en la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, 30:317-326.
- Quicke, D. L. J. (1997). *Parasitic Wasps*. Chapman & Hall, London. 470 pp.
- Riley, D. G., and D. J. Schuster. 1992. The occurrence de *Catolaccus hunteri* a parasitoid of *Anthonomus eugenii* in insecticide treated bell pepper. *Southwestern Entomology* 17, 71-72.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Schliserman, P., G. A. Van Nieuwenhove, L. P. Bezdjian, P. Albornoz-Medina, and L. I. Escobar. 2014. Bionomics of *Opius bellus* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of *Anastrephafraterculus* (Diptera: Tephritidae) in fruit-growing areas of Northwestern Argentina. *Bioco. Sci. Technol.* 24(4): 375-388.
- Schroder, R. F. W. and M. M. Athanas. 2002. Biological observations of *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Proc. Of the Entomol. Soc. Of Washington* 104: 554-562.
- Sharkey, M. 1993. Family Braconidae. Pages 362-395. In Goulet, H. and J.T. Huber. Eds. *Hymenoptera of the World: An identification guide to families.* Research Branch Agriculture Canada Publication 1894/E.
- Shaw, M. R., and T. Huddleston. 1991. Classification and biology of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Handbooks for the Identification of British insects.* 7(11):1-126.
- Sourakov, A. and Mitchell, E. 2000. A Wasp parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Insecta: Hymenoptera: Braconidae). University of Florida.
- Tomanovic, Z. A. Petrovic, P. Stary, N. G. Kavallieratos, V. Zikic and E. Rakhshani. 2009. *Ephedrus haliday* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in Serbia and Montenegro: Tritrophic associations and key. *Acta Entomologica Serbica* 14(1): 39-53.
- Van Driesche, R. G., S. Lyon, J. P. Sanderson, K. C. Bennett, E. J. Stanek III, and R. Zhang. 2006. Greenhouse trials of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) banker plants for control of aphids (Hemiptera: Aphididae) in greenhouse spring floral crops. *Fla. Entomol.* 91(4): 583-591.
- Wharton, R. A., P. M. Marsh, and M. J. Sharkey. 1998. *Manual of the New World Genera of the Family Braconidae* (Hymenoptera). The International Society of Hymenopterists. Special Publications No. 1. 439 pp.



PARASITOIDES DE LA MOSCA SIERRA *Neodiprion autumnalis*, *Zadiprion falsus* y *Monoctenus sanchezi* (Hymenoptera: Diprionidae) EN EL CENTRO-NORTE DE MÉXICO

Julio Lozano-Gutiérrez¹, Ernesto González-Gaona², **Martha Patricia España-Luna¹**, Alejandro González-Hernández³, J. Jesús Balleza-Cadengo y Adriana Ramírez-Huerta¹. ¹Unidad Académica de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Carretera Zacatecas-Guadalajara km 15. Cieneguillas, Zac. Zac. C.P.98170. ²Campo Agrícola Experimental de Pabellón de Arteaga, Ags. INIFAP-CAEPAB. ³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N.L. México. CP 66450. mpep24@yahoo.com

Resumen. Entre las plagas forestales más importantes que atacan a los árboles de pino, están las avispas conocidas como “moscas sierra” *Neodiprion autumnalis*, *Zadiprion falsus* y *Monoctenus sanchezi*. A pesar de la su importancia, poco se conoce sobre los enemigos naturales de las moscas sierra. El objetivo de este trabajo fue coleccionar e identificar parasitoides de huevos, larvas y pupas de mosca sierra en zonas afectadas de México. Se identificaron especies de Hymenoptera de los géneros *Olesicampe* sp, *Exenterus* spp, un espécimen de *Glyphcnemis* (Phygadeuontini) = Cryptinae, y avispas *Perilampus* Latreille; del orden Diptera se identificó a la mosca *Hemipenthes* sp. de la familia Bombyliidae, además de dos especies no determinadas de Tachinidae.

Palabras clave: Ichneumonidae, Perilampidae, Bombyliidae, Tachinidae.

Introducción

Si bien existen moscas sierra de varias familias, las de mayor importancia económica forestal pertenecen a la familia Diprionidae (Hymenoptera: Symphyta: Diprionidae) (Smith, 1993). Esta familia contiene tres géneros principales: *Neodiprion*, *Zadiprion* y *Monoctenus*, los cuales muestran preferencia por ciertos hospedantes; por ejemplo, *Monoctenus* se alimenta de *Juniperus*, y *Zadiprion* de *Pinus*; mientras la mayoría de las especies de *Neodiprion* también se alimentan de *Pinus*, excepto algunas que llegan a consumir *Abies* y *Picea* (Linnen y Farrell 2010).

Las especies *Neodiprion autumnalis*, *Zadiprion falsus* y *Monoctenus sanchezi*, causan defoliaciones en pinos, lo que provoca una reducción del crecimiento en el diámetro, altura y en la raíz de los árboles atacados (Sánchez-Martínez y Wagner, 1999). Si la defoliación es severa y continua, el efecto puede causar la muerte del árbol, sobre todo en etapa de renuevo tanto en árboles individuales como en rodales enteros (Álvarez-Zagoya y Díaz-Escobedo, 2010). El control de estas plagas forestales es difícil debido a que se encuentran en zonas donde el uso de sustancias sintéticas por normatividad está prohibido; esto trae como consecuencia hacer el uso de alternativas biológicas de control, sin embargo poco se conoce sobre los enemigos naturales de las moscas sierra en México. Se considera que los parasitoides están entre organismos controladores naturales más importantes debido a su comportamiento social y el control que desempeñan sobre plagas agrícolas y forestales, además de la diversidad de especies identificadas (Goodisman *et al.*, 2008). El objetivo de este trabajo fue coleccionar e identificar parasitoides de



huevo, larvas y pupas de mosca sierra en las zonas afectadas de los estados de Aguascalientes, Durango, Jalisco, Chihuahua, Michoacán y San Luis Potosí.

Materiales y Métodos

En el estado de Aguascalientes se hicieron colectas en la Sierra Fría: Presa de la Araña, El Cíbolo, Ojo de Agua, Barranca Piletas, Barranca de Juan Francisco, El Gauro, Alamitos y El Huapango. En Chihuahua se colectó en los municipios de Guerrero, Ocampo, Bocoyna y Guachochi. En Coahuila, los sitios de colecta fueron la Sierra de Arteaga, Arteaga, Coahuila, y el centro turístico Monterreal. En Durango fue en “El Pachón” del Ejido Los bancos de Pueblo Nuevo, San Cayetano y La Fragueta del municipio de San Dimas y “La Ermita”. En Guerrero, se colectó en los ejidos El Mameyal, La Botella y San José de Petatlán del Municipio de Petatlán. En Jalisco en la Sierra El Tigre los predios fueron: Las Varillas, Unión de Guadalupe, El Rodeo, Cerro Viejo, Catejuma, La Lobera, El Olotico, La Cofradía, El Ocote, Las Minas y Cruz del muchacho. En Michoacán en el Predio La Cruz, San Juan Nuevo Parangaricutiro, Patzingo, La alberca y Condenbaro. En San Luis Potosí se colectó en la Sierra de Álvarez en la localidad la Barranca, Picacho de los Dolores.

Para obtener las muestras se cortaron las ramas infestadas con larvas y se colocaron en hieleras, para las larvas pequeñas se cortaron ramas extras sin infestación como fuente de alimento en el laboratorio. De 10 a 20 larvas de los últimos estadios se mataron en agua caliente y después se preservaron en alcohol al 70% con la finalidad de tener ejemplares preservados con la coloración cercana a lo natural para preservación.

Las larvas pequeñas se pusieron en grupos de 50 con follaje cortado y se colocaron en cámaras con temperatura controlada. Las larvas grandes se pusieron en una jaula de tela de organza con follaje nativo del lugar de colecta para que las larvas pupen entre el follaje. Las pupas se colocaron en forma individual en cápsulas de gelatina, una vez emergidos los adultos mosca sierra o sus parasitoides, se conservaron en alcohol al 70%. Los ejemplares fueron analizados en la Unidad Académica de Agronomía-UAZ. Las avispa parasitoides se identificaron con las claves de Wahl y Sharkey (1993) y Ashmead (1901). Para la identificación de la familia Tachinidae se utilizaron las claves de Wood (1987), y Para Bombyliidae se utilizó la clave de Van Veen (2008).

Resultados y Discusión

Se identificaron los parasitoides *Olesicampe* sp., *Exenterus diprionis*, *E. nr canadiensis*, *E. nr marginatorius*, y *Glyphcnemis* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), y *Perilampus* Latreille (Hymenoptera: Perilampidae). De Diptera se obtuvieron a las moscas *Hemipenthes* sp. de la familia Bombyliidae y dos especies no identificadas de la familia Tachinidae (Figura 1).



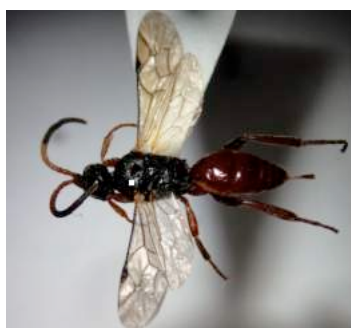
Exenterus diprionis



Exenterus nr. canadiensis



Exenterus nr. marginatorius



Glyphenemis sp.



Olesicampe sp.



Perilampus Latreille



Tachinidae



Hemipentes sp.

Figura 1.- Parasitoides de mosca sierra en el centro norte de México.



Los estados donde se colectaron las especies de parasitoides, se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Parasitoides de la mosca sierra colectados en los diversos sitios de muestreo.

Parasitoide	Chih.	Dgo.	S.L.P.	Ags.	Jal.	Mich.
<i>Glyphcnemis</i> sp.					X	
<i>Olesicampe</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Exenterus diprionis</i>	X				X	
<i>Exenterus nr canadiensis</i>			X			
<i>Exenterus nr marginatoris</i>			X			
<i>Perilampus</i> sp.			X			
<i>Hemipenthes</i> sp.	X				X	
<i>Winthemia</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Chetogena</i> sp.	X	X				

En el Estado de Chihuahua los Ichneumonidos *E. diprionis* y *Olesicampe* y las dos especies de Tachinidae se encontraron parasitando a la mosca sierra *Neodiprion*. En Aguascalientes se encontraron al parasitoide *Olesicampe* sp. y los dípteros de la familia Tachinidae como parasitoides de pupas de *Neodiprion*. En El Ocote, Cd. Guzmán, Jalisco las pupas de la mosca sierra *Zadiprion* fueron parasitadas por los icneumonidos *Olesicampe* sp., *E. diprionis* y *Glyphcnemis* sp., del orden Diptera se presentó *Hemipenthes* y dos especies de Tachinidae. En San Luis Potosí se encontraron los parasitoides *Perilampus* Latreille, *Exenterus nr canadiensis*, *E. nr marginatoris* y *Olesicampe* sp. y una especie de Tachinidae emergidos de pupas de *Monoctenus sanchezii* y *Neodiprion*. En San Juan Nuevo Michoacán se presentó el género *Olesicampe* en *Neodiprion omosus*, mientras que en Durango se encontraron especies de Tachinidae, así como el género *Olesicampe* en pupas de *Zadiprion falsus*.

El género *Exenterus* pertenece a la subfamilia Tryphoninae, sus miembros son predominantemente parásitos solitarios de larvas de mosca sierra, aunque algunas especies atacan larvas de lepidópteros, así como pupas y larvas de dípteros (Clausen, 1940). El género *Perilampus* cuenta con aproximadamente 30 especies descritas, está ampliamente distribuido. Sus hospederos son ampliamente diversos por lo general conservadores dentro de los grupos de especies: parasitoide primario de perforadores de la madera Anobiidae, anidadores del tallo Sphecidae, Chrysopidae, Diprionidae y Tenthredinidae. *Perilampus hyalinus* se crían bien como parasitoide primario de mosca sierra (Symphyta), aunque cuenta con reportes como hiperparasitoide en Lepidoptera (Woolley, 1997). Rauf y Benjamin (1980), reportan al Ichneumonido *Olesicampe lophyri* (Ril), el perilampido *Perilampus hyalinus* Say, y el Tachinido *Spathimeigenia erecta* Aldr atacando larvas de Hymenoptera Diprionidae.

Es necesario dar continuidad con este trabajo para determinar el potencial que tienen estos parasitoides para su reproducción en laboratorio, y la posible liberación exitosa. Asimismo, es necesario determinar el uso de microorganismos de control biológico o depredadores, que contribuyan en un programa de manejo integrado.



Agradecimientos.- A la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), que a través del proyecto 2010-C02: 147913 permitieron desarrollar esta investigación.

Literatura citada

- Álvarez-Zagoya, R. y Díaz-Escobedo V. de M. 2010. Enemigos Naturales del Defoliador de Pinos *Zadiprion falsus* Smith (Hymenoptera: Symphyta: Diprionidae) en Durango. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8207>
- Ashmead W. H. 1901 Clasification of the Ichneumon flies or the Superfamily Ichneumonoidea. Proceedings U. S. National Museum, Vol. XXIII, No. 1206. 190 pp.
- Clausen C. P. 1940. Entomophagous insects. Pág. 61-92. Ed.
- Goodisman MAD, Kovacs JL, and Hunt BG. 2008. Functional genetics and genomics in ants (Hymenoptera: Formicidae): The interplay of genes and social life. Myrmecological news 11: 107–117.
- Linnen, C.R. and B.D. Farrell. 2010. A test of the sympatric host race formation hypothesis in Neodiprion (Hymenoptera: Diprionidae). Proceedings of the Royal Society of London B. 277: 3131-3138.
- Rauf A and Benjamin D. M. 1980. The Biology of the White pine Sawfly Neodiprion pinetum (Hymenoptera Diprionidae) in Wisconsin. The Great Lakes Entomologist. 13 (4): 219-224.
- Sánchez-Martínez, G. and M. R. Wagner. 1999. Short-term effects of defoliation by sawflies (Hymenoptera: Diprionidae) on above and below-ground growth of three ponderosa pine genotypes. Environmental Entomology 28:38-43.
- Smith, D. R. 1993. Systematics, life history, and distribution of sawflies. In: Wagner, M. and Raffa, K. R. (eds) Sawfly Life History Adaptations to Woody Plants. pp. 33–59. Academic Press, San Diego, CA.
- Van Veen, M. 2008. Bee-flies (Diptera: Bombyliidae) of Northwest Europe. <http://home.hccnet.nl/mp.van.veen/bombyliidae/index.html>.
- Wahl, D. B., and Sharkey, M. 1993. Superfamily Ichneumonoidea. Pages 358-509. In Goulet H. and J. T. Huber. Eds., Hymenoptera of the world: An identification guide to families. Research Branch Agriculture Canada Publication 1894/E.
- Wood, D. M. 1987. Tachinidae. In Manual of Nearctic Diptera. Vol. 2. Eds McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H. J., Vockeroth, J.R., and Wood, D. M. Biosystematics Research Centre (Formerly Institute), Ottawa Ontario Canada. 1193-1269 p.
- Woolley G. H. 1997. Annotated keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). National Research Council of Canada. 794 pp.



REPORTE PRELIMINAR DEL CONSUMO DE *Podisus* sp., Y *Chrysoperla* sp., SOBRE LARVAS DE *Choristoneura rosaceana* (HARRIS)

Daniela Nájera-Miramontes¹, Claudio Rios-Velasco², David I. Berlanga-Reyes² Carlos Horacio Acosta Muñiz² y Juan L. Jacobo-Cuellar³. ¹Estudiante de post-grado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial, C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. e-mail: daniela.najera@estudiantes.ciad.mx ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial, C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ³Campo Experimental de la Sierra de Chihuahua, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Apdo. Postal 554. Hidalgo 1213, Zona Centro, C.P 31500, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Resumen. *Choristoneura rosaceana* (Harris) es una plaga del manzano de reciente aparición en el país, y su control depende básicamente de insecticidas químicos, una alternativa de control es la integración de enemigos naturales. *Podisus* sp., y *Chrysoperla* sp., son depredadores polífagos de insectos, cuyas presas principales son las larvas de lepidópteros, por lo que tienen un gran potencial para ser usados como agentes de control biológico. Dado lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar el porcentaje de consumo de estos depredadores sobre larvas de *C. rosaceana*. Para ello se realizaron ensayos de consumo colocando larvas de *C. rosaceana* de manera individual en compartimentos con un espécimen del depredador, a cada compartimento se le colocó dieta artificial para la alimentación de *C. rosaceana* y se registró el consumo diario, de cada uno de los depredadores. Las ninfas de *Podisus* sp., comieron un promedio de 1.75 larvas de *C. rosaceana* y 2.99 larvas por larvas de tercer estadio de *Chrysoperla* sp., en 24 h.

Palabras clave: Enrollador de la hoja, Chinche soldado, Depredación, Crisopas, Consumo.



IDENTIFICACIÓN DE MINADOR DE LA HOJA Y SUS PARASITOIDES EN EL CULTIVO DE TOMATE EN EL NORTE DE SINALOA

Fernando Alberto Valenzuela-Escoboza¹, Edgardo Cortez-Mondaca², Álvaro Reyes-Olivas¹, José Refugio Lomelí-Flores³, Rogelio Enrique Palacios-Torres⁴, Ismael Talamantes Castorena¹. ¹Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte-UAS. Avenida Japaraqui y Calle 16, Juan José Ríos, Sinaloa. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental Valle del Fuerte. Juan José Ríos, Sinaloa. ³Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo., de México, ⁴Universidad del Papaloapan, Loma Bonita, Oaxaca. valledelfuerte@hotmail.com

Resumen. El objetivo del estudio fue identificar la(s) especie(s) de minador de la hoja en el cultivo de tomate y los parasitoides que de manera natural regulan sus poblaciones, en el norte de Sinaloa. Para la identificación del minador de la hoja, se realizaron muestreos de especímenes en cultivos de tomate cada 15 días, recolectando folíolos con presencia evidente de minador y se confinaron en vasos de plástico desechables, para esperar la emergencia del adulto de minador o parasitoide, la especie de minador de la hoja obtenida fue *Liriomyza sativae* Blanchard, y las especies parasitoides asociadas a esta, fueron: *Neochrysocharis* sp., *Closterocerus* sp. Ashmead, *Opius* sp. Muesebeck y una especie de la familia Figitidae en proceso de identificación, los porcentajes de parasitismo encontrado por fecha de muestreo fluctuaron entre el 10 y 80%, y el parasitismo total por área de muestreo fluctuó del 21 al 28%.

Palabras Clave: *Liriomyza sativae*, Control biológico, Parasitismo.

Introducción

El estado de Sinaloa es el principal productor de tomate *Solanum lycopersicum* L. a escala nacional, con una superficie promedio anual sembrada de 15,362.14 ha y una producción de 983,288.14 t (SAGARPA, 2014). Es afectado por diferentes plagas insectiles, entre las que sobresale el gusano alfiler *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae), Gusano del fruto *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), Mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae), Trips *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae), entre otros (Pacheco, 1985; Bautista, 2006). En los últimos ciclos agrícolas, los minadores de la hoja (Agromyzidae), se han convertido en una de las principales plagas del cultivo en el norte de Sinaloa, ya que comúnmente se presentan en poblaciones elevadas provocando defoliación en las plantas, en todo el lote. La población de minador de la hoja, se incrementa desde inicio de floración y fructificación del cultivo, lo cual se atribuye a la aplicación de insecticidas de amplio espectro dirigidos al control de plagas como mosca blanca y otras comunes de inicio de temporada (Valenzuela *et al*, 2010). El objetivo del estudio, fue identificar la(s) especie(s) de minador de la hoja y los parasitoides que de manera natural regulan sus poblaciones en el cultivo de tomate, en el norte de Sinaloa.

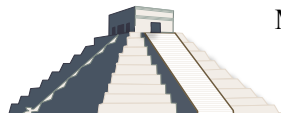


Materiales y Métodos

El estudio se realizó en los municipios de Guasave, Ahome y El Fuerte en el norte de Sinaloa, durante cinco meses, de octubre de 2013 a febrero de 2014, durante 10 fechas muestreos realizados a intervalos quincenales, en cinco lotes de tomate estacado con manejo tradicional que incluye la aplicación de insecticidas y demás agroquímicos; en cada fecha de muestreo se inspeccionaba un lote por municipio, es decir tres lotes por fecha de muestreo. La ubicación de las parcelas fueron: Municipio de Guasave, Ejido Adolfo Ruíz Cortines N25°42'37.0'' W108°43'03.2'', 30 msnm; Municipio de Ahome, Ejido Las Vacas N25°46'53.9'' W108°52'19.4'', 22 msnm y Ejido Jiquilpan N25°49'24.3'' W 108°57'54.7'', 25 msnm; y Municipio de El Fuerte, Ejido Mochicahui N25°56'38.2'' W108°55'47.4'', 14 msnm y Ejido Sufragio N26°03'23'' W 108°47'19.9'', 36 msnm.

Se utilizó la técnica de muestreo del cinco de oros, eligiendo en cada punto una planta para coleccionar al azar cinco folíolos completamente desarrollados de la parte media, a ambos lados de la planta, obteniendo así 10 folíolos por planta (50 por lote/muestreo). De dicha muestra se elegían 10 folíolos (30 folíolos por fecha de muestreo en los tres municipios y 300 folíolos durante las 10 fechas de muestreo) y se introducían a bolsas de plástico (ziploc®), enseguida se llevaban al laboratorio de Entomología Agrícola y Manejo Integrado de Plagas de la Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte (ESAVF) de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para colocarlos en vasos de plástico N°4A (4.5 cm de altura) con tapa, a la cual se le hizo una perforación y se le colocó polipropileno (Agribon®17) con el fin de favorecer la ventilación y evitar que entrara, o escapara ningún organismo; en el fondo del vaso se colocó papel sanitario húmedo para evitar que las muestras se deshidrataran. Después de la emergencia de los adultos se esperó al menos 24 horas, con el fin de que desarrollarán las características morfológicas. Los adultos de minadores como de parasitoides se separaron, y se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL con alcohol 70%, debidamente etiquetados.

Tradicionalmente la identificación de las especies de *Liriomyza* se realiza considerando las estructuras de los genitales de los machos y la quetotaxia de la cabeza, por lo que se procedió a realizar montajes de estas estructuras. Para la preparación de los genitales se siguió la metodología propuesta por Palacios *et al.*, (2008), los especímenes machos se maceraron en hidróxido de potasio al 10% a 80 °C durante diez minutos, después se lavaron y se conservaron en alcohol al 70%. Las preparaciones de edeago y bomba eyaculadora se montaron temporalmente sobre una gota de gel transparente para cabello mezclada con una gota de glicerina. La observación y fotografías se hicieron con un microscopio Tessonar y con un Fotomicroscopio III, (Carl Zeiss®), con una cámara digital para microscopía PaxCam3®. La identificación se realizó utilizando las claves y esquemas de los genitales del macho publicados por Spencer y Stegmaier (1973), Spencer y Steyskal (1986), Spencer *et al.* (1992). Los especímenes adultos de parasitoides del minador de la hoja se identificaron usando las claves de Wharton (1997), La Salle, y Parella (2005) y Hansson (1994). Ejemplares de resguardo del material entomológico obtenido y analizado en este estudio, se encuentran en la colección entomológica de la ESAVF.



Resultados y Discusión

Especie de minador de la hoja identificada. De los 116 especímenes obtenidos, la especie identificada fue *Liriomyza sativae* Blanchard, las características son, el distifalo del eedeago, en vista lateral y ventral, presenta constricciones poco notorias y sus bordes presentan una ligera ondulación (Fig. 1 y 2), mientras que el apodema de la bomba eyaculatoria posee una base delgada que en su extremo distal es más ancha que el diámetro del bulbo (Fig. 2). Esta especie fue reportada por Medina *et al.* (2014) asociada a garbanzo en el valle de Culiacán, mientras que en el estado de Morelos, García (2014) la encontró atacando tomate.

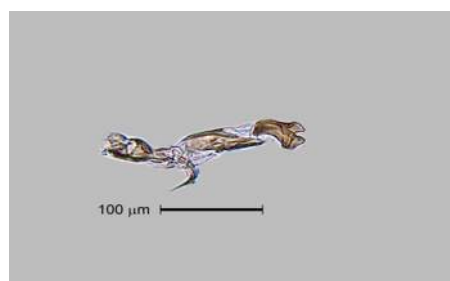


Figura 1. Eedeago vista lateral.

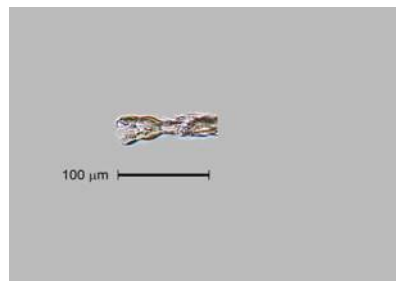


Figura 2. Eedeago vista ventral.

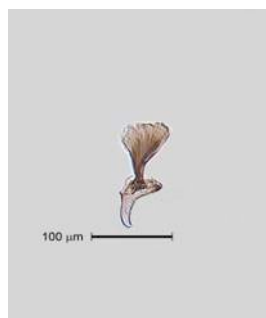


Figura 3. Bomba eyaculatoria.

Parasitoides obtenidos. Se obtuvieron 77 ejemplares de parasitoides asociados a *L. sativae*, en los tres municipios muestreados, estos pertenecen a tres familias de Hymenoptera. La especie *Neochrysocharis* sp. (Eulophidae) fue la más frecuente y abundante con 46 especímenes (59.7%) (Fig. 4), seguido por el género *Opius* sp. (Braconidae) con 16 especímenes (20.8%) (Fig. 5), en tercer lugar *Closterocerus* sp. (Eulophidae) con 14 especímenes (18.2%) (Fig. 6) y un espécimen de la familia Figitidae (1.3%) no determinado todavía a género (Cuadro 1). Dado que el número total de hojas confinadas por municipio, fueron 100, el porcentaje total de parasitismo por área de muestreo fue igual al número de estos obtenidos: 21, 28 y 27% para Guasave, Ahome y el Fuerte. Sin embargo, por fecha de muestreo se registraron porcentajes de parasitismo en un rango de 10 a 70% y sólo en una fecha de muestreo, en el municipio de Guasave, el porcentaje de parasitismo fue cero (Cuadro 1).



En los lotes muestreados en Guasave no se obtuvieron adultos fitófagos o entomófagos de 37 foliolos colectados, así como de 42 en Ahome y de 32 foliolos en el fuerte, se desconoce la causa, pudo deberse al efecto de los insecticidas aplicados en el cultivo durante las fechas de muestreo, por mortalidad ocasionada por las hembras parasitoides de Eulophidae (Cortez-Mondaca y Valenzuela-Escoboza, 2013) o por otra causa de mortalidad natural o bien, debido a que al momento de confinar el foliolo ya había ocurrido la emergencia del minador de la hoja o el parasitoide.

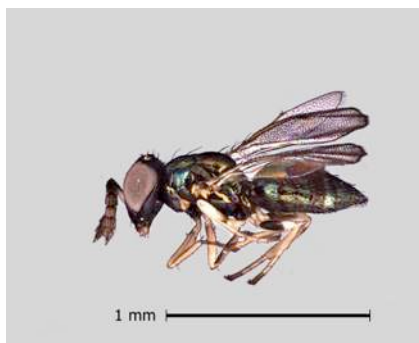


Fig. 4. *Neochrysocharis* sp.



Fig. 5. *Opilus* sp.

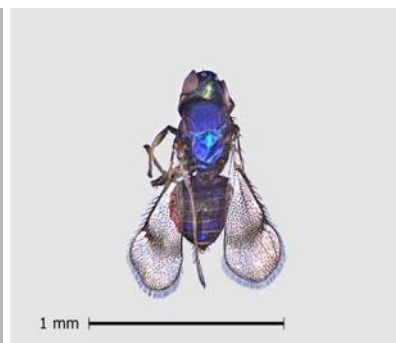


Fig. 6. *Closterocerus* sp.

Cuadro 1. Promedio de porcentaje de parasitismo sobre minador de la hoja por fecha de muestreo, especie parasitoide y municipio de muestreo.

Fecha de muestreo	Guasave					Ahome					El Fuerte				
	N.	C.	O.	F.	%Par	N.	C.	O.	F.	%Par	N.	C.	O.	F.	%Par
15/oct/2013	1	2	-	-	30	2	-	-	-	20	4	-	1	-	50
31/oct/2013	-	-	1	-	10	-	1	-	-	10	2	-	-	-	20
15/nov/2013	2	-	-	-	20	1	1	-	-	20	-	-	1	-	10
30/nov/2013	2	-	-	-	20	2	-	1	-	30	1	-	2	-	30
15/dic/2013	1	-	2	-	30	1	-	1	-	20	2	1	-	-	30
31/dic/2013	2	-	-	-	20	3	-	-	-	30	2	-	-	-	20
15/ene/2014	3	-	-	-	30	1	-	1	-	20	3	1	1	-	40
31/ene/2014	2	-	-	-	20	5	-	1	1	70	3	-	-	-	30
15/feb/2014	-	2	1	-	30	1	2	2	-	50	-	2	1	-	30
28/feb/2014	-	-	-	-	0	-	1	-	-	10	-	1	-	-	10
Suma	13	4	4	0	21.0*	16	5	6	1	28.0*	17	5	6	0	27.0*

N.= *Neochrysocharis*. C.= *Closterocerus*. O.= *Opion*. F.= Figitidae. %Pa= porcentaje de parasitismo.

*= media de porcentaje de parasitismo.

Se corroboró a *Opilus* sp., reportado por Alvarado y Trumble (1999), parasitando minador de la hoja en tomate; *Neochrysocharis* y *Closterocerus* previamente reportados por Cortez *et al.* (2004) en el cultivo de canola y los tres géneros encontrados por Valenzuela *et al.* (2010) asociados a *Liriomyza trifolii* (Burgess) en chile jalapeño, en el norte de Sinaloa; en esa ocasión *Closterocerus* se identificó a especie como *C. cinctipennis* y *Opilus* como *O. dissitus*, y otros ejemplares no determinados a especie.



El presente documento representa el primer reporte formal de *L. sativae* y sus parasitoides asociados en tomate, en el norte de Sinaloa, lo cual eventualmente permitirá realizar un manejo más apropiado de éste insecto plaga. La única especie de minador de la hoja previamente determinada de manera oficial en el norte de Sinaloa es *L. trifolii*, atacando cultivo de chile jalapeño (Valenzuela, *et al.* 2010).

Literatura Citada

- Alvarado, R.B. y J.T. Trumble. 1999. El manejo integrado de las plagas: un ejemplo en el cultivo de tomate en Sinaloa. In: Anaya, R. S. y R. Nápoles *et al.* Hortalizas, plagas y enfermedades. Edit. Trillas. ISBN 968-24-1283-8. México, D.F. pp. 435-449.
- Bautista, M.N. 2006. Insectos plaga, una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. ISBN: 968-839-489-0. Montecillo, Texcoco. Edo. de México. 113 p.
- Cortez, M.E., N. Castillo T. y J. Macias C. 2004. Enemigos naturales para el control biológico de insectos plaga en canola. INIFAP-CIRNO-CEVAF. Folleto Técnico No 22, Juan José Ríos, Sinaloa. pp 18-22.
- Cortez-Mondaca, E., F.A. Valenzuela-Escoboza. 2013. Enemigos naturales del minador de la hoja *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae): retos y perspectivas para su control biológico. *Southwestern Entomologist*, 38(4): 643-660.
- Hansson, C. 1994. Re-evaluation of the genus *Closterocerus* Westwood (Hymenoptera: Eulophidae), with a revision of the Nearctic species. *Entomologica Scandinavica*. 25: 1-25.
- LaSalle, J. and M. P. Parrella. 1991. The chalcidoid parasites (Hymenoptera, Chalcidoidea) of economically important *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) in North America. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*. 93: 571-591.
- Medina, R., L. Partida., R.E. Palacios., C.E. Ail., T. Díaz y T.J. Velázquez. 2014. Primer registro de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) como minador de la hoja del garbanzo *Cicer arietinum*. *Southwest. Entomol.* 39:197-200.
- Pacheco, M.F. 1985. Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. SARH-INIFAP-CIANO-CAEVY. Libro Técnico No. 1. Cd. Obregón, Sonora, Méx. 414 p.
- Spencer, K.A. and C.E. Stegmaier. 1973. Agromyzidae of Florida, with a supplement on species from the Caribbean. Arthropods of Florida and neighboring land areas. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Gainesville, Florida, U.S.A. 205 p.
- Spencer, K.A., and J.C. Steyskal. 1986. Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States. United States Department of Agriculture. Washington. D.C. Agriculture Handbook. 638 p.
- Spencer, K.A., M. Martínez, and J. Étienne. 1992. Les Agromyzidae (Diptera) de Guadeloupe. *Annales de la Société Entomologique de France*, 28(3): 251-302.
- Wharton, R. A. 1997. Subfamily Opiinae. pp 379-396 in Wharton, R.A., P. M. Marsh, and M. J. Sharkey. (Eds.) Manual of the New World Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera). Special Publications of the International Society of Hymenopterists 1.



MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS CON CONTROL BIOLÓGICO EN ARBOLES FORESTALES DE LA FAMILIA MELIACEA EN EL ESTADO DE QUINTANA ROO

Sansores Lara Laura Isabel¹, Cocha Varguez Luis Miguel¹, **Manzanilla Tejero Pedro Miguel¹**, Uu Espens Carol Estrella¹. 1.-Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de la Zona Maya (ITZM), Código Postal: 77960. Cuidad: Chetumal. Carretera Chetumal-Escárcega Km 21.5, [Ejido Juan Sarabia](#) Quintana Roo, [Othón P. Blanco](#).

Resumen. El objetivo de este proyecto es la implementación del manejo integrado de plagas por medio del control biológico, este puede definirse como una combinación de medidas de prevención, observación y supresión que pueden ser eficientes ecológicamente, económicamente y aceptables socialmente, para mantener las poblaciones alejadas de plagas a un nivel adecuado. La prevención podrá incluir la selección adecuada del árbol, la variedad y el sitio, la regeneración natural y la aplicación de prácticas de plantación y raleo que reducen las poblaciones de plagas y favorecen el control sostenible por parte de los enemigos naturales. Para la supresión de la plaga se utilizara el control mecánico y el control biológico mediante promoción de los enemigos naturales benéficos a través de la adopción de prácticas silvícolas adecuadas. Las especies forestales incluidas en la familia de las meliáceas (cedro y caoba), toman una parte muy importante para el establecimiento de las plantaciones forestales las cuales se ven amenazadas por plagas dañinas para su desarrollo y son un factor limitante para el éxito de estas plantaciones, entre estas plagas se encuentran el *Atta cephalotes*, *Coptotermes crassus*, *Heterotermes Aureus*, *Convexinotatus*, *Xyleborus ferrugineus*, *Xyleborus volvulus*, *Tetranychus mexicanus*, *Coelocapa schwarzi*, (Cibrian *et al.* 1995,) pero sin embargo las plagas más comunes que atacan a las meliáceas (caoba y cedro) son los barrenadores *Hipsipyla grandella* y *el Chrysobothris yucatanensis*, siendo las de mayor impacto económico e incidencia en la zona. La aplicación del control biológico y mecánico para las plagas muestra niveles bajos en el umbral económico, contaminación y sobre todo no son nocivos para los seres humanos y la fauna del ecosistema, los agentes para el control biológico son algunos del reino fungí como *Beauveria bassiana* y *Metarrhizium anisopliae* (A la Torre, 1997).



DIVERSIDAD DE PARASITOIDES DEL GUSANO COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEP.: NOCTUIDAE) EN TRES AGROECOSISTEMAS DE MAÍZ EN LA REGIÓN DE PÁTZCUARO, MICHOACÁN.

Margarita García-Becerra¹ y Fernando Bahena-Juárez².¹Instituto Tecnológico Superior de Pátzcuaro. (ITSPA) C. Electrónico: gmagui.001@gmail.com; ²Campo Experimental Uruapan, INIFAP. Av Latinoamericana #1101, Col Revolución, C. postal 60150, Uruapan, Mich. C. Electrónico: bahena.fernando@inifap.gob.mx

Resumen. Para el manejo del gusano cogollero *S. frugiperda* se ha demostrado que en los agroecosistemas más diversificados es posible lograr un equilibrio natural por la intervención de organismos benéficos. El presente estudio consistió en conocer la diversidad de especies parasitoides presentes en tres agroecosistemas del cultivo de maíz: policultivos, agroforestería y monocultivo. En la región de Pátzcuaro, Mich., durante el ciclo agrícola P-V 2011 y 2012, se realizaron 29 colectas en diferentes localidades de la región, los agroecosistemas que se observaron fueron. En cada colecta de campo se captura por lo menos 100 larvas de diferentes instares, todas ellas fueron individualizadas y colocadas en recipientes con tapas perforada, fueron trasladadas al laboratorio de usos múltiples del ITSPA, donde fueron alimentadas con hojas de maíz fresca hasta completar su desarrollo o bien hasta la obtención de parasitoides. Se obtuvo un total de 23 especies de parasitoides de los cuales 17 ejemplares (73.91%) fueron observados en el Sistema de Policultivo, mientras que 13 (56.52%) en el Sistema de Agroforestería y finalmente el Monocultivo con 10 (43.47%). Las especies de parasitoides observadas fueron, de Braconidae: *Chelonus insularis*, *C. sonorensis*, *Meteorus laphygmae*, *Cotesia marginiventris*, *Glyptapanteles* sp. y una especie no identificada; de Ichneumonidae: *Campoletis sonorensis*, tres especies no identificadas del genero *Campoletis* spp., *Pristomerus spinator* y cuatro especies no identificadas; de Eulophidae: *Euplectrus platypenae*; de Chalcididae probablemente un hiperparásito de *C. sonorensis* (*Spilochalcis* sp.); de Pteromalidae: *Pteromalus* sp.; de Tachinidae: *Winthemia* sp, *Archytas marmoratus* y tres especies no identificadas.

Palabras clave: Agroecosistemas, Parasitismo *Spodoptera frugiperda* y Diversidad de Especies.

Introducción

EL gusano cogollero *S. frugiperda* es considerado una de la principales plagas del cultivo de maíz, dentro de la república mexicana este insecto plaga se presenta en gran parte de los estados, registrándose los mayores daños en Michoacán, Guerrero, Morelos, Oaxaca, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Quintana Roo (Molina-Ochoa *et al.*, 2004; Andrews, 1988). En estos estados, es común encontrar daños del 75 al 95% del total de las plantas en una hectárea, resultando pérdidas de cuando menos las dos terceras partes de la cosecha y en algunos estados, cuando no se protegen las plantas, se presentan pérdidas totales de cosecha.



Durante muchos años, el control de esta especie plaga, comúnmente se ha realizado mediante la aplicación de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides (Diez-Rodríguez y Omoto, 2001). El uso irracional de estos insecticidas, como única alternativa de control, ha dado como resultado la resistencia de *S. frugiperda*, eliminación de enemigos naturales, contaminación del suelo, agua, aire y aparición de nuevas plagas, así como intoxicación en los usuarios además de acumulación de residuos en los alimentos (Roel *et al.*, 2000).

En los últimos años se ha demostrado el papel y la importancia que presenta la biodiversidad vegetal en los sistemas agrícolas (Nicholls y Altieri, 2002; Letourneau, 2011), así como la función de los insectos benéficos (parasitoides, depredadores y entomopatógenos), considerándose a estos como parte integral de los ecosistemas, lo cuales influyen directamente en el balance agroecológico de insectos plaga (Brechtel, 2004; Sarukhán *et al.*, 2009).

Los insectos benéficos actúan como agentes de control natural que pueden determinar la regulación de poblaciones de herbívoros en los agroecosistemas (Altieri y Nicholls, 2000). Como cualquier manejo exitoso, el método seleccionado depende de la cantidad de información ecológica que se tenga, la cual provee las bases para tomar la mejor decisión (Nicholls, 2008). Sin embargo, una de las principales problema en todos los ámbitos de la agricultura es la falta de investigación básica sobre la distribución, abundancia y taxonomía de insectos plagas y sus enemigos naturales (Altieri, 1991; Altieri y Nicholls, 2002).

Materiales y métodos

Se realizaron 29 muestreos en tres diferentes agroecosistemas del cultivo de maíz en la cuenca del lago de Pátzcuaro, una de las principales características para la decisión de colectar o no en determinado lugar, era visualizar la presencia de *S. frugiperda* en el cultivo maíz, posteriormente se realizó una descripción del tipo del sistema mediante una libreta de campo. En la descripción de los sitios de colectas se toma en cuenta la vegetación circulante ya sea arbustos, árboles o lo que se encontrara alrededor de los cultivos como barreras vivas, también se determinó el tipo de agroecosistemas en el que se encontró el maíz, y en base a ello se clasificaron según el manejo, se identificaron tres manejos diferentes los cuales se clasifican a continuación según las características y se agruparon por similitudes del sistema bajo los mismo parámetros.

A). Sistema de Policultivos (asociación de cultivos). Es el metodo más común que se puede observar en la región, sobre todo en pequeños productores, las principales caracterizas de este sistema es la combinación de dos y en ocasiones hasta a cuatro diferentes cultivos en una misma siembra con Maíz, Frijol Haba y Calabaza.

B.) Sistema de Agroforesteria. En este sistema se caracterizó por la presencia o por la combinación de varios árboles tanto forestales, vegetación silvestre (tule, chuspata), ya sea intercalados entre el cultivo del maíz o bien como barreras vivas, se observó en pequeños productores que siembran bajo traspatio principalmente.



C.) Sistema de monocultivo (solo maíz). Este tipo de sistema también es muy común sobre todo en aquellos ejidos comunales donde el cultivo que predomina es el maíz, siendo en este caso el único cultivo presente (monocultivo maíz).

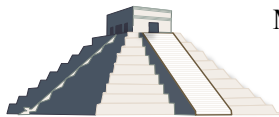
Los muestreos en campo se iniciaron durante los ciclos agrícolas de PV 2011 y 2012, procurando que las plántulas tuvieran (cuatro o seis hojas verdaderas aprox.), a una altura de 15 cm. y que en estas localidades no se hubiese aplicado ningún producto químico recientemente. Cuando ya no fue posible coleccionar en parcelas cuyas plántulas se encontraran en los primeros estadios fenológicos se consideró muestrear no importando el tamaño de la planta hasta antes de que empezara a espigar.

Todos los muestreos se realizaron por las mañanas para facilitar la colecta, ya que la movilidad de las larvas es menor en las primeras horas. Las plantas eran revisadas de manera individual buscando daño visible en el cogollo, raspaduras en las hojas o excremento fresco de larvas, lo cual indicaba la presencia del *S. frugiperda*. Se revisaba el haz y el envés de las hojas y ocasionalmente se pudieron encontrar masas de huevecillos y capullos de parasitoides estos fueron individualizados y colocándolos en recipientes previamente etiquetados con datos de identificación de la muestra, la prioridad eran larvas *S. frugiperda*.

En cada fecha y localidad de muestreo se colectó siempre un número superior a 100 larvas aparentemente sanas y que estas se encontraran en los primeros estadios L₁, L₂, L₃, posteriormente cuando no era posible coleccionar larvas pequeñas se colectaron L₄, L₅ y hasta L₆ según referencias metodológicas (Bahena *et al.*, 2010), sobre todo en aquellos lugares donde la milpa de maíz ya rebasaba el 1.5m de altura, era ya difícil coleccionar larvas pequeñas.

Cuando se descubría daño causado por cogollero en la planta, se procedía a su captura con la ayuda de pinzas flexibles, se confinaban en recipientes de plásticos de 50 ml, los cuales contenían hojas frescas de maíz. En el mismo sitio de colecta cada organismo fue manejado de manera individual para evitar el canibalismo característico de esta especie, y además para registrar los eventos que ocurrían y evitar confusiones entre el material coleccionado, para de esta forma ser trasladadas al laboratorio.

El material biológico coleccionado fue trasladado al laboratorio de ciencia básica del ITSPA, allí las larvas fueron revisadas con la finalidad de excluir todas aquellas que se encontraron dañadas o muertas. Se hizo una separación del material coleccionado de acuerdo a cada etapa de desarrollo; Larvas pequeñas (L₁ y L₂), Larvas medianas (L₃ y L₄) y Larvas grandes (L₅ y L₆) (Bahena *et al.*, 2010). Se rotularon los recipientes con datos de identificación (fecha y lugar) y se les adicionaba hojas tiernas de maíz conforme lo fueron requiriendo con el objetivo de mantener las larvas en condiciones adecuadas para su observación y seguimiento. Previamente las tapas fueron perforadas con orificios distribuidos uniformemente, que permitían la circulación del aire dentro del recipiente.



Posteriormente los parasitoides obtenidos de los diferentes muestreos fueron identificados y clasificados por tipo de sistema de producción donde fueron encontrados y se realizaron mapas de distribución de los principales parasitoides. Por otra parte algunos parasitoides fueron separados en grupos por familia y los restantes fueron fijados en alcohol al 70% en frascos de 5 ml anotando en ellos la fecha de colecta y la localidad.

Resultados y discusión

Dentro de los tres sistemas evaluados se observaron variaciones significativas de un sistema a otro, siendo la asociación de cultivos o policultivos el que presentó la mayor diversidad de especies parasitoides en comparación con los otros dos sistemas estudiados. En cuanto al número de parasitoides identificados para cada uno de los sistemas también se observó una variación de especies encontradas para cada sistema, en total se encontraron 23 especies diferentes parasitoides, observándose en el Sistema de Policultivo la mayor cantidad con 17 ejemplares (73.91%), mientras que el segundo fue para el Sistema de Agroforestería con 13 (56.52%) y finalmente el Monocultivo con 10 (43.47%) (Figura 1.), siendo este último sistema, donde se encontraron los mayores daños causado por *S. frugiperda* así como los porcentajes de parasitismo más bajos.

Algunos autores mencionan que la asociación de cultivos (frijol, haba y calabaza) ha reducido en forma natural las poblaciones de plaga (Altieri, 1980; Cortez-Madrigal *et al.*, 1993). En el presente estudio, en la asociación de cultivos (Sistema de Policultivos) se registró adicionalmente que más del 50% de la población de larvas iba a morir por la acción de los parasitoides, mientras que en aquellos Sistemas de Monocultivo, donde el maíz representa ser el único cultivo presente, se determinó que la acción de los entomófagos es más baja en comparación de los otros sistemas evaluados, esto no quiere decir que no sean efectivos los parasitoides simplemente que carecen de refugios, fuentes de energía (alimento) o bien son eliminados mediante la aplicación de productos químicos.

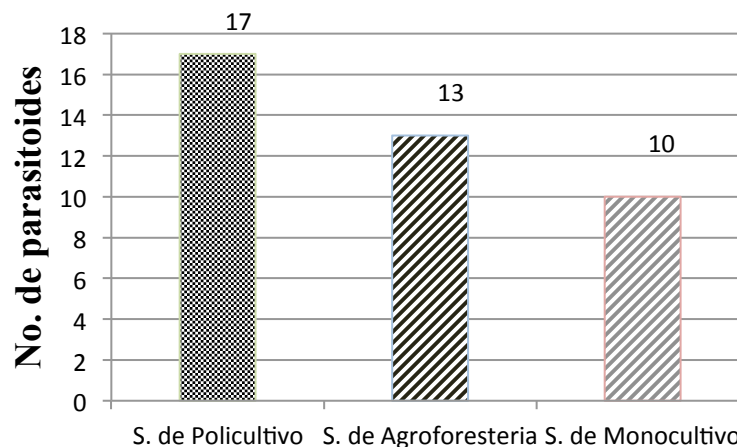
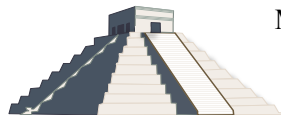


Figura 1. Número de especies de parasitoides de *S. frugiperda* identificados en función del tipo del Agroecosistema.



Por lo que se demostró que en sistemas más diversificados se reduce de manera natural las poblaciones de insectos plaga y aumenta las condiciones necesarias para que los insectos benéficos sobrevivan y ejerzan su función como reguladores naturales dentro de los sistemas agrícolas, es por ello que se deben ofrecer mosaicos más diversificados de vegetación, al proporcionar un medio apropiado para brindar las condiciones necesarias que favorezcan las poblaciones de insectos benéficos.

En el presente estudio la diversidad de especies y parasitismo natural se vio favorecida por el tipo de agroecosistemas, observando que los cultivos asociados (Sistema de Policultivos) presentan la mayor variedad de especies identificadas, seguido del Sistema de Agroforestería y finalmente el Sistema de Monocultivo donde se observó la menor diversidad de especies parasitoides. Se identificaron un total 23 especie de parasitoides siendo las siguientes: 1.) De Braconidae: *Chelonus insularis* Cresson 1865, *Chelonus sonorensis* Cameron 1887, *Meteorus laphygmae* Viereck, 1913, *Cotesia marginiventris* Cresson 1865, *Glyptanteles* sp. Ashmead y una especie no identificada; 2.) De Ichneumonidae: *Campoletis sonorensis* Cameron, 1886, tres especies no identificadas del genero *Campoletis* spp Förster, *Pristomerus spinator* Frabricius 1804 y cuatro especies no identificadas; 3.) De Eulophidae: *Euplectrus platypenae* Howard 1885; 4.) De la familia Chalcididae probablemente un hiperparásito de *C. sonorensis*, identificado como *Spilochalcis* sp, Thomson 1876.); 5.) De Pteromalidae: *Pteromalus* sp. Dalman, 1820; y 6.) De Tachinidae: dos especies, *Winthemia* sp. Robineau-Desvoidy, 1830 y *Archytas marmoratus* Townsend y tres especies no identificadas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diversidad de especies de parasitoides de *S. frugiperda* identificadas para cada uno de los Agroecosistemas.

Sistema de Policultivos	Sistemas de Agroforestería	Sistema de Monocultivo
<i>Chelonus sonorensis</i>	<i>Chelonus sonorensis</i>	<i>Chelonus sonorensis</i>
<i>Chelonus insularis</i>	<i>Chelonus insularis</i>	<i>Chelonus insularis</i>
<i>Cotesia marginiventris</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>
<i>Glyptanteles</i> sp.		
<i>Meteorus laphygmae</i>	<i>Meteorus laphygmae</i>	<i>Meteorus laphygmae</i>
<i>Campoletis sonorensis</i>	<i>Campoletis sonorensis</i>	<i>Campoletis sonorensis</i>
<i>Campoletis</i> sp.1	<i>Campoletis</i> sp.1.	<i>Campoletis</i> sp.1
<i>Campoletis</i> sp.2	<i>Campoletis</i> sp.2	
<i>Campoletis</i> sp.3		
<i>Pristomerus spinator</i>	<i>Pristomerus spinator</i>	<i>Pristomerus spinator</i>
<i>Spilochalcis</i> sp.	<i>Spilochalcis</i> sp.	
<i>Winthemia</i> sp.	<i>Winthemia</i> sp.	<i>Winthemia</i> sp.
Braconidae	Braconidae	
Inchneumonidae	Inchneumonidae	
Inchneumonidae		<i>Euplectrus plathypenae</i>
Inchneumonidae		
	Pteromalidae	
		Tachinidae
Sp.17	Sp.13	Sp.10



Por otra parte, en forma coincidente para el agroecosistema del policultivo, se observó el porcentaje más alto de parasitismo natural. Se realizó una comparación entre los tres agroecosistemas en base a los porcentajes promedio de parasitismo obtenidos para cada uno de ellos, se observó una menor presencia de entomófagos y mayores daños por parte de las larvas del cogollero en el monocultivo con respecto al policultivo, presentó no solo mayor diversidad sino también mejor regulación natural de la plaga, incluyendo una mayor diversidad de insectos. Como se observa en la figura 2, existe una diferencia muy marcada entre el parasitismo que se tienen en los diferentes agroecosistemas estudiados, registrándose para el caso del monocultivo un porcentaje de 28.08%, y 66.34% en los sistemas de policultivos, mientras que para el sistema de agroforestería se encontró el 42.69% parasitismo promedio entre las larvas colectadas en campo.

Dentro de los tres diferentes sistemas de producción que se presentan en la cuenca se observó que el sistema de asociación en el cultivo de maíz, proporciona un medio apropiado para elevar los porcentajes de parasitismo y brindar condiciones necesarias para las poblaciones de insectos benéficos dentro de los cultivos. Además de reducir la incidencia de la plaga en el cultivo por un control natural. En la región son escasos los estudios respecto a la identificación de parasitoides de *S. frugiperda*, estudios previos, solamente mencionan a dos especies *C. sonorensis* y *Netelia* sp. (López, 2001), en el presente trabajo se reportan a 22 especies adicionales lo que constituye un aporte del 91.6% más de lo que ya se conocía, para hacer ahora un total de 24 especies distintas de parasitoides para esta región.

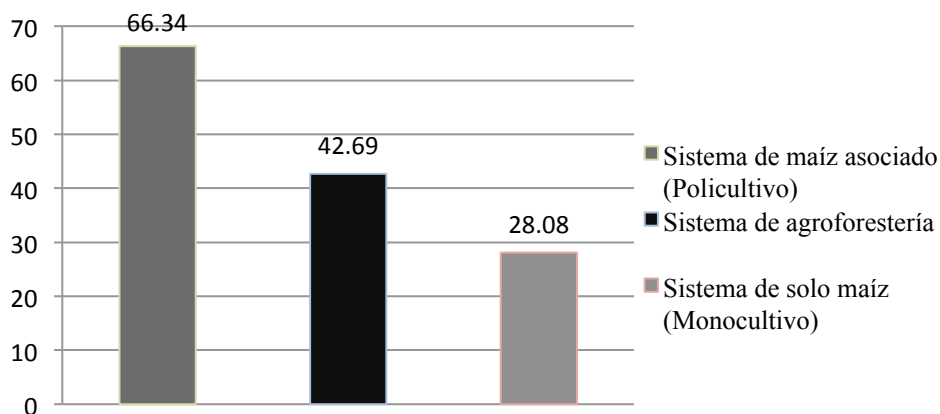


Figura 2. Porcentajes promedio de parasitismo natural en larvas de *S. frugiperda* en tres agroecosistemas diferentes.

Conclusiones

En estudio ha demostrado que la diversificación en los sistemas agrícolas reduce, las poblaciones de insectos plaga, y aumenta las condiciones necesarias para que los insectos benéficos sobrevivan y ejerzan una regulación natural dentro de los sistemas agrícolas, es por ello que se le deben de ofrecer un mosaico diversificado de vegetación además de minimizar el uso de



insecticidas químicos. Con la finalidad de favorecer la abundancia de los enemigos naturales y su efectividad al proveer de huéspedes o presas alternativas cuando escasea la plaga principal, además de ser fuentes importantes de alimento (Polen y néctar) para los parasitoides y depredadores así como el brindar refugios.

Literatura citada

- Altieri., M. A. 1980. Diversification of corn agroecosystems as a means of regulating fall armyworm populations. *Florida Entomologist* 63 (4): 451-456.
- Altieri., M. A. y C. I. Nicholls. 2000. Los impactos ecológicos de la agricultura moderna y las posibilidades de una agricultura verdaderamente sustentable. *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. 1a edición. Serie textos básicos para la formación ambiental. Mexico, D.F. 257p.
- Andrews., K. L. 1980. The whorlworm, *Spodoptera frugiperda*, in Central America and Neighboring Areas. *Florida Entomologist* 63 (4): 456-467.
- Bahena-Juárez., F.; E. De Lange.; K. Farnier.; E. Cortéz-Mondaca.; R. Sánchez-Martínez.; F. García-Pérez.; M. Miranda-Salcedo.; T. Degen.; B. Gaudillat y R. Aguilar-Romero. 2010. Parasitismo natural en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* en México (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el Centro de México. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Control Biológico en Uruapan, Michoacán.*: 204-208.
- Brechelt., A. 2004. El Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades. *Red de Acción de Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL)*. 1-36.
- Cortez-Madrugal., H.; J. Trujillo-Arriaga y A. Gonzales-Hernández. 1993. Incidencia del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.:Noctuidae) y de sus enemigos naturales en tres agroecosistemas de maíz en la Chontalpa, Tabasco. En: *Memorias XXVII Cong. Nal. Entomol. Cholula Pue.*212-218.
- Diez-Rodríguez., G. I. y C. Omoto. 2001. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a Lambda-Cialotrina. *Neotropical Entomology*. 30 (2): 311-316.
- Letourneau., D. K.; I. Armbrecht.; B. Salguero R.; J. Montoya L.; E. Jiménez C.; M. Constanza D.; S. Escobar.; V. Galindo.; C. Gutiérrez.; S. Duque L.; J. López M.; A. M. Acosta R.; J. Herrera R.; L. Rivera.; C. A. Saavedra.; A. M. Torres y A. Reyes T. 2011. Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications* 21 (1):9-21.
- López D., M. T. y J. Estrada O. 2005. Los bioinsecticidas de nim en el control de plagas de insectos en cultivos económicos. La Habana (Cuba). *Rev. FCA UNCuyo*. Tomo XXXVII. No. 2: 41-19.
- Molina-Ochoa J, Carpenter JE, Lezama-Gutiérrez R, Foster JE, González-Ramírez M, Ángel-Sahagún CA & Farías-Larios J (2004) Natural distribution of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Mexico. *Fla. Entomol.* 87: 461-472.
- Nicholls., C. y M. Altieri. 2002. Biodiversidad y diseño agroecológico: Un estudio de caso de manejo de plagas en viñedos. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* No. 65: 50-64.
- Roel R., A.; J. Vendramim D.; R. T. Shiraishi F. y N. Frighetto. 2000. Efeito do extrato acetato de etila de *trichilia pallida swartz* (meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Revista de Ciências Agronômicas, Instituto Agrônomo de Campinas Brasil*. 59 (1):53-58.
- Sarukhán., J.; P. Koleff.; J. Carabias.; J. Soberón.; R. Dirzo.; J. Llorente-Bousquets.; G. Halffter.; R. González.; I. March.; A. Mohar.; S. Anta.; J. de la Maza. 2009. Capital natural de México. Síntesis: Conocimiento actual, evaluación y perspectivas de sustentabilidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México (CONABIO). 104 p.



RESPUESTA DE ENEMIGOS NATURALES DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS A SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS Y ATRAYENTES

Edgardo Cortez-Mondaca¹, Mara P. Partida-Valenzuela², **J. Isabel López-Arroyo**³, Jesús Loera-Gallardo⁴. ¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Valle del Fuerte, Juan José Ríos, Sin., Méx. cortez.edgardo@inifap.gob.mx. ²Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agronomía, Culiacán, Sin., Méx., mapaval_1411@hotmail.com. ³INIFAP, Campo Experimental General Terán. General Terán, N.L., Méx. lopez.jose@inifap.gob.mx. ⁴INIFAP, Campo Experimental Río Bravo, Río Bravo, Tam., Méx. loera.jesus@inifap.gob.mx.

Resumen. El manejo de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), el vector del agente putativo del Huanglongbing en México, la enfermedad más destructiva de los cítricos a nivel mundial, generalmente es realizado mediante el uso de plaguicidas químicos, los cuales además de incrementar sustancialmente los costos de producción de los cítricos, producen frecuentemente efectos colaterales como aparición de nuevas plagas y resurgimiento de otras suprimidas anteriormente, debido a la eliminación de sus enemigos naturales. Asimismo, provocan contaminación ambiental y son un riesgo para la salud humana y animal en general. También, su uso indiscriminado puede generar el surgimiento de poblaciones del vector del Huanglongbing resistentes a insecticidas, así como en otras plagas que reciben el producto al ocurrir en el huerto. Es evidente la necesidad de alternativas de manejo de la plaga para conjuntar o integrar a este esquema, las cuales deben ser distintivamente sustentables y económicamente viables. Prácticas para mejorar la actividad o incrementar la presencia de agentes de control biológico en el huerto son requeridas de forma urgente. En el presente estudio se evaluaron atrayentes y suplementos alimenticios para favorecer la presencia de enemigos naturales en huertos de cítricos; se exploraron diversas dosis de salicilato de metilo y mezclas de levadura de cerveza, harina de soya, leche en polvo y azúcar. Los resultados encontrados mostraron que el producto formulado a base de levadura de cerveza, harina de soya y azúcar diluidos en 500 ml de agua para aspersión por árbol de naranjo, produjeron una atracción significativa de enemigos naturales del vector del Huanglongbing. La relación de insectos benéficos atraídos principalmente incluyó al más importante parasitoide de *D. citri*, la avispa *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), así como a especies de depredadores de la familia Chrysopidae (Neuroptera) y Coccinellidae (Coleoptera). Los productos evaluados carecen de riesgo para el agrosistema, fauna silvestre, animales domésticos, salud humana y entorno en general.

Palabras claves: *Tamarixia radiata*, depredadores, vector, Huanglongbing.



STATUS OF THE SUGARCANE APHID *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) IN MEXICO AND THE U.S. 2013-2014

R.T. Villanueva¹, S. Armstrong², D. Sekula-Ortiz¹, Gabriela Esparza-Díaz¹ and Victor Maya³. ¹Texas A&M AgriLife Extension, 2401 East Hwy 83, Weslaco, TX; ²USDA ARS, 1301 N Western Rd., Stillwater, OK; ³INIFAP, Km. 61 Carretera Matamoros-Reynosa C.P. 88900, Rio Bravo, Tamaulipas.

Abstract. *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) was found for first time in June 2013 near Beaumont, Texas. It caused severe damages in sorghum and close related species. This aphid was found by mid-October in the Lower Rio Grande Valley (Texas- USA) and by mid-November in Rio Bravo (Tamaulipas-Mexico). In 2013, *M. sacchari* outbreaks caused losses to growers and difficulties during harvest. These aphids secreted an abundance of honeydew that interrupted combine operations due to the clogging of the equipment in Texas and Tamaulipas. Initial insecticide trials in 2013 identified Transform[®] (sulfoxaflor) as an effective product against this aphid. In 2014, the same product was used in the Lower Rio Grande Valley in the south of Texas and most of the affected sorghum regions of the USA. This product controlled effectively this insect. In San Fernando and Rio Bravo few growers used Transform[®] but the vast majority used Admire-Pro[®] (imidacloprid) although; this insecticide is not registered for its use in sorghum. It appears that old chemistry insecticides such as Lorsban were not effective to control this insect; whereas pyrethroids (i.e. Asana) may cause aphid flare ups. Natural enemies such as coccinellids, syrphids, parasitoids and chrysopids have been observed feeding on *M. sacchari* but they are insufficient for the control of this invasive species.

Introduction

An aphid outbreak was detected in grain sorghum fields near Beaumont in June 2013 by Dr. Mo Way, and then extended to areas in the coastal Bend, Corpus Christi and the Lower Rio Grande Valley in Texas, as well as areas in Louisiana, Mississippi and Oklahoma (Bryan Co., OK reported by Dr. Armstrong) from June to October 2013. Aphids then were reported near Mercedes in the Lower Rio Grande Valley by mid-October 2013 by R.T. Villanueva and D. Sekula-Ortiz; and near the city of Rio Bravo, Tamaulipas Mexico in November 2013 by Victor Maya. Aphid infestations were observed first in the abaxial surface of lower leaves where they progressively advance to upper leaves, and in some situations the aphids may even colonize the grain sorghum head if they are not controlled (Fig. 1).

Identification: These aphids are buff to yellow in color, although color variations are expected. They have dark cornicles, and the distal parts of the legs are also dark. Specimens sent to Dr. David Voegtlin (University of Illinois) identified the aphids as the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari*. However, this aphid can be a new biotype, the aphid might have switched host plants, or it might be a new invasive species. In spite of the use of genetic advances still there is some controversy on the definitive identification of this aphid. For this manuscript we are going to use the taxonomic identification mentioned above. *Melanaphis sacchari* was first detected in Florida



in 1977 (Denmark 1988) and in Louisiana in 2001 (White *et al.* 2008). In sorghum screening trials, it acts much like *Melanaphis sacchari*.

Behavior: In the field *M. sacchari* colonizes the abaxial surface of sorghum leaves. Repeated field inspections had shown that *M. sacchari* is only found on grain sorghum when maize or sugarcane are in adjacent plots (Singh *et al.* 2004). In the laboratory, the aphids were observed feeding on small potted corn plants when an alternative host is not present. In contrast, feeding damages on sugarcane seedlings were not observed. *Melanaphis sacchari* was reported infesting bioenergy and forage sorghum, as well as Johnson grass and hay grazer in several regions of the USA. Preliminary observations have shown that if this pest is uncontrolled seeds are dehydrated and not filled causing yields to be completely reduced.



Figure 1. Images of *Melanaphis sacchari* and the damage it causes in sorghum (From left to right and top to bottom). Bright yellow coloration form in spring and summer with dark colorations of distal parts of legs, antenna and dark cornicles. Damages caused to foliage of different sorghum varieties. Its presence on the abaxial surfaces of leaves. Colonization of sorghum heads. Different colorations of the aphid in autumn and the winter (buff or greyish - yellowish). Nymphs and a recently emerged nymph.

Damage: Direct damage of this aphid causes a brownish-reddish, and yellow coloration on the feeding area, this damage can be observed on both sides of the leaves. The indirect damage is caused by abundant honeydew produced, turning the leaves sticky and shiny. These leaves later become coated with sooty mold fungus which may hamper harvesting operations clogging combines and making difficult the labor of operators. Although no yield data were obtained, Dr. R. Villanueva and D. Sekula reported the presence of sorghum heads with unfilled grains on an experimental field in Weslaco in 2013 (Villanueva *et al.* 2014). Also, several unsprayed fields in the Lower Rio Grande Valley were completely damaged and entire fields were lost in 2014. So



far, *M. sacchari* was only observed in sorghum or sorghum related plants such as johnson grass and millet (*Pennisetum glaucum*). Sugarcane and corn fields were not affected by *M. sacchari* however, under heavy infestations *M. sacchari* alates were found in fields contiguous to sorghum and laid nymphs on both crops (sugarcane and corn) but these insects did not prosper, feeding damages were not observed, and *M. sacchari* populations vanished.

Distribution: Currently, this aphid species is dispersed in most counties near the coast of Texas. *Melanaphis sacchari* was reported in the high plains of Texas in September 2014, a southern county of Kansas, many areas of Tennessee, Georgia and the Florida (the Panhandle and on Ocala, mid-Florida, personal communication with Dr. Gregg Nuessly). To this date (October 2014), 10 states in the U.S. (Texas, Louisiana, Oklahoma, Mississippi, Alabama, Arkansas, Florida, Tennessee, Georgia, and Kansas) and four in Mexico (Tamaulipas, Nuevo Leon, Coahuila and recently Sinaloa) have reported infestations of *M. sacchari* on sorghum (Fig. 2) (See map).

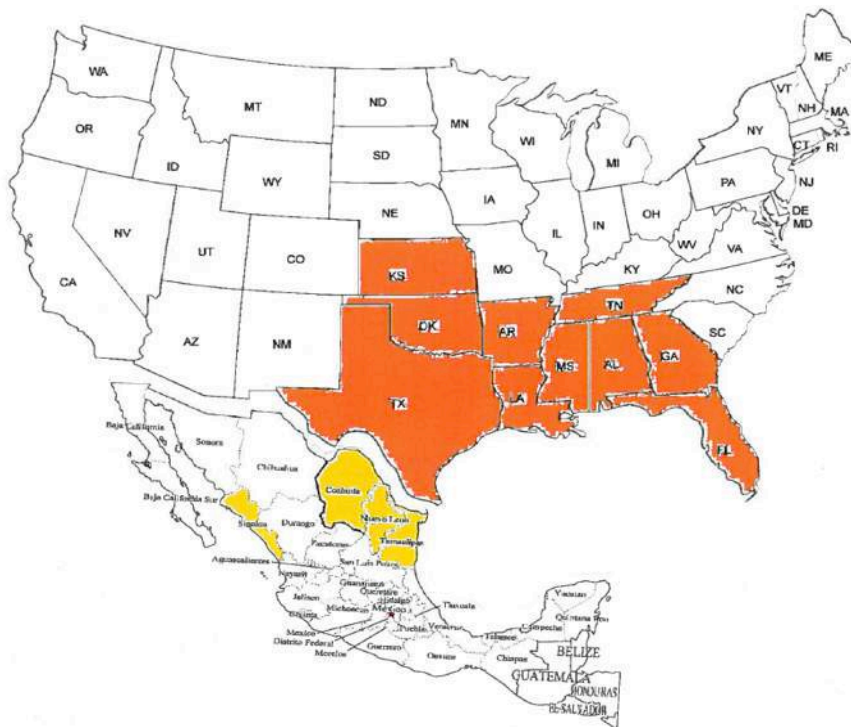


Figure 2. Map showing the ten states in the U.S. (Texas, Louisiana, Oklahoma, Mississippi, Alabama, Arkansas, Florida, Tennessee, Georgia, and Kansas) in orange, and four states in Mexico (Tamaulipas, Nuevo Leon, Coahuila, and Sinaloa) in yellow where *M. sacchari* was reported affecting sorghum to this date (October 2014).

Management and control: So far, it appears that there might be some promising sorghum cultivars tolerant to the damages of *M. sacchari*. There have been some reports by growers on commercial varieties that showed low levels of damage on leaves (as picture shown above in Fig. 1). Also, Dr. Scott Armstrong (USDA-Stillwater OK) has been evaluating sorghum cultivars; he found that the cultivar TX-2783 does provide seedling resistance. Currently, many sorghum lines



are being evaluated for resistance. In the field it was observed that there are abundant predacious insects such as lady beetles (*Cycloneda sanguinea*, *Chilocorus* spp., *Scymus* spp.), syrphid flies, chrysopids (green and brown lacewings), and hymenopteran parasitoids.

A replicated insecticide test was conducted on 29 October, 2013 in a sorghum field in Weslaco Center by Dr. Villanueva and D. Sekula. The trial was replicated 4 times using Dimethoate[®] 4EC at 1 pt/A, Admire Pro[®] at 8 oz/A, Lorsban Advance[®] at 1qt/A, Transform[®] at 0.75 oz/A, Asana[®] at 10 oz/A, and an untreated control. This was a seed increase field test where sorghum plants were treated previously with 2 applications of each Warhawk[®] (2 pts/A), Prevathon[®] (2 pts/A) and Di-Syston[®] 8 (1.5 pts/A). In this study, it was shown that Transform WG at 0.75 oz/A provided excellent control on *M. sacchari* 7-daa (Figure 3). In addition, Admire Pro was effective controlling *M. sacchari*. Data also suggest Lorsban was not effective and Asana might have “flared-up” populations of *M. sacchari*.

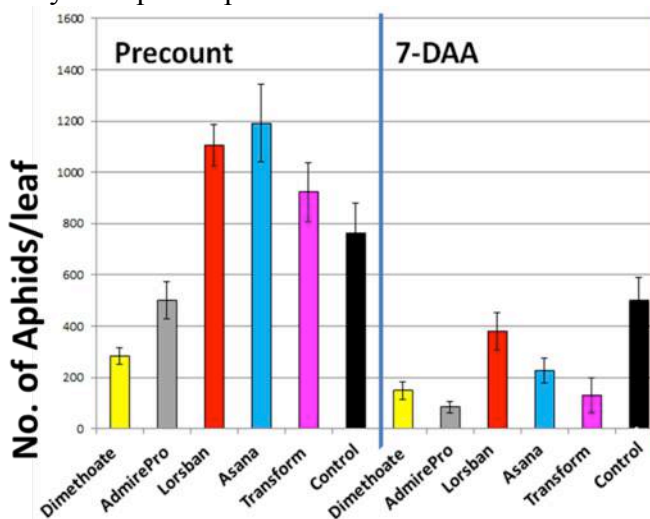


Figure 3. Responses of *Melanaphis sacchari* 7 days after an application (7-DAA) of five insecticides applied on 28 October 2013 in Weslaco TX

In 2014 Transform was used to control effectively this aphid in many regions of the U.S. at rates of 0.75 to 1.5 oz/A. This insecticide worked in most cases however, it is worrisome that many other neonicotinoids are being used as seed treatment such as imidacloprid (Confidor, Admire, Gaucho) and clothianidin (Poncho, Dantosu, Dantop) and this can accelerate the resistance of *M. sacchari* to neonicotinoid insecticides. Furthermore, as mentioned above imidacloprid is being used in Mexico as a cheaper substitute of sulfoxaflor.

References

- Singh, B.U.; Padmaja, P.G.; Seethara, N. (2004) Biology and management of the sugarcane Aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop protection*. 23: 739-755.
- Denmark, H.A., 1988. Sugarcane aphids in Florida. Florida Department of Agriculture & Consumer Services, Division of Plant Industry. *Entomol. Circular* 302, 2pp.
- Villanueva, R.T., D. Sekula, J.S. Armstrong, *et al.* 2014. Sugarcane Aphid: A New Pest of Sorghum. Texas A&M Agrilife Bookstore, ENTO-035 (<http://www.agrilifebookstore.org/product-p/ento-035.htm>):
- White, W. H., Reagan, T. E., Hall, D. G., 2001. *Melanaphis sacchari* (Homoptera: Aphididae), a sugarcane pest new to Louisiana. *Fla. Entomol.* 84, 435–436.



PARASITOIDES (HYMENOPTERA) DE GORGOJOS ASOCIADOS A VAINAS DEL MEZQUITE EN DURANGO, DGO, MEXICO.

Karina Lisbet Reséndez-Velázquez, María P. González-Castillo, Gabriel Alejandro-Iturbide, Isaías Chaires-Hernández. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango (CIIDIR-IPN, U-DGO). Sigma 119 Fracc. 20 de Noviembre II, Durango, Dgo. C.P. 34220. México. karina_lisbed@hotmail.com

Resumen. El estudio se realizó en un mezquital en el ejido Aquiles Serdán del municipio de Durango, se seleccionaron 22 árboles de mezquite (*Prosopis laevigata*), de los cuales se colectaron vainas durante los meses de junio a septiembre del 2013, las vainas se llevaron al laboratorio y fueron colocadas en cámaras de cría para observar la emergencia de bruquidos y/o parasitoides. El objetivo de la investigación fue conocer los parasitoides de los gorgojos asociados al mezquite en la localidad de Aquiles Serdán del municipio de Durango. Se encontraron tres especies de parasitoides, de las familia Braconidae (*Urosigalphus* sp), Eulophidae (*Horismenus missouriensis*) y una especie de Bethylidae. La mayor abundancia de parasitoides a nivel general fue en el mes de septiembre, donde *H. missouriensis* presentó la mayor abundancia (85%), *Urosigalphus* sp. obtuvo una abundancia del 33% y la especie no determinada de la familia Eulophidae fué la menos abundante. En el mes de julio *Urosigalphus* sp. fué más abundante (75%) que *H. missouriensis* (15%) y no se presentó Bethylidae en éste mes. Los parasitoides encontrados pueden ser utilizados para el control biológico de las poblaciones de gorgojos en la vaina de mezquite.

Palabras clave. Mezquite, Parasitoides, Gorgojos, Abundancia, Durango.

Introducción

El mezquite (*Prosopis laevigata* H & B ex Willd Johnston) es una especies importante en el medio ambiente como planta fijadora de nitrógeno, promueve el crecimiento de matorrales asociados a él y previene la erosión del suelo (Golubov *et al.* 2001); se emplea en la obtención de madera, leña, carbón, las vainas se utilizan en la elaboración de ciertos alimentos de consumo humano (Rodríguez y Maldonado, 1996), y desde hace años se ha visto como una alternativa económica para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas del país que es donde se desarrolla esta especie principalmente.

En el estado de Durango, se desarrolla en 14 municipios donde los productos obtenidos son leña, carbón y postes para cercas (Ortega y Meléndez, 1991; Trucios *et al.* 2011). Las poblaciones naturales de esta especie en el estado, tienden a decrecer por el cambio de uso de suelo, la sobreexplotación para la obtención de carbón (Carrillo, 2006), leña, daño por insectos, entre otros. Existen ciertos insectos que destruyen las vainas y semillas del mezquite como lepidópteros y coleópteros donde larvas de lepidópteros se alimentan desde afuera y los coleópteros (curculiónidos, bruquidos y cerambícidos) lo hacen desde adentro (Kingsolver *et al.* 1977). Los bruquidos *Algarobius prosopis* y *Acanthocelides* sp. (Coleoptera: Bruchidae), son las



principales especies que causan graves daños en las vainas llegando hasta un 48% de daño (Solorio, 2001). Sin embargo la información sobre himenópteros parasíticos asociados a la vaina del mezquite es escasa y para el estado solo se reporta el trabajo de Ramírez (2011). Por lo que el objetivo del presente trabajo es conocer los parasitoides de los gorgojos asociados al mezquite en la localidad de Aquiles Serdán del municipio de Durango ya que dentro de un programa de control biológico es prioritario determinar las especies de parasitoides.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en el ejido Aquiles Serdán, municipio de Durango, ubicado en la coordenadas 23° 55'32.54" latitud N y 104°34'10.55" longitud W a 1892 msnm. Se realizaron colectas de vaina de mezquite en 22 árboles durante los meses de Junio a Septiembre de 2013. Se guardaron en bolsas de papel estraza y se llevaron al laboratorio de entomología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango (CIIDIR-IPN, U-DGO CIIDIR-IPN, U. Durango). Se colocaron en cámaras de emergencia (botes de plástico transparente de un litro a los cuales se les colocó una base de algodón humedecido y tela organdí en la tapa para aireación), los cuales se mantuvieron a una temperatura de 35°C y 70% de humedad relativa. Cada ocho días se revisaban las vainas para ver la emergencia de bruquidos y/o parasitoides. Una vez emergidos los organismos se colectaron con un pincel y se colocaron en frascos con alcohol al 70%. Los ejemplares se separaron a nivel de familia y se enviaron al Colegio de Posgraduados y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-IPN, U-OAX) para su determinación específica. El análisis estadístico fue de manera descriptivo.

Resultados y Discusión

Se encontraron tres especies de parasitoides, de las familia Braconidae, Eulophidae y Bethylidae (figura 1). Solo fue posible determinar a *Horismenus missouriensis* Ashmead (Hymenoptera: Eulophidae) hasta especie, a *Urosigalphus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) a género y una especie aun no determinada de la familia Bethylidae. La mayor abundancia de parasitoides a nivel general fue en el mes de septiembre, donde *H. missouriensis* fue el que presentó la mayor abundancia (85%), *Urosigalphus* sp. obtuvo una abundancia del 33% y la especie no determinada de la familia Eulophidae fué la menos abundante. En el mes de julio *Urosigalphus* sp. fue más abundante (75%) que *H. missouriensis* (15%) y no se presentó Bethylidae (figura 2). Cabe hacer mención que las especies *Horismenus* sp. y *Urosigalphus* sp. se observaron en gorgojos del mezquite en Bermejillo, Durango, donde *Urosigalphus* sp. fue más abundante (Ramírez, 2011). Así mismo, se ha observado a *H. missouriensis* como parasitoide de la familia Bruchidae (Hansson *et al.* 2004) y de lepidópteros (Bautista-Martínez *et al.* 1998) y se ha encontrado parasitando diversas especies de *Acanthoscelides* en frijol en Morelos y Michoacán (Bonet, 2008). Mientras que Johnson (1983) menciona que *Urosigalphus bruchi* Crawford (Hymenoptera: Braconidae) destruye del 4% al 7% de las larvas de bruquidos de *Prosopis* spp. y



se ha observado a *Urosigalphus* sp. parasitando al nanche (*Malpighia mexicana*) en Oaxaca (Jarquin, 2007).



Figura 1. Parasitoides (Hymenoptera) obtenidos de las vainas del mezquite: 1.- *Urosigalphus* sp, 2.- *Horismenus missouriensis*, 3.- especie no determinada de la familia Bethyridae.

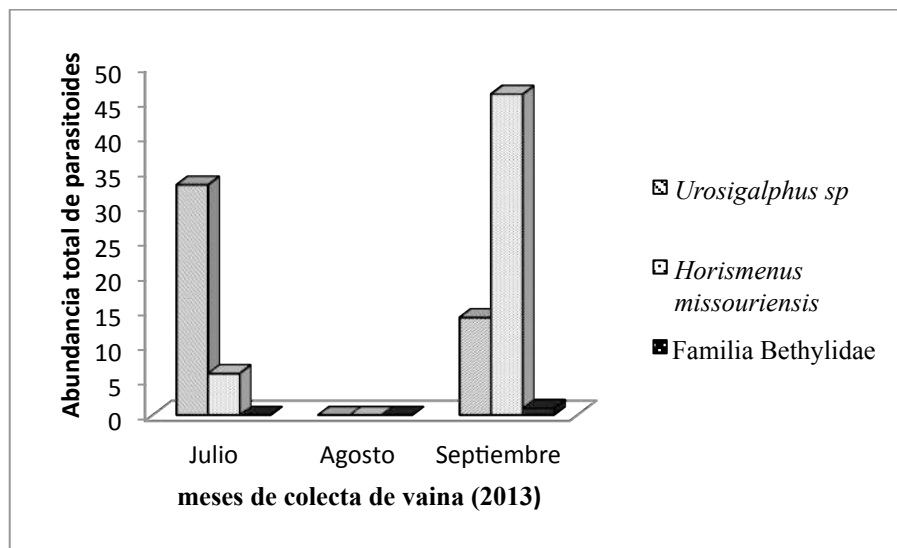


Figura 2. Abundancia de parasitoides obtenidos de vainas del mezquite en el ejido Aquiles Serdán, Municipio de Durango, Dgo.

Conclusiones

Se detectó parasitismo pero a niveles bajos de abundancia en comparación con los bruquídos *Algarobius prosopis* y *Mimosestes amicus* (Coleoptera: Bruchidae) que fueron los huéspedes de los parasitoides hallados en las vainas del mezquite.

En este estudio se encontraron de manera preliminar a *Urosigalphus* sp y *Horismenus missouriensis* que tienen antecedentes de estar relacionados con los gorgojos del mezquite, siendo necesario realizar estudios sobre la preferencia en cuanto a una especie en particular. Debido a que solo se encontró un ejemplar de la familia Bethyridae, aún no se pudo determinar la especie, por lo que queda pendiente obtener más ejemplares en campo.



Agradecimientos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de esta investigación. A la SIP-IPN por el apoyo económico para la realización de los proyectos clave: 20131840 y 20141072. Al Dr. Refugio Lomelí Flores y Dr. José Antonio Sánchez García por su apoyo otorgado en la determinación taxonómica de los parasitoides.

Literatura Citada

- Bautista-Martínez, N., J.L. Carrillo-Sanchez, H. Bravo-Mojica & S.D. Koch. 1998. Natural parasitism of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) at Cuitlahuac, Veracruz, Mexico. Fla. Entomol. 81:30-37.
- Bonet, A. 2008. New hosts, host plants, and distribution records for *Horismenus* (Hymenoptera: Eulophidae) species in a Bruchid beetle parasitoid guild attacking type *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* in central Mexico. Florida Entomologist 91(4): 698- 701.
- Carrillo, F. R. 2006. Efecto de la poda sobre el potencial productivo de mezquites nativos (*Prosopis glandulosa* Torr. var. *glandulosa*) en la Comarca Lagunera. Tesis Maestría. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo. Bermejillo, Durango. México.
- Golubov, J., Mandujano M., Eguiarte L.E. 2001. The paradox of mesquites (*Prosopis* spp): Invading species of biodiversity enhancers? Bol. Soc. Bot. Mex. 69:21-28.
- Hansson, C., Aebi A., Benrey B. 2004. *Horismenus* species (Hymenoptera: Eulophidae) in a bruchid beetle parasitoid guild, including the description of a new species. Zootaxa. 548:1-16.
- Jarquín, L. R. 2007. Parasitoides asociados a insectos en frutos de nanche (*Malpighia mexicana*) en Oaxaca, tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. México. 58pp.
- Johnson, C.D. 1983. Manual sobre insectos que infestan la semilla de *Prosopis*. <http://www.fao.org/docrep/006/q4165s/Q4165S00.htm>. Consultado el 8 de septiembre del 2014.
- Kingsolver, J.M. Y C.S. Ribeiro-C. 1997. Taxonomic notes on *Amblycerus* Thunberg, 1815 (Coleoptera:Bruchidae). Insecta Mundi 11(3-4)325-330.
- Ortega R., Sergio A. y Meléndez González, R. 1991. El Mezquite: su potencialidad en zonas áridas. In: Ponencia en Alternativas de manejo y Utilización de los recursos de las Zonas Aridas. Bermejillo, Dgo., México.
- Ramírez, G. A. Exploración de parasitoides de bruchidos (Coleoptera:Bruchidae) del mezquite en Bermejillo, Durango. Reunión Nacional de Investigación en Recursos Bióticos de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo-Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de Bermejillo, Durango. México. Pp. 47-50.
- Rodríguez, F.C. y Maldonado A. L. I. 1996. Overview of past, current and potential uses of mesquite in Mexico. En felker R., Moss J. (eds) *Prosopis: semiarid fuel wood and forage tree buiding consensus for the disenfranchised*. Center for semi-arid forest resources. Texas A & M. University, Washington, D.C. EEUU. Pp 6.41-6.52.
- Solorio, R.I. 2001. Evaluación de daños del gorgojo *Algarobius prosopis* LeConte en la vaina de mezquites *Prosopis* spp de la Comarca Lagunera. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo-URUZA. Bermejillo, Dgo. México.
- Trucios, C.R., Ríos S.J.C., Estrada A.J., Valenzuela N.L.M., Jacinto S.R. 2011. Distribución espacial y cambio de uso de suelo en poblaciones naturales de mezquite. Importancia de las poblaciones de mezquite en el norte-centro de México. CENID-RASPA. Durango. pp 21-47.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



SISTEMÁTICA



ESTUDIO PRELIMINAR DE COCCINÉLIDOS (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) DEPREDADORES EN EL CULTIVO DE YACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) EN NAYARIT, MÉXICO

Marcia Rodríguez-Palomera¹, Jhonathan Cambero-Campos^{1,2}, Agustín Robles-Bermudez^{1,2}, Carlos Carvajal-Cazola², Gregorio Luna-Esquivel^{1,2}, Orlando Estrada-Virgen¹, Ndahita de Dios-Ávila¹ y Ricardo Flores-Canales².

¹Posgrado en Ciencias Biológicas Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. ²Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. C.P. 63155. Tel: (311) 2111163. e-mail:

biorguez@hotmail.com

Resumen: En el presente trabajo se registraron los coccinélidos depredadores asociados al cultivo de yaca en dos municipios del estado de Nayarit. El estudio se realizó durante los meses de enero-agosto de 2014 en dos huertas, la primera localizada en el ejido El Llano municipio de San Blas y la segunda en la localidad de Las Varas municipio de Compostela. Se recolectaron un total de 168 especímenes, de los cuales 119 se capturaron por la técnica de derribo y 49 mediante la técnica de redeo. En la huerta El Llano se registró mayor riqueza de coccinélidos al encontrar un total de nueve especies, registrándose al mes de abril con el mayor número de especies. La especie mejor representada fue *Cycloneda sanguinea* con 47 individuos. En lo que respecta a la huerta de Las Varas, solamente se recolectaron tres especies, considerando a *Stethorus* sp. la mejor representada con 16 especímenes.

Palabras clave: Control biológico, diversidad, entomófagos, insectos benéficos.

Introducción

La familia Coccinellidae contiene cerca de 6000 especies agrupadas en seis subfamilias (Chilocorinae, Epilachninae, Sticholotidinae, Symninae, Coccidulinae y Coccinellinae). En México, el grupo es poco estudiado desde el punto de vista taxonómico, aunque se registran al menos 200 especies (Gordon, 1985). Los coccinélidos son un grupo de insectos de gran importancia en el aspecto ecológico y económico, debido a que larvas y adultos de la mayoría de las especies son depredadoras de insectos y ácaros fitófagos (Néstor *et al.* 2008). Entre sus presas destacan los áfidos y otros grupos de insectos de cuerpo blando como escamas, mosquitas blancas, trips y arañas rojas (Bravo *et al.* 2012). En México, el cultivo de yaca es de reciente introducción y cuenta con una superficie establecida de 962 ha y una producción anual de 14,118 ton. Por volumen y extensión, Nayarit es el principal productor al concentrar más del 80% de la producción nacional con 13,221 ton distribuidas en 855 ha (SIAP, 2013). Este cultivo a pesar de ser de reciente introducción, es considerado como una alternativa adecuada y comercialmente rentable que aporta rendimiento y beneficios económicos a los productores nayaritas (Ulloa *et al.* 2007). Sin embargo, las condiciones de clima tropical en el Estado, favorecen la proliferación de plagas de importancia económica que afectan la calidad y cantidad de producción, donde destacan varias especies de insectos tales como escamas, cochinillas y pulgones (Nova y Arrambide, 1994; Crane y Balardi, 2000). Uno de los métodos que más se utilizan para combatir



estos insectos, es el control químico, lo que provoca problemas como la resistencia y el impacto ambiental por su mal uso (Milán *et al.* 2008). Con base a lo anterior, la presente investigación busca contribuir al conocimiento de la fauna de Coccinellidae en el estado de Nayarit como estrategia de control biológico. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue determinar las especies de coccinélidos asociados con el cultivo de yaca y sus periodos de mayor incidencia poblacional.

Materiales y Métodos

Durante el periodo de enero-agosto de 2014, se realizaron muestreos quincenales de coccinélidos en dos huertas de yaca. La primera en el Ejido El Llano, municipio de San Blas, localizado 21° 24' 58.91'' N y 105° 11' 28.67'' O con una altitud de 40 msnm, y la segunda, en Las Varas, municipio de Compostela, ubicado a 21° 10' 13.41'' N y 105° 09' 36.08'' O con una elevación de 24 msnm. Para recolectar los coccinélidos depredadores, se utilizaron como técnicas de muestreo, el derribo y el redeo (Cambero *et al.* 2010), para capturar tanto a coccinélidos presentes en el dosel del árbol como en la maleza presente en las huertas. Para la técnica del derribo, se colocó una manta de 3x3 m debajo del dosel de cinco árboles tomados al azar en cada huerta, previamente asperjados con permetrina (84 cc permetrina 35 % en 15 litros de agua) y se dejó que el insecticida actuara por 30 minutos. En el redeo en cada huerta se dieron 100 golpes con una red entomológica de 30 cm de diámetro sobre la maleza, en cuatro áreas seleccionadas aleatoriamente. Los insectos recolectados se colocaron en frascos de plástico transparentes con alcohol etílico al 70 %. El material biológico obtenido fue trasladado al Laboratorio de Parasitología Agrícola de la Unidad Académica de Agricultura, de la Universidad Autónoma de Nayarit, para separar los coccinélidos del resto de otros insectos recolectados, para luego proceder a su montaje e identificación.

La determinación de las especies, se realizó con el apoyo de claves taxonómicas de Gordon (1985), Gordon y Vandenberg (1991) y Triplehorn y Johnson (2005) y se examinaron con la ayuda de un microscopio de disección. Las confirmaciones de las especies obtenidas fueron realizadas por los especialistas de cada grupo encontrado.

Resultados y discusión

Durante el periodo de muestreo, se capturaron en ambas huertas, mediante la técnica de derribo, un total de 119 coccinélidos. El mayor número de capturas se registró en El Llano con 89 individuos y el menor en Las Varas (30) (Cuadro 1 y 2); en ésta última huerta, no se detectó la presencia de coccinélidos durante los primeros tres meses de muestreo, debido a las aplicaciones periódicas de Cipermetrina y Azufre que se realizaron durante este periodo, lo cual eliminó la fauna benéfica. Estos resultados coinciden con lo reportado por Rodríguez *et al.* (2012), donde mencionan que en huertas de limón persa en el estado de Nayarit, se hicieron aplicaciones de productos químicos, lo que provocó que la presencia de coccinélidos disminuyera.



En la huerta El Llano, se registró un total de nueve especies de coccinélidos, fue en el mes de abril donde se presentó el mayor número de especies (Cuadro 1). La especie mejor representada fue *Cycloneda sanguinea* con 47 individuos. De acuerdo con Funichello *et al.* (2012), *C. sanguinea* es uno de los agentes de control más eficientes para el control biológico de plagas, debido a la gran capacidad de búsqueda de sus presas en todos los ambientes, especialmente de insectos fitófagos estacionarios, como los pulgones.

Cuadro 1. Coccinélidos depredadores recolectados en El Llano, municipio de San Blas, Nayarit, México, 2014.

Especies	Número de especímenes								Total
	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	
<i>Arawana</i> sp.	-	-	-	3	-	-	-	-	3
<i>Brachiacantha decora</i>	-	-	3	4	-	-	-	-	7
<i>Chilocorus cacti</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Coleomegilla maculata</i>	-	-	-	9	-	-	-	-	9
<i>Cycloneda sanguinea</i>	4	7	8	17	10	-	-	1	47
<i>Harmonia axyridis</i>	-	-	-	2	-	-	-	-	2
<i>Hippodamia convergens</i>	-	-	-	8	-	-	-	-	8
<i>Olla v-nigrum</i>	-	-	-	2	-	-	-	-	2
<i>Pentilia</i> sp.	-	2	1	7	-	-	-	-	10
Total	4	9	12	53	10	-	-	1	89

En relación con las otras especies de coccinélidos que aparecen de forma discontinua, posiblemente se deba a que están estrechamente relacionadas con la aparición de sus presas y por lo tanto las encontramos sólo cuando éstas son abundantes.

En la huerta de Las Varas, solamente se capturaron tres especies de coccinélidos, fue en el mes de abril donde se presentó el mayor número de especies (Cuadro 2). La especie *Stethorus* sp. fue la mejor representada con 16 individuos, seguida por *Cryptolaemus montrouzieri* y *Cycloneda sanguinea* con siete individuos respectivamente.

Cuadro 2. Coccinélidos depredadores recolectados en Las Varas, municipio de Compostela, Nayarit, México, 2014.

Especies	Número de especímenes								Total
	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	
<i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	-	-	1	5	-	1	-	-	7
<i>Cycloneda sanguinea</i>	-	-	-	4	3	-	-	-	7
<i>Stethorus</i> sp.	-	-	1	13	-	-	2	-	16
Total	-	-	2	22	3	1	2	-	30

En lo que respecta a la técnica de redeo, durante los primeros tres meses de muestreo, no se capturaron coccinélidos, esto debido al manejo y control de malezas que se le dio a las huertas por parte de los productores en ambas localidades. En la huerta El Llano, se recolectó un total de 38 coccinélidos, fue *C. maculata* la mejor representada con 20 individuos, seguida por *C. sanguinea* (16). En la huera de Las Varas solamente se registró la presencia de *C. sanguinea* con 11 individuos.



Agradecimientos. Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Nayarit y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para la investigación, así como también la colaboración de los propietarios de las huertas de yaca consideradas en este estudio.

Literatura citada

- Bravo, E. M., G. Barrera C., M.E. Mendoza., T. Sáenz R., F. Bahena J. y R. Sánchez M (eds). 2012. Contribuciones para el desarrollo sostenible de la cuenca del Lago de Cuitzeo Michoacán. INIFAP-Campo experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán. UNAM - Centro de Investigaciones en Geografía Ambiental .Morelia, Michoacán, México. 141-150 pp.
- Camero, C. J., R. Johansen N., A. Retana S., O. García M., M. Cantú S. y C. Carvajal C. 2010. Thrips (Thysanoptera) del aguacate (*Persea americana*) en Nayarit, México. Revista Colombiana de Entomología, 36(1): 47-51.
- Crane, J.H. y Balerdi, C.F. 2000. La Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en Florida. Consultada el 28 de Agosto de 2014. Disponible en: <http://hammock.ifas.ufl.edu>.
- Funichello, M., Costa, L.L., Aguirre, G. O. y Busoli, A.C. 2012. Aspectos biológicos de *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) alimentadas con pulgones criados en algodón transgénico Bollgard I. Revista Colombiana de Entomología, 38(1): 156-161.
- Gordon, R. D. 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America North of Mexico. Journal of the New York Entomological Society, 93 (1): 1-912.
- Gordon, R.D. y Vandenberg, N. 1991. Field guide to recently introduced species of Coccinellidae (Coleoptera) in North America, with revised key to North American genera of Coccinellini. Proceedings of the Entomological Society of Washington, 93(4): 845-867
- Milán, V.O., N. Cueto Z., N. Hernández P., T. Ramos T., M. Pineda D., R. Granda S., M. Peñas R., J. Díaz P., S. Caballero F., I. Esson C., T. Corona S., L. Rodríguez R., J. de Armas G., J. Montalvo G. y E. Delís H. 2008. Prospección de los coccinélidos benéficos asociados a plagas y cultivos en Cuba. Fitosanidad, 12(2): 71-129.
- Néstor, A.J., A. Trejo L., A. Marín J., G. Peña C. y V. Hernández V. 2008. Caracterización morfológica de coccinélidos (Coccinellidae: Coccinellinae y Scymninae) afidófagos del estado de Morelos, México. Folia Entomol. Mex., 47(3): 89-112.
- Nova, A.J. y Arrambide, L. E. 1994. El cultivo de Jaca *Artocarpus heterophyllus* en el Ejido El Llano, municipio de San Blas, Nayarit. Tesis de Licenciatura. Unidad Académica de Agricultura. Universidad Autónoma de Nayarit. 46 p.
- Rodríguez, P.M., Camero, C. J., Robles, B. A., Carvajal, C.C. y Estrada, V. O. 2012. Enemigos naturales asociados a *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en Nayarit, México. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), (28)3: 625-629.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2013. En línea. Consultada 28 de Agosto de 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Triplehorn, C. A. y Johnson, N. F. 2005. Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects. 7 th Edition. Ed. Thonson Brookz/Cole. USA. 365-468 pp.
- Ulloa, J.A., Rosas, U.P., Flores, J.R., Ulloa, R. B. y Escalona, H. 2007. Comportamiento del color en bulbos del fruto de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*) auto estabilizados en frascos de vidrio por la tecnología de obstáculos. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 5(5): 372-378.



FILOGEOGRAFÍA DE *Triatoma pallidipennis* (HEMÍPTERA: REDUVIIDAE) EN EL ESTADO DE MORELOS.

Mayares-Salvador Dayana, Arellano-Arenas Elizabeth. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad #1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México. C. P 62209. dayanamayares@gmail.com

Resumen. Información sobre la genética y la historia evolutiva de vectores es útil para desarrollar estrategias para su control. Aquí se describen los patrones filogeográficos de chinches de la especie *Triatoma pallidipennis* en el Estado de Morelos, uno de los principales vectores de la Enfermedad de Chagas en México. Se analizaron secuencias de ADN del gen mitocondrial ND4 en 57 individuos de 13 localidades. Se realizó un AMOVA, considerando una regionalización de acuerdo con el clima, que muestra que la mayor variabilidad genética está dentro y entre las poblaciones (39.17% y 40.69%; $p < 0.05$), mientras que la variación comparando regiones fue la menor (20.15%). Se identificaron 29 haplotipos (11 compartidos y 18 únicos), una diversidad haplotípica de 0.950 y nucleotídica de 0.01867, estos valores son similares a los reportados para otras especies. Las relaciones filogeográficas, muestran una organización no congruente con el origen geográfico de las poblaciones debido probablemente a la baja divergencia entre ellas. Las distancias genéticas indican mayor divergencia entre individuos de la misma población, que entre localidades. Estos resultados sugieren que existe considerable flujo genético entre las poblaciones, el cual si es reciente podría deberse al movimiento de las personas en el estado. Esta información puede ser útil en el establecimiento de programas de control vectorial y en la prevención de la Enfermedad de Chagas en Morelos.

Palabras clave: *Triatoma pallidipennis*, Enfermedad de Chagas, flujo genético, control vectorial.



FAMILIAS DE CHALCIDOIDEA Y ESPECIES DE TRICHOGRAMMATIDAE (HYMENOPTERA) COLECTADAS EN ALFALFA *Medicago sativa* L.

Fabián García-González¹, Manuel Ramírez-Delgado² y Laura Mozqueda-Lascares¹. ¹ Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Domicilio Conocido Bermejillo, Durango, México. C.P. 35230 fabiangglez@chapingo.urza.edu.mx; ² Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Campo Experimental La Laguna

Resumen. La alfalfa como cualquier especie vegetal, es atacada por insectos plaga los cuales ocasionan serios daños cuando no se controlan eficientemente. En muchas regiones donde se desarrolla esta especie forrajera como en la Comarca Lagunera, el control químico de plagas es poco usado ya que las plagas insectiles son autorreguladas por la fauna benéfica insectil, sin embargo el conocimiento de las especies presentes de este grupo es poco conocida, por el cual se realizó el presente estudio teniendo como objetivo realizar la determinación taxonómica de las especies de Trichogrammatidae colectadas en una parcela de alfalfa de la Unidad de Producción 18 de julio de la Universidad Autónoma Chapingo ubicada en Bermejillo, Durango. El método de colecta fue el de red de golpeo, realizando 100 redazos cada semana durante el periodo de marzo de 2011 a febrero de 2012. Para la determinación de especies se realizaron preparaciones permanentes utilizando bálsamo de Canadá como medio de montaje y claves taxonómicas. Las especies encontradas fueron *Aphelinoidea* nr. *roja* Triapitsyn 2005 (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Oligosita sanguina* Girault, 1911; *Paracentrobia punctata* Howard, 1897; *Ufens* nr. *simplipenis* Owen, 2005 y *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. Con excepción de *Trichogramma*, las especies determinadas están relacionadas a insectos plaga de hábitos chupadores.

Palabras clave: Trichogrammatidae, especies, alfalfa, Chapingo, Durango.

Introducción

La Comarca Lagunera está delimitada por varios municipios de los estados de Coahuila y Durango, cuenta con una población aproximada de 400,000 bovinos (Salazar-Sosa *et al.*, 2007). La industria lechera de esta región genera 10,000 empleos directos y mil seiscientos millones de litros de leche por año (Anónimo, 2008). Esta población de ganado demanda para su alimentación alrededor de 3 millones de toneladas de forraje verde anualmente, siendo la alfalfa la principal fuente (Anónimo, 2011).

Las condiciones bajo las cuales se cultiva la alfalfa favorecen una amplia diversidad y densidad de insectos plaga, existen más de 100 especies que causan algún tipo de daño, sin embargo no todas coinciden en un lugar específico ni ocurren al mismo tiempo. Entre las plagas consideradas como importantes en los alfalfares de la Región Lagunera, se encuentran el pulgón verde, *Acyrtosiphon pisum* Harris, (Homoptera: Aphididae); pulgón manchado, *Therioaphis maculata* Buckton, (Homoptera: Aphididae); gusano soldado, *Spodoptera exigua* Hübner, (Lepidoptera: Noctuidae); chicharrita de la alfalfa o chicharrita verde, *Empoasca*



fabae Harris, (Homoptera: Cicadellidae) y el periquito tricornudo, *Spissistilus festinus* Say, (Homoptera: Membracidae). Estos organismos son capaces de generar daños graves que demeritan la calidad y cantidad de la producción de alfalfa (Summers *et al.*, 1985).

Además de los insectos plaga, existe el grupo de los insectos benéficos, los cuales actúan como depredadores y parasitoides del primer grupo, regulando sus poblaciones de forma natural, sin embargo el conocimiento de su diversidad y abundancia en el cultivo de la alfalfa no está clarificado, existiendo pocos estudios como el de Ortiz (2010) quien determinó la presencia de *Aphidius ervi* Haliday, (Hymenoptera: Braconidae), *Trioxys* sp. y los hiperparasitoides *Alloxysta* sp. y *Pachyneuron* sp. en los pulgones *A. pisum* y *Therioaphis trifolii* Monell, (Homoptera: Aphididae) en un estudio realizado en el estado de Michoacán. Así mismo, Caballero y colaboradores (1990) encontraron los braconidos *Meteorus pulchricornis* Wesmael, (Hymenoptera: Braconidae) y *Homolobus truncatoides* van Achterberg, (Hymenoptera: Braconidae), el ichneumonido *Hyposoter didymator* Thunberg, (Hymenoptera: Ichneumonidae) y el taquínido *Gonia bimaculata* Wiedeman, (Diptera: Tachinidae) asociados a *S. exigua* y *S. littoralis*.

Los tricogramátidos atacan una gran variedad de huevos de insectos, principalmente de los órdenes: Lepidoptera, Hemiptera, Homoptera y Coleoptera. Algunos géneros tienen un rango de hospederos muy restringido, mientras otros son notoriamente polífagos. Por ejemplo *Megaphragma* ha sido asociada solamente a huevos de Thysanoptera, mientras que *Poropoea* parasita huevos de Attelabidae (Coleoptera). En contraste, especies de *Trichogramma* no tienen una notoria especificidad por sus huéspedes pues se desarrollan en especies de varias familias de Lepidoptera, y otros órdenes. Algunos géneros como *Hydrophylita* y *Prestwichia* atacan huevos de insectos acuáticos pertenecientes a Odonata, y de las familias Notonectidae (Hemiptera) y Dytiscidae (Coleoptera) (Pinto, 1995). Recientes revisiones indican que a nivel mundial, la familia Trichogrammatidae tiene 811 especies incluidos en 83 géneros, tres de estos descritos recientemente con 11 especies: *Adryas* con 8 especies, *Kyuwia* con 2 especies y *Pachamama* con una (Owen y George, 2003; Owen y Pinto, 2004; Pinto y Owen, 2004; Pinto y George, 2004).

Objetivo

Realizar la determinación taxonómica de Chalcidoidea a nivel de familia; y de las especies de parasitoides de Trichogrammatidae asociados al complejo de plagas de la alfalfa.

Materiales y métodos

Lugar de colecta:

En una plantación de una hectárea de alfalfa perteneciente a la Unidad de Producción 18 de Julio la cual se localiza en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH), en Bermejillo, Durango. En las coordenadas geográficas 23°54' latitud Norte y 103°37' de longitud Oeste, a una altitud de



1130 m.s.n.m. El clima de la zona es muy seco con lluvias en verano, con una precipitación pluvial media anual de 239 mm, un porcentaje de lluvias invernal menor al 5%, con una oscilación térmica que varía de 7° a 17° C (García, 1973).

Muestreo

El muestreo se llevó a cabo una vez por semana del 3 de marzo del 2011 hasta el 15 de febrero del 2012, en una plantación de alfalfa de un año de edad y en la cual no se realizaron aplicaciones de plaguicidas. Las colectas se realizaron por el método de red entomológica de golpeo, modificada en la parte final con una bolsa que puede ser retirada una vez que se colectan los especímenes y que permite que la manipulación de éstos sea más sencilla. Por cada fecha de colecta, se dieron 100 redazos sobre el cultivo, caminando en zigzag a todo lo largo y ancho de la parcela. Al finalizar el muestreo se retiraba la bolsa en donde se encontraban los insectos colectados, los cuales se pasaron a una cámara letal con acetato de etilo para matarlos y luego se colocaron en un recipiente con alcohol al 70% para su posterior limpieza y revisión.

Fase de laboratorio

Con el apoyo de un estereoscopio, pinzas y diversas herramientas entomológicas, se realizó la separación de los especímenes comenzando por su identificación a nivel de familia, género y especie, mediante la técnica de taxonomía tradicional basada en las características morfológicas de los especímenes y apoyados en claves taxonómicas para cada grupo. Para la determinación de familias y géneros de himenópteros parasitoides se utilizaron las descripciones y claves de Gibson *et al.* (1997), González (2006), Goulet y Huber (1993), Wharton *et al.* (1998) y Gauld y Bolton (1993), Doult y Viggiani (1968), Pinto (1998) y Walker *et al.* (2005).

Los himenópteros parasitoides colectados se identificaron a nivel de familia, de las cuales se registraron el número de ejemplares por fecha de colecta y de Trichogrammatidae, se realizó la identificación a nivel de género y especie.

Para la identificación de los ejemplares de Trichogrammatidae se realizaron preparaciones permanentes en base a la metodología propuesta por García (2006) que consiste en que a partir de la preservación temporal en alcohol al 70%, las avispitas se clarificaron en KOH al 10% durante tres horas, se enjuagaron en agua bidestilada y posteriormente se colocaron cuatro avispitas en forma ventral sobre la mitad de un portaobjetos con un trocito de papel Kleenex® saturado con alcohol al 10% con Tritón X-100®, colocándose un cubreobjetos de 11.0 x 11.0 mm, posteriormente se deshidrataron con soluciones de alcohol al 20, 40, 60, 80, 95 y 99.9%. Del alcohol al 99.9% los especímenes se pasaron a una pequeña Siracusa con esencia de aceite de clavo, dejándolos toda una noche, al día siguiente se realizó un pre-montaje de los especímenes, colocándolos adecuadamente en un portaobjetos sobre una pequeña gota de bálsamo de Canadá diluido (seis partes de bálsamo de Canadá más cuatro



partes de esencia de aceite de clavo). Las preparaciones se transfirieron a una estufa a 40°C para secarlas durante la noche. Al día siguiente, a cada preparación se le colocó otra pequeña gota de bálsamo de Canadá y un cubreobjetos de 5.5 x 5.5 mm y se transfirieron a una estufa a 40°C para secarlas durante cinco días y posteriormente realizar la determinación de especies por morfología. Posteriormente se procedió a realizar la identificación de los especímenes primero a nivel de género y posteriormente a nivel de especies.

Resultados y discusión

Se colectaron 6,991 ejemplares, pertenecientes a las superfamilias Chalcidoidea (4,783), Ichneumonoidea (1,621), Platygastroidea (493), Ceraphronoidea (76), Chrysoidea (17) y Proctotrupeoidea (1).

De los ejemplares colectados de Chalcidoidea, se identificaron 2,279, 1,035, 814, 221, 136, 115, 105, 41, 27, 8 y 2 individuos de las familias Eulophidae, Pteromalidae, Eurytomidae, Mymaridae, Trichogrammatidae, Eucoilidae, Torymidae, Encyrtidae, Aphelinidae, Chalcididae y Signiphoridae, respectivamente. De la superfamilia Ichneumonoidea se encontraron 1,494 ejemplares de Braconidae y 127 de Ichneumonidae. De Platygastroidea se colectaron 468 ejemplares de Scelionidae y 25 de Platygastridae.

Géneros y especies de Trichogrammatidae identificados:

El total de los 136 ejemplares colectados, se separaron por fecha y por género y de estos, se realizó la determinación de especies, encontrado las siguientes: *Aphelinoidea* nr. *roja* Triapitsyn, Walker & Bayoun, (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Fig. 1), *Oligosita sanguina* Girault, (Fig. 2), *Paracentrobia punctata* Howard, (Fig. 3), *Trichogramma pretiosum* Riley, (Fig. 4) y *Ufens* nr. *simplipenis* Owen, (Fig. 5a y 5b).



Figura 1: Antena de *Aphelinoidea* nr. *roja*



Figura 2: Antena de *Oligosita sanguina*



Figura 3: Antena de *Paracentrobia punctata*

Figura 4: Antena de *Trichogramma pretiosum*.



Figura 5a: Antena de *Ufens* nr. *simplipennis*

Figura 5b: Genitalia de *Ufens*
nr. *simplipennis*

De la distribución del total de ejemplares de esta familia durante el periodo de colecta, se infiere que la cantidad máxima de tricogramátidos colectados fue de 32 el 14 de abril; en las fechas del 9 de marzo, 23 de marzo, 30 de marzo, 4 de abril y 20 de julio se colectaron al menos 11 ejemplares en cada fecha de muestreo?, en contraste en los muestreos del 4, 11 y 19 de mayo, 2 y 29 de junio, y el 17 de agosto no se colectaron especímenes de este grupo. Esta información indica que el periodo en que se presentó mayor la cantidad de tricogramátidos fue del 9 de marzo al 27 de abril.

De las anteriores especies se presenta información relativa a sus hospederos y su distribución:

Aphelinoidea Girault: incluye 36 especies de las cuales nueve han sido descritas para el Nuevo Mundo. El género está dividido en tres subgéneros: *Lathromeroides* [*neomexicana* (Girault) (Norte America) y *xiphias* (De Santis) (Sur América)]; *Encyrtogramma* [*habros* (De Santis) y *semiflava* De Santis, ambos de Sur América], y el género subnominado [*oblita* De Santis (Sur América), *plutella* Girault, *roja* Triapitsyn, Walker and Bayoun, *semifuscipennis* y *zarehi* Triapitsyn, Walker y Bayoun (las últimas cuatro descritas para Norte America)]. Además dos especies del subgénero nominado de la región Paleártica [*anatolica* Nowicki, *turanica* Triapitzin]



han sido introducidas a Norte América para el control biológico. Sobre su distribución solo se conoce en California, USA, sin embargo como género se tiene reporte en México en Baja California Norte, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Colima, Guerrero, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz (Pinto, 2006). Como hospederos se reportan Cidadelidos (*Circulifer tenellus* Baker) y Fulgoridae (Trjapitzin, 1995, Walker *et al.* 2005 y Timberlake 1924).

Oligosita Walker: En el 2004, Pinto y Viggiani transfirieron a *Pseudoligosita* cuarenta y seis especies de las 144 que anteriormente estuvieron asignadas a *Oligosita*, y de las 98 especies que permanecieron en *Oligosita* solamente siete son del Nuevo Mundo: *O. americana* Girault, *O. clarimaculosa* Girault), *O. sanguinea* Girault y *O. subfasciatipennis* Girault para Norte América; *O. desantisi* Viggiani para Sur América; y *O. giraulti* Crawford y *O. magnifica* Dozier para las Indias del Oeste, no obstante se estima que existe un gran número de especies si describir. Para 2006 este género estaba registrado en México en los estados de Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Colima, Distrito Federal, Guerrero, Jalisco, Morelos, Nuevo León, Quintana Roo, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán. Se ha registrado como parasitoide de chicharritas (Hemiptera: Cicadellidae) por varios autores (Pinto, 2006).

Paracentrobia Howard: El número de especies descritas se ha incrementado de 29 en 1968 (Doutt y Viggiani, 1968) a 43 en 2006 (Pinto, 2006), de estas últimas ocho se presentan en el Nuevo Mundo (George, 2003). Para 2006 este género no estaba reportado para el Nuevo Mundo, incluyendo México, sin embargo en el 2008, Virla y colaboradores (2008) reportan a *Paracentrobia* nr *subflaba* parasitando a *Dalbulus maidis* en Jalisco. En el 2010, Ávila y colaboradores reportan 20 géneros de Trichogrammatidae, de los cuales *Paracentrobia* se encontró en los estados de Sinaloa, Coahuila, Guerrero, Chihuahua, Durango, Sonora, Nuevo León y Jalisco. En relación a las plagas hospederas, este género está asociado también a insectos incluidos en Auchenorrhyncha.

Trichogramma Riley: este género incluye 210 especies de las cuales 68 se encuentran en Norte América. Los miembros de esta familia son parasitoides de huevecillos de plagas principalmente del orden Lepidoptera. Este género está dividido en tres subgéneros: *Trichogramma* con 173 especies; *Vanlisus* con cuatro especies y *Trichogrammanza* con tres especies. El subgénero *Trichogramma* es cosmopolita, *Trichogrammanza* se conoce sólo en Australia y Nueva Zelanda, y *Vanlisus* se encuentra en América Central, Baja California Sur (México) y Australia. García-González (2006) determinó las especies nativas de *Trichogramma* colectadas en seis estados de México en algodónero, caña de azúcar, chile serrano, col, girasol, maíz, naranjo, nogal, soya y tomate. A *T. pretiosum* Riley la encontró en muestras colectadas en algodónero, chile serrano, col, fresno, girasol, maíz, naranjo, nogal, soya y tomate, excepto en caña de azúcar; *T. fuentesi* Torre en muestras de maíz y nogal; en muestras de maíz a *T. exiguum* Pinto y Platner, *T. deion* Pinto y Oatman y *T. atopovirilia* Oatman y Platner en una muestra de colectada en caña de azúcar.



Ufens Girault: Hasta 2002 se habían reconocido 27 especies y para 2011 se incrementó a 43. Actualmente se reconocen tres especies para el Nuevo Mundo; *U. niger* Ashmead, *U. ceratus* Owen y *U. principalis* Owen (Pinto, 2006 y Owen, 2011). Los principales hospederos son huevos de hemípteros (Pinto 1997). *U. simplipenis* ha sido reproducido en *Circulifer* (syn. *Eutettix*) *tenellus* (Baker), *Aceratagallia abrupta* Oman, y *Homalodisca* sp. (Hemiptera: Cicadellidae) de varias Localidades de Baja California y en los Estados Unidos. También se asocia a plantas hospederas como *Atriplex lentiformis* (Torr.) S.Watson. (Chenopodiaceae), vid (Vitaceae), *Chenopodium* sp. (Chenopodiaceae), *Lycium* sp. (Solanaceae), *Monolepis* sp. (Chenopodiaceae), *Plantago erecta* E. Morris (Plantaginaceae), *Pluchea sericea* (Nutt.) Coville (Asteraceae), *Salsola* sp. (Chenopodiaceae), *Sida hederacea* (Dougl.) Torr. (Malvaceae) y *Tamarix* sp. (Tamaricaceae). En México esta especie ya ha sido reportada en Baja California Sur, Distrito Federal, Nuevo León y Zacatecas (Owen, 2011).

Haciendo referencia a la información anterior y las especies encontradas en las muestras de alfalfa antes referidas, se infiere que a excepción de *Trichogramma*, las especies determinadas están relacionadas a insectos plaga de hábitos chupadores como homópteros. *A. nr roja*, *O. sanguinea* y *P. punctata* habían sido reportadas por el primer autor del presente estudio en 2013 (García-González, 2013) de muestras colectadas en la plantación de vid del INIFAP Matamoros, Coahuila con platos amarillos con agua jabonosa, sin embargo, en alfalfa son nuevos registros para México. De *T. pretiosum* ya se tiene registro en alfalfa parasitando a la mariposita amarilla (*Colias* sp), aunque de acuerdo la información existente no se reporta el lugar de colecta, por lo que se puede concluir que esta especie es nuevo reporte para el estado de Durango y en alfalfa en México. *U. nr.simplipenis* es nuevo registro para el estado de Durango y para esta especie forrajera.

Finalmente se concluye que la alfalfa presenta una amplia diversidad y abundancia de himenópteros parasitoides, lo que permite que en un futuro este cultivo pueda ser utilizado como un reservorio natural de insectos benéficos nativos.

Literatura citada

- Anónimo. 2008. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). SIACON 1980-2006. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), México. [en línea] <http://siap.gob.mx>. 2007. Consultado 20 Jun, 2008.
- Anónimo. 2011. Resumen económico, Comarca Lagunera, 2010. El Siglo de Torreón. Suplemento Especial. Torreón, Coah. Sábado 1 de enero del 2011. p. 24.
- Caballero, P., E Vargas-Osuna, H. K. Aldebis y C. Santiago-Alvarez. 1990. Parásitos asociados a poblaciones naturales de *Spodoptera littoralis* Boisduval y *S. exigua* Hb. (Lepidoptera:Noctuidae). Bol. San. Veg. Plagas, 16: 91-96
- Doutt, R. L. and G. Viggiani. 1968. The classification of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). Proceedings of the California Academy of Sciences. Vol XXXV, No. 20. 477-586
- García, E. (1973). Apuntes de Climatología. UNAM. 155 pp.
- García, G. F. 2006. Clarificación por morfometría de especies y calidad de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) de centros reproductores y áreas agrícolas del norte de México. Tesis de doctor en ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. 90 p.



- García-Gonzalez, F., Rodríguez-Alvarado, M., Cruz-Peña C.E. y M. Ramírez-Delgado. 2013. Especies de Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) asociados a plagas de la vid (*Vitis vinifera* L.). In: Vásquez L. A. y Pérez P.R. (Eds.) Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico 7 y 8 noviembre. Oaxaca, Oax. p. 566-569.
- Gauld I. and B. Bolton (Eds). 1993 The Hymenoptera. Oxford University Press. ISBN 0-19-858521-17. New York 332 p.
- George, J. N. 2003. A review of the Paracentrobiini (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and a revision of the United States species of *Ittys* and *Ittysella*. M.S. thesis, University of California, Riverside. 124 pp.
- Gibson, G. A. P., Huber, J. T., and Woolley, J. B. (editors). 1997. Annotated Keys to the Genra of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 794 p.
- González H. A. 2006. Principales familias de Hymenoptera-parasitica. In: Memorias del Primer taller sobre determinación de especies de *Trichogramma* mediante morfología y técnicas moleculares. Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N.L. s/p
- Goulet H. and J.T. Huber (Eds). 1993 Hymenoptera of the world: An identification guide to families. Research Branch Agriculture Canada Publication 1894/E. 666 p
- Ortiz, P. C. 2010. Parasitoides de áfidos de la alfalfa en Tejaro, Michoacán, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. Facultad de biología. 70 p.
- Owen A, George J. 2003. Molecular phylogeny of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). Student Competition Ten-Minute Papers, A2, Systematics, Morphology, and Evolution. The 2003 ESA Annual Meeting and Exhibition. Cincinnati, OH. 27 October 2003. Disponible en el sitio de red: http://esa.confex.com/esa/2003/techprogram/meeting_2003.htm.
- Owen, K. A. y D. J. Pinto. 2004. *Pachamama*, an uncommon and distinctive new genus of Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) from tropical America. Zootaxa 664: 1–8
- Pinto, J. D and G. Jeremiah. 2004. *Kyuwia*, a new genus of Trichogrammatidae (Hymenoptera) from Africa. Proceedings of the Entomological Society of Washington 106 (3): 531-539
- Pinto, J. D y A. K. Owen 2004. *Adryas*, a new genus of Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) from the New World Tropics. Proceedings of the Entomological Society of Washington 106 (4): 905-922.
- Pinto, J. D. 1998. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera:Trichogrammatidae). Memoirs of the Entomological Society of Washington. Number 22: 287 pp.
- Pinto, J. D. 1995. Trichogrammatidae. In: Hanson D. and D. Gauld, eds., Hymenoptera of Costa Rica. Oxford Univ. Press. New York. 893 pp.
- Pinto, J. D. 2006. A review of the New World Genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). Journal of Hymenoptera Research Vol. 15(1): 38-163.
- Salazar-Sosa E, Trejo-Escareño HI, Vázquez-Vázquez C, López-Martínez JD. 2007. Producción de maíz bajo riego por cintilla, con aplicación de estiércol bovino. Phytón 76:169-185.
- Summers, C. G., W. Barnett, V. E. Burton, A. P. Gutierrez, and V. M. Stern. 1985. Insects and other arthropods. In: Integrated pest management for alfalfa hay. Marble, V. L., C. A. Schoner, L.R. Teuber, R.L. Travis, C. G. Summers, W. Barnett, V. E. Burton, A. P. Gutierrez, V. M. Stern, J. Fox, J. L. Hatfield, B. F. Lownsbery, W. H. Hart, J. D. Radewald, I. J. Thomason, D. G. Gilchrist, R. F. Brewer, D. C. Erwin, D. H. Hall, J. G. Hancock, A. Martensen, O. Ribiero, T. P. Salmon, R. March, R. F. Norris, C. Bell, and B. B. Fisher. University of California. Oakland California, U.S.A. pp: 42-63.
- Timberlake, P. H. 1924. Descriptions of new chalcid flies from Hawaii and Mexico (Hymenoptera). Proceedings of the Hawaiian Entomological Society 5: 395–417.
- Trjapitzin, S. V. 1995. A new species of Aphelinoidea (Hymenoptera: Trichogrammatidae), with a key to species of the Holarctic Region. Journal of the Kansas Entomological Society 67: 301–310.
- Virla, G.E., Albarracin, L E. and G. Moya-Raygoza. 2009. Egg parasitoids of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) in Jalisco state, Mexico
- Walker, G. P., I. M. Bayoun, S. V. Triapitsyn, and J. Y. Honda. 2005. Taxonomy of *Aphelinoidea* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species attacking eggs of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Hemiptera: Cicadellidae) in California. Zootaxa 1068: 1-25.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



Wharton, A. R.; P. M. Marsh y M. J. Sharkey. 1998. Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo. The International Society of Hymenopterists. Washington, DC 447 p.



AVANCES EN EL ESTUDIO DE DIVERSIDAD DE ESPECIES DE LA FAMILIA CHRYSOPIDAE (NEUROPTERA) EN LA ZONA CITRÍCOLA DEL ESTADO DE COLIMA

Esther G. Córdoba-Urtiz, Martín Palomares-Pérez, Jorge A. Sánchez-González, Gabriel Moreno-Carrillo, Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV-CNRF. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28110, Tecomán, Colima, México. gisela_1704@hotmail.com

Resumen. El objetivo del estudio es evaluar la distribución y determinar especies de crisópidos presentes en las zonas citrícolas del estado de Colima. Se realizaron muestreos semanales en huertas de distintos tipos de cítricos previamente determinadas en los municipios de Colima, Tecomán, Armería, Ixtlahuacán y Minatitlán en el periodo de enero a agosto de 2014. En cada sitio se llevaron a cabo observaciones y colectas en diez brotes de diez árboles al azar. Los huevecillos y pupas se colectaron directamente en cajas Petri, las larvas se recolectaron con un pincel de cerdas finas, mientras que los adultos con una red de golpeo en la periferia del árbol. El material biológico se trasladó al Laboratorio del Departamento de Insectos Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. La identificación se realizó mediante observaciones de caracteres morfológicos externos e internos utilizando las claves taxonómicas correspondientes y con el apoyo de un estereoscópico. Se identificaron 712 individuos pertenecientes a ocho especies: *Ceraeochrysa claveri* (Navas), *C. valida* (Banks), *C. cincta* (Schneider), *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister), *C. externa* (Hagen), *C. exotera* (Navas), *Chrysopa quadripunctata* (Burmeister) y *Leucochrysa* sp (MacLachlan). Las especies *C. claveri*, *C. valida* y *C. cincta* se presentaron en los cinco municipios durante todo el periodo de evaluación. *C. exotera* y *C. quadripunctata* solo se encontraron en el municipio de Tecomán durante los meses de abril y mayo. *C. externa* es la especie más abundante observándose a partir del mes de marzo. Los índices de riqueza específica de Margalef (14.213) de diversidad de Shannon-Wiener (2.0165) y de equidad de Pielou (0.6719) muestran una variedad aceptable de especies para el estado de Colima durante el periodo de estudio. Se pretende continuar con las colectas al menos dos años más y así poder concluir cual de las especies es la mejor adaptada a las condiciones del estado de Colima con la finalidad de recomendarla para su reproducción y liberación en el control biológico de plagas agrícolas en cítricos en el estado de Colima.

Palabras Claves: *Chrysoperla*, *Ceraeochrysa*, Control biológico, Depredadores.



HYMENOPTERA ASOCIADOS A CÍTRICOS DE TRASPATIO DE MICHOACÁN

Rutilio Gustavo Hernández-García¹, Refugio Lomeli-Flores², Margarita Vargas-Sandoval¹, Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Salvador Aguirre-Paleo¹, Carlos Espiridión Montero¹ y Ramón Peñaloza-Rojas¹. 1. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Uruapan, Mich. vargasmarga@hotmail.com. 2. Colegio de Postgraduados, Carr. México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Resumen. En el presente trabajo se realizó la identificación de los himenóptera asociados a cítrico de traspatio en dos huertas de los municipios de Ziracuaretiro y Uruapan (Cutzato), la primera con manejo convencional y la segunda sin ningún tipo de manejo. Se hicieron colectas durante un ciclo anual en ambas huertas y se hizo una comparación de los himenopteros encontrados, tanto a lo largo del año, como entre las diferentes localidades. Se colectaron un total de 371 ejemplares, 186 Cutzato y 185 Ziracuaretiro, pertenecientes al orden Hymenoptera de 16 familias con 46 morfoespecies. Las familias encontradas fueron 16 parasitoides Aphelinidae, Bethyidae, Braconidae, Chalcididae, Diapriidae, Encyrtidae, Eucolidae, Eulophidae, Figitidae, Ichneumonidae, Platygasteridae, Pteromalidae, Scelionidae, Tiphidae y dos que no presentan especies con este comportamiento Formicidae y Vespidae. La cantidad de himenópteros encontrados en ambas huerta fue similar y a lo largo del año se observó que no se presenta un patrón de abundancia definido y solo en los meses de octubre, noviembre y diciembre se colectaron un menor número de ejemplares.

Los parasitoides más estudiados han sido los asociados a *D. citri* debido a la importancia de esta plaga en la transmisión de la bacteria del dragón amarillo, sin embargo la diversidad de especies parasitoides en los cítricos es muy grande por lo que se pretende, con este trabajo, contribuir al conocimiento del grupo.

Palabras clave. Cítricos de traspatio, Hymenoptera, parasitoides

Agradecimiento: Financiado por proyecto P/PIFI-2013-16MSU0014T-04 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.



***Encarsia sophia* Girault & Dodd (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) PARASITOIDE DE MOSCAS BLANCAS ASOCIADAS A JICAMA (*Pachyrhizus erosus*), EN VERACRUZ, MÉXICO.**

Daniel Alfonso García-Guerrero¹; Oswaldo García-Martínez¹; Svetlana Nikolaevna-Myartseva² y Vicente Emilio Carapia-Ruiz³. ¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo; Coahuila, México. ²Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Centro Universitario Adolfo López Mateos, C.P 87149. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. ³Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Instituto Profesional de la Región Oriente. Xalostoc, Villa de Ayala, Morelos, CP 62715, México. ggda28@gmail.com.

Resumen. Las especies de moscas blancas son de importancia económica en todas las regiones agrícolas, ya que además de succionar savia, transmiten virus fitopatógenos y propician la aparición de fumagina a consecuencia de sus secreciones azucaradas. En México se han registrado 67 especies de las cuales, *Bemisia tabaci* Gennadius y *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, son causantes de grandes pérdidas en la agricultura nacional. La jícama es un cultivo importante en el norte del estado de Veracruz, y es atacada por distintas especies de moscas blancas, por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar que especies de Aphelinidae las parasitan en condiciones naturales, para lo cual, se recolectaron ninfas de Aleyrodidae cada mes de enero a noviembre de 2013 en el municipio de Tampico Alto; donde se cortaban hojas de la planta de jícama con ninfas de mosquitas blancas y se depositaban en cajas de Petri etiquetadas; posteriormente se trasladaban al Laboratorio de Taxonomía de Insectos y Ácaros del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Campus Saltillo, donde se esperaba la emergencia de los parasitoides adultos, de los cuales una parte se conservaba en viales de plástico de 2 mm con alcohol etílico al 75 %, y otra se montó en laminillas (porta-cubreobjeto) utilizando bálsamo de Canadá y aceite de clavo. La identificación taxonómica a nivel de especie se apoyó en las claves de Girault y Dodd, y Myartseva y colaboradores. La avispa parasitoide identificada fue *Encarsia sophia* Girault & Dodd, la cual se obtuvo de ninfas del cuarto estadio de *B. tabaci*, *T. vaporariorum* y *Tetraleurodes acaciae* Quaintance respectivamente. En México solo se ha registrado a *E. sophia* emergiendo de *Trialeurodis variabilis* Quaintance, por lo que este estudio es un aporte nuevo de especies de moscas blancas parasitadas por *E. sophia*.

Palabras clave: *Encarsia sophia*, moscas blancas, Aphelinidae, jícama, Veracruz.



DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DEL GENERO *Erythmelus* (HYMENOPTERA:MYMARIDAE) EN MÉXICO

Guzmán-Larralde Adriana Josefina^{1*}, Alejandro González-Hernández ¹ y Serguey V. Triapitsyn ². ¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad s/n. San Nicolás de los Garza N.L. C.P. 66451. ²Department of Entomology, University of California, Riverside, CA, 92521, USA. adri_guzman@yahoo.com.,

Resumen. El presente estudio actualiza los conocimientos y distribución de las especies mexicanas del genero *Erythmelus* Enoch (Hymenoptera: Mymaridae), a través del análisis de 142 ejemplares de colectas directas y la revisión de material en seco, presentes en colecciones científicas nacionales e internacionales, de los cuales se revisó, material en seco y se realizaron 82 laminillas permanentes en Bálsamo de Canadá. Se identificaron siete especies para México: *Erythmelus gracilis* (Howard, 1881), *Erythmelus klopomor* S. Triapitsyn, *Erythmelus picinus* (Girault, 1915), *Erythmelus psallidis* Gahan 1937, *Erythmelus miridiphagus* Dozier 1937, *Erythmelus mudrila* S. Triapitsyn y *Erythmelus rex* (Girault 1911), distribuidas en 14 estados de la república mexicana, con una mayor diversidad de especies en Baja California Sur y Nuevo León. *E. miridiphagus* y *E. psallis* son las especies más abundantes y mejor distribuidas.

Palabras clave: Parasitoide de huevecillos, taxonomía, distribución, México.

Introducción

Algunos programas de control biológico fallan, por el desconocimiento de información básica, como la correcta identificación de la especie (Stiling, 1993). Los Chalcidoidea o microhimenópteros parasitoides, son insectos benéficos importantes en Control Biológico, con 21,000 especies descritas distribuidas en 19 familias, pero se estima que su rango debe estar entre 60,000 y 400,000 especies (Gibson *et al.* 1999; Noyes, 1978). Por lo que no es de sorprender la necesidad de taxónomos especialistas y la confusión debida a la gran cantidad de especies sin describir (Gibson *et al.* 1999; LaSalle, 1993) mayormente en países con gran diversidad biológica, como México.

Los ejemplares del género *Erythmelus* son calcidoideos que pertenecen a la familia Mymaridae, Relativamente comunes en hábitats secos y moderadamente cálidos, son enemigos naturales de huevecillos, pertenecientes a las familias de Cicadelidae (Homoptera), Miridae y Tingidae, (Hemiptera) en los cuales se presentan representados plagas agrícolas importantes, pudiendo ser utilizados en programas de control biológico clásico o por aumento (Triapitsyn 1997, 2003). Recomendados para controlar a la chinche de alas de encaje *Pseudacysta perseae* (Heid.) y a *Coythucha arcuata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) especies plaga en árboles como el aguacate y la guayaba, que causan grandes pérdidas al provocar la drástica caída de las hojas (Puttler *et al.* 2014).

Los primeros esfuerzos en la identificación del género para Norteamérica fueron los realizados por Howard (1881); Girault (1911a, 1911b, 1915); Gahan (1937); Doutt (1949) Triapitsyn



(2003). En México a nivel de género, se presenta la diversidad y abundancia de los géneros de Mymaridae y claves para su identificación (Guzmán *et al.* 1991, 1997). Los trabajos recientes más sobresalientes en la taxonomía de este género, son los conducidos por Triapitsyn *et al.* (2007), en donde se organizó la información existente, realizando redescriptiones y proporcionando una clave para la fauna del continente americano, y donde se cuenta con los únicos reportes científicos de especies para México.

El presente trabajo pretende actualizar el conocimiento de las principales especies de *Erythmelus* y su distribución en México.

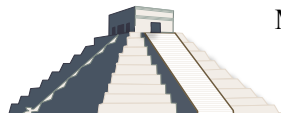
Material y Métodos

Este estudio esta basado en la revisión de especímenes del género *Erythmelus sp.* recolectados en localidades de México, y las proporcionadas por la Colección de Insectos Benéficos de la FCB (CIBE), además de los proporcionados por colecciones científicas en el extranjero: En Canadá: Canadian National Collection of Insects, Ottawa, Ontario, Canada (CNC); Estados Unidos: Museum, University of California at Riverside, California, USA (UCRC). De estos ejemplares (no tipo) mantenidos en tarjetas de papel, algunos se seleccionaron y montaron en laminillas permanentes en Balsam de Canadá según la metodología recomendada por Noyes (1982). Las laminillas se revisaron con un microscopio compuesto de contraste Carl Zeiss Axioskop 2 plus. Las fotografías fueron echas usando una cámara digital Sony DSC-S75 con sistema de automontaje. Para la identificación del géneros se utilizaron las claves de Shauuff (1984) y las especies fueron identificadas con las claves propuestas por Triapitsyn (2007), donde se encuentran los términos morfológicos y descripciones de las especies. Posteriormente el material fue corroborado por el especialista en el grupo y comparado con el material tipo y la colección de referencia de UCRC.

Resultados y Discusión

Se revisaron un total de 142 ejemplares del género *Erythmelus*. Los resultados de la identificación de 82 ejemplares montados en laminillas con Bálsamo de Canadá, se ilustran en el Cuadro 1. Las especies pertenecientes a *E. gracilis* y *E. klopomor* son nuevos reportes para México. Las otras cinco especies, ya habían sido reportadas para México y en tres de ellas se encontraron diversos registros nuevos para algunos estados. *E. miridiphagus* y *E. psallis* se presentan como las mas abundantes y mejor distribuidas. Algunos ejemplares requieren de un análisis posterior mas exhaustivo ya que no coinciden con las especies presentes en la clave.

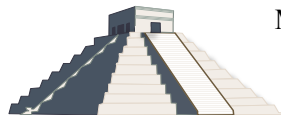
Existen muy poca información sobre los hospederos de estos parasitoides, muy posiblemente existan errores en lo reportado con mucha anterioridad (Triapitsyn 2007), en el caso de *E. gracilis* y *E. mudrila* no se tiene ningún hospedero reportado. La información disponible de los hospederos para los géneros encontrados en México se agrupa en el Cuadro 2, en su mayoría Myridos y Tingidos. Algunas de estas especies como *Corythucha ciliata* (Hymenoptera: Tingidae) son plagas forestales, de hábito chupador defoliador, su principal huésped son los



fresnos (*Fraxinus*) y se distribuyen en México (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) (Frank y Foltz, 1997), lo que explicaría su presencia en estos estados. Otras plagas importantes son el mirido *Neurocolpus longirostris* el cual es causante de la caída de los frutos de pistache aun inmaduros (Michailides, 1989) y *Polymerus cuneatus* reportado como plaga en aguacates, causante de la caída de la floración (Peña *et al.* 2003). Reportado como un hospedero de *E. rex*, *Circulifer tenellus* Baker en ocasiones actúa como vector del agente causal de la punta morada de la papa en regiones de Coahuila y Nuevo León (Almeyda *et al.*, 2008). Y ha sido observado en plantas como el epazote o quinua, pertenecientes a la familia Chenopodiaceae (Triapitsyn, 2003).

Cuadro 1. Distribución de las especies del genero *Erythmelus* en diferentes estados de la republica mexicana.

Especie	Estado	Cita
<i>E. gracilis</i>	Baja California Sur	Nuevo record en el país
	Baja California Norte	Nuevo record en el país
	Nuevo León	Nuevo record en el país
<i>E. klopomor</i>	Nuevo León	Nuevo record en el país
<i>E. picinus</i>	Querétaro	Triapitzin 2007
<i>E. psallidis</i>	Baja California Sur	Nueva localidad
	Chiapas	Nueva localidad
	Nuevo León	Triapitzin 2007
	Michoacán	Nueva localidad
	Veracruz	Triapitzin 2007
	Sinaloa	Nueva localidad
	Yucatán	Nueva localidad
<i>E. miridiphagus</i>	Baja California Sur	Nueva localidad
	Hidalgo	Nueva localidad
	Nuevo León	Nueva localidad
	Morelos	Triapitzin 2007
	Tamaulipas	Nueva localidad
	Veracruz	Nueva localidad
	Yucatán	Nueva localidad
<i>E. mudrila</i>	Oaxaca	Triapitsyn 2003
<i>E. rex</i>	Baja California Sur	Triapitsyn 2003
	Hidalgo	Triapitsyn 2003
	Puebla	Nueva localidad



Cuadro 2. Hospederos para las especies del genero *Erythmelus* en México (Triapitsyn *et al.* 2007).

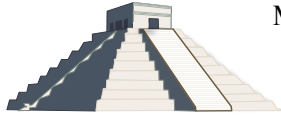
Especie	Hospederos
<i>E. gracilis</i>	Desconocido
<i>E. klopomor</i>	(Hemiptera:Tingidae): <i>Corythucha arcuata</i> (Say), <i>C. ciliata</i> (Say), <i>C. cydoniae</i> (Fitch), <i>C. floridana</i> Heidemann, <i>C. marmorata</i> (Uhler), and <i>C. pergandei</i> Heidemann (Horn <i>et al.</i> 1979; Horn <i>et al.</i> 1983; Triapitsyn 2003; Puttler <i>et al.</i> 2007).
<i>E. picinus</i>	(Hemiptera:Miridae): <i>Neurocolpus longirostris</i> Knight (Triapitsyn <i>et al.</i> , 2007)
<i>E. psallidis</i>	(Hemiptera:Miridae): <i>Lygus sp</i> y <i>Neurocolpus longirostris</i> Knight <i>Pseudatomoscelis seriatus</i> (Reuter) (como <i>Psallus seriatus</i> (Reuter)) (Gahan 1937), también como <i>Keltonia sulphurea</i> (Reuter) (como <i>Reuteroscopus sulphureus</i> (Reuter)) y <i>Macrolophus separatus</i> (Uhler), (Ewing & Crawford 1939; Douth 1949; Peck 1963; Triapitsyn <i>et al.</i> , 2007)
<i>E. miridiphagus</i>	(Hemiptera:Miridae): <i>Polymerus cuneatus</i> Distant, 1893 (Dozier 1937). Posiblemente <i>Lygus sp.</i> (Ogloblin 1934; Triapitsyn <i>et al.</i> , 2007).
<i>E. mudrila</i>	Desconocido
<i>E. rex</i>	(Hemiptera:Miridae): <i>Adelphocoris sp.</i> , <i>Lygus hesperus</i> Knight; (Hemiptera:Cicadelidae): <i>Circulifer sp.</i> , <i>Circulifer tenellus</i> Baker, <i>Eutettix sp.</i> , <i>Eutettix tenellus</i> Baker; (Hemiptera:Tingidae): <i>Corythaica venusta</i> Cha., <i>Dictyla nassata</i> Put., <i>Derephysia foliacea</i> Fall., <i>Neotalitrus tenellus</i> Bak (Triapitsyn, 2003).

Literatura Citada

- Almeyda, L. I. H.; Sánchez, S. J. A. y Garzón, T. J. A. 2008. Vectores causantes de punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. *Agric. Téc. Méx.* 34:141-150.
- Douth, R.L. 1949. The genus *Erythmelus* in California (Hymenoptera, Mymaridae). *The Pan-Pacific Entomologist*, 25(2), 77-81.
- Ewing, K.P. & Crawford, H.J. 1939. Egg parasites of the cotton flea hopper. *Journal of Economic Entomology*, 32(2), 303-305.
- Frank, J. H., & Foltz, J. L. (1997). Classical biological control of pest insects of trees in the southern United States: a review and recommendations (Vol. 96, No. 20). Forest Health Technology Enterprise Team.
- Gahan, A.B. 1937. Two new chalcidoid egg parasites (Eulophidae and Mymaridae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 39(9), 266-269.
- Gibson, G., Heraty, J.M., Woolley, J.B., 1999. Phylogenetics and classification of Chalcidoidea and Mymarommatodea a review of current concepts (Hymenoptera, Apocrita). *Zool. Scr.* 28, 87-124.
- Girault, A.A. 1911^a. A new mymarid genus and species from North America allied with *Anthemus* Howard. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 13(3), 185-187.
- Girault, A.A. 1911^b. Descriptions of North American Mymaridæ with synonymic and other notes on described genera and species. *Transactions of the American Entomological Society*, 37(3), 253-324.
- Girault, A.A. 1915. Notes on North American Mymaridae and Trichogrammatidae (Hym.). *Entomological News*, 27(1), 4-8.
- Guzmán-Larralde, A., González-Hernández, A., Loyola-Licea, J.C., 1991. Géneros de la familia Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea) del noreste de México. *Biotam* 2, 52-57.
- Guzmán-Larralde, A., Leyva-Vázquez, J., González-Hernández, A., Ruiz-Cancino, E., 1997. Diversidad y Abundancia relativa de los Mymaridos (Hymenoptera: Chalcidoidea) en el centro de México. *Agrociencia* 31, 435-442.
- Horn, K.F., Farrier, M.H. & Wright, C.G. 1983. Some mortality factors affecting eggs of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 76(2), 262-265.
- Horn, K.F., Wright, C.G. & Farrier, M.H. 1979. The lace bugs (Hemiptera: Tingidae) of North Carolina and their hosts. *North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*, 257, 1-22.
- Howard, L.O. 1881. Part III. Report on the parasites of the Coccidae in the collection of this Department. *In:*



- Comstock, J.H., Report of the entomologist for 1880. Annual Report of the United States Department of Agriculture (1880), pp. 350–371, plates XXIII, XXIV.
- LaSalle, J., 1993. Parasitic Hymenoptera, biological control and biodiversity. In : La Salle, J. and Gauld I.D. (eds) Hymenoptera and biodiversity. C.A.B.I. 197–215.
- Noyes, J.S., 1978. On the numbers of genera and species of Chalcidoidea (Hymenoptera) in the world. *Entomol. Gaz.* 29, 163–164.
- Noyes, J.S., 1982. Collecting and preserving chalcid wasps (Hymenoptera: Chalcidoidea). *J. Nat. Hist.* 16, 315–334.
- Michailides, T. J. (1989). The ‘Achilles heel’ of pistachio fruit. *Calif. Agric.* 43(5), 10-11.
- Ogloblin, A.A. 1934. Especies nuevas del género *Erythmelus* Enock de la República Argentina (Mymaridae, Hym.). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 6, 243–260, plates XXII–XXIV.
- Peck, O. 1963. A catalogue of the Nearctic Chalcidoidea (Insecta: Hymenoptera). *The Canadian Entomologist, Supplement*, 30, 1–1092.
- Peña, J. E., Glenn, H., & Baranowski, R. M. 2003. Dynamics and sampling of mirids (Hemiptera: Miridae) in avocado in Florida. In *Proceedings. V World Avocado Congress. Granada-Malaga, España.[Links]* (pp. 495-501).
- Puttler, B., Bailey, W.C., Triapitsyn, S., 2014. Notes on distribution, host associations, and bionomics of *Erythmelus klopomor* Triapitsyn (Hymenoptera, Mymaridae), an egg parasitoid of lace bugs in Missouri, USA, with particular reference to its primary host *Corythucha arcuata* (Say)(Hemiptera, Tingidae). *J. Entomol. Acarol. Res.* 46, 30–34.
- Stiling, P., 1993. Why do natural enemies fail in classical biological control programs? *Am. Entomol.* 39, 31–37.
- Trjapitzin, S.V. 1993. A new *Erythmelus* (Hymenoptera: Mymaridae) from central Asia, an egg parasitoid of *Circulifer* spp. (Homoptera: Cicadellidae). *Entomological News*, 104(5), 267–271.
- Trjapitzin, S.V. 1993. A new *Erythmelus* (Hymenoptera: Mymaridae) from central Asia, an egg parasitoid of *Circulifer* spp. (Homoptera: Cicadellidae). *Entomological News*, 104(5), 267–271.
- Triapitsyn, S.V. (2003) Review of the Mymaridae (Hymenoptera, Chalcidoidea) of Primorskii krai: genus *Erythmelus* Enock, with taxonomic notes on some extralimital species. *Far Eastern Entomologist*, 126, 1–44.
- Triapitsyn, S.V., Berezovskiy, V. V., Hoddle, M. S., & Morse, J. G. (2007). A review of the Nearctic species of *Erythmelus* (Hymenoptera: Mymaridae), with a key and new additions to the New World fauna. *Magnolia Press*.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



ECOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO



DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE *Tetranychus urticae* (Koch) Y *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) EN LA VARIEDAD DE ROSAL ANASTASIA

Julio Chacón-Hernández¹, Jerónimo Landeros-Flores¹, Ernesto Cerna-Chávez¹, Yisa Ochoa-Fuentes¹, **Agustín Hernández-Juárez***¹, Salvador Ordaz-Silva², Epifanio Castro-Del Ángel¹. ¹Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila; México. ²Facultad de Ingeniería y Negocios. Universidad Autónoma de Baja California, Km. 180.2 Ejido Padre Kino, carretera Transpeninsular Ensenada-San Quintín, Baja California, México. *chinoahj14@hotmail.com, july2019@hotmail.com

Resumen. Las plantas ornamentales del género *Rosa* L. (Rosales: Rosaceae) se producen en todo el mundo, una de las principales plagas de este género bajo condiciones de invernadero es el ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Uno de los depredadores más efectivos de *T. urticae*, es la especie *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). El objetivo de esta investigación fue determinar el patrón de distribución espacial y la fluctuación poblacional de *T. urticae* y de su depredador *P. persimilis* sobre Rosal Var. Anastasia bajo condiciones de invernadero. Semanalmente se realizaron muestreos aleatorios para la plaga y para su depredador sobre la variedad del Rosal. Del 20 de Septiembre al 18 de noviembre del 2013 los índices de la Varianza relativa, Lexis, Green, David y Moore, Charlier, Morisita, Taylor y Iwao mostraron que *T. urticae* y *P. persimilis* presentan una distribución agregada en la mayoría de las fechas de muestreo. *T. urticae* presentó la mayor densidad poblacional en el estrato medio (312) seguida por los estratos inferior y superior con 193 y 129 respectivamente, mientras que *P. persimilis* presentó la mayor densidad en el estrato superior (17) seguido por el estrato medio e inferior (12 y 3 respectivamente). En el estrato inferior se presentó una correlación entre la abundancia de *T. urticae* y la de *P. persimilis* (superior: $r=0.38$, $P=0.3072$; medio: $r=0.46$, $P=0.2078$; inferior: $r=0.90$, $P=0.0009$).

Palabras clave: Distribución espacial, *Phytoseiulus persimilis*, *Tetranychus urticae*, rosal, fluctuación poblacional.



CANIBALISMO NECRÓFAGO EN EL GUSANO SOLDADO *Spodoptera exigua* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE): ¿CUÁLES SON LOS FACTORES QUE FAVORECEN UN COMPORTAMIENTO ALTAMENTE RIESGOSO?

¹**Dulce M. Rebolledo-Moran**, ¹Trevor Williams, ¹Rodrigo Lasa, ¹Roger Guevara, ²Rosa Murillo. ¹Instituto de Ecología A.C. Carretera antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México; ²Instituto de Agrobiotecnología, Universidad Pública de Navarra, Avda. de Pamplona, No.123 Mutilva 31192, Pamplona España. dulcerem@gmail.com, trevor.williams@inecol.mx, rodrigo.lasa@inecol.mx, roger.guevara@inecol.mx, rosa.murillo@unavarra.es

Resumen. El gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es considerada una especie plaga de gran importancia económica, la cual se controla principalmente mediante aplicaciones de insecticidas sintéticos. No obstante, en algunas partes del mundo su control se logra mediante la aplicación de formulados del nucleopoliedrovirus múltiple específico de *S. exigua* (SeMNPV). En campo se ha observado que las larvas presentan una conducta caníbal necrófaga hacia cadáveres infectados; un acto que es altamente perjudicial ya que favorece la transmisión de este virus mortal al insecto caníbal. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio estuvo orientado a determinar los factores que están afectando este comportamiento necrófago inusual. Para esto, se hicieron pruebas de preferencia alimenticia hacia cadáveres con y sin infección por virus. Asimismo, mediante pruebas de olfactómetro se analizó si el posible atrayente podría ser una sustancia volátil. Para finalizar, se realizó un experimento de jaula, con el objetivo de determinar cómo se distribuyen las larvas sanas y larvas infectadas sobre la planta y determinar la relación que tiene esto con el riesgo de adquirir la infección por virus. No se encontró una diferencia significativa ($P > 0.05$) en la preferencia hacia los cadáveres en ensayos de laboratorio, ni evidencia de un atrayente volátil en cadáveres con el virus. Sin embargo, en los ensayos sobre la planta se encontró una preferencia significativamente mayor por los cadáveres infectados. Por otro lado, se observó que los sitios de alimentación de las larvas sanas coincidieron con los sitios donde se distribuyeron las larvas infectadas. En ambos tipos de experimentos (laboratorio y campo) la mortalidad a causa de la infección fue muy alta en las larvas que consumieron o que estuvieron en contacto con cadáveres infectados. Se concluye que el canibalismo necrófago fue el resultado de modificaciones significativas en el traslape de la distribución de cadáveres infectados e insectos sanos sobre la planta. Esta relación puede ser favorecida por la arquitectura de la planta así como por la conducta de las larvas infectadas, ya que el virus manipula el comportamiento del insecto infectado mediante un gen (*egt*) para un fenotipo extendido que modifica la conducta de la larva para que suba a las partes altas de la planta donde muere. Esta manipulación del insecto hospedero aumenta la probabilidad de contacto entre cadáver infectado y las larvas sanas y favorece la transmisión del patógeno.

Palabras clave: Nucleopoliedrovirus patógeno, lepidóptero, conducta, necrocanibalismo, transmisión.

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de esta investigación.



INCIDENCIA Y PARASITISMO DEL MINADOR DE ARETES, *Coptodisca* sp. (LEPIDOPTERA: HELIOZELIDAE) EN EL CULTIVO DE NOGAL, EN LA COMARCA LAGUNERA

Carolina Reyes-Robles¹, José Luis Reyes-Carrillo¹, Aldo Iván Ortega-Morales¹, Verónica Ávila-Rodríguez², Urbano Nava-Camberos³. ¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón, Coah. ²Facultad de Ciencia Biológicas, UJED, Gómez Palacio, Dgo. ³Facultad de Agricultura y Zootecnia, UJED, Ej. Venecia, Durango. creyesrobles07@yahoo.com jlreyes54@gmail.com vavilar@gmail.com nava_cu@hotmail.com

Resumen. El cultivo de nogal, *Carya illinoensis* (Wang.) K. Koch, por su importancia económica, social y cultural constituye un importante patrimonio para México, destacando su valor comercial dentro y fuera del país y la generación de empleos durante el ciclo de producción. Dentro de los factores que afectan el rendimiento y calidad del fruto de la nuez, están las plagas de interés económico. El presente estudio se realizó en cuatro huertas de nogal de la Comarca Lagunera, con los objetivos de determinar los niveles de infestación y daño foliar del minador de aretes, *Coptodisca* sp (Lepidoptera: Heliozelidae), así como su parasitismo, durante el ciclo agrícola 2014. Las huertas nogaleras presentaron diferencias notables en el manejo de plagas. Las infestaciones y daños foliares del minador de aretes variaron notablemente entre localidades, lo cual parece estar relacionado con el manejo agronómico en general y particularmente con el manejo de plagas. Se observaron mayores infestaciones y daños foliares en la huerta con manejo convencional y mayor número de aplicaciones de insecticidas, seguida de la huerta con manejo orgánico y sin aplicaciones de insecticidas. Las otras dos huertas presentaron infestaciones y daños intermedios. El nivel de parasitismo del minador varió significativamente entre localidades, en función de la densidad del huésped y del manejo de insecticidas.

Palabras clave: Nogal, *Coptodisca* sp., infestaciones, daño foliar, parasitismo.

Introducción

El cultivo de nogal, *Carya illinoensis* (Wang.) K. Koch, ha alcanzado un importante crecimiento en el norte de México. En la Comarca Lagunera actualmente el valor de la producción ocupa uno de los primeros lugares entre los frutales de la región. Sin embargo, esta producción cada año se ve amenazada por las pérdidas originadas en la producción y la calidad de la nuez, debido a plagas de importancia económica tales como; el gusano barrenador de la nuez, *Acrobasis nuxvorella* (Neunzig), el gusano barrenador del ruzno *Cydia caryana* (Fitch), el complejo de pulgones que lo comprenden; el pulgón amarillo *Monelliopsis pecanis* (Bissell), pulgón amarillo de márgenes negros *Monellia caryella* (Fitch) y el pulgón negro *Melanocallis caryaefoliae* (Davis), provocando problemas fitosanitarios en el nogal (Aguilar-Pérez, 2007).

Europa reportó el minador de hoja del género *Coptodisca walsingham* (Lepidoptera: Heliozelidae), una especie de potencial económico para el cultivo del nogal (*Juglans nigra* L.) y el nogal común (*Juglans regia* L.). El daño foliar fue registrado desde septiembre de 2010, en



varios sitios de dos regiones de Italia. La especie *Coptodisca walsingham* es bastante similar a *Coptodisca juglan della* (Chambers), el único *Coptodisca* conocidos por atacar las nueces. Tres generaciones se registraron por año y se observó que los minadores pasan el invierno como larvas maduras. Los primeros adultos emergieron en mayo- junio, mientras que las larvas maduras de la última generación, se inició la hibernación en septiembre (Bernardo *et al.*, 2011).

En el año 2012, se realizó un estudio en ocho huertas de nogal ubicadas en la Comarca Lagunera, para determinar los niveles de infestación y daño del minador del arete, los resultados reflejan que están infestadas por esta plaga en un rango del 13-63% (Ávila y Nava, 2013). Considerando que el minador de arete se ha convertido en una plaga potencial en el cultivo del nogal, en el año 2014 se hizo un trabajo de investigación para evaluar la incidencia y parasitismo de este minador. Dentro de los objetivos de la investigación fueron evaluar los niveles de infestación, daño foliar y los niveles de parasitismo en los estados de larva y pupa (aretas del minador), en huertas de nogal que tienen diferente manejo.

Materiales y métodos

Ubicación del área de estudio. La investigación se realizó del 12 de abril al 30 de agosto del 2014, en cuatro huertas de la Comarca Lagunera. Cada una de ellas presenta diferentes programas de control y manejo fitosanitario. La huerta de San Ramiro, en el municipio de Matamoros, Coahuila, aplican insecticidas químicos convencionales para el control de plagas. Las huertas de Hormiguero en Coahuila y El Refugio en Gómez Palacio, Durango, llevan un manejo de plagas con productos biorracionales y la huerta de la FAZ-UJED en el ejido de Venecia municipio de Gómez Palacio, Durango, es completamente orgánica.

Muestreo y colecta. En cada localidad se seleccionaron 10 árboles al azar y semanalmente se revisaron 10 hojas por árbol, haciendo un total de 100 hojas por huerta, siendo la unidad de muestreo una hoja compuesta, la cual se reviso visualmente registrando el daño foliar (número de orificios) y presencia de aretes en las hojas.

Determinación de parasitismo. En cada huerta, mensualmente se colectaron 100 aretes encontrados en las hojas y fueron clasificados en grupos de 5 unidades y colocados en cajas petri, debidamente selladas y rotuladas por fecha y localidad. Las cajas petri se revisaron periódicamente para observar y registrar la presencia de parasitoides y los adultos de *Coptodisca* (micropalomilla). Los parasitoides emergidos fueron colocados en alcohol al 70% para su preservación e identificación final.

Resultados y discusion

Niveles de infestación y daño foliar. En las cuatro huertas de nogal de la Comarca Lagunera donde se hizo este trabajo, se puede observar una baja incidencia del minador de arete en el mes de abril, los cuales podrían estar en dormancia, pero en los meses mayo y junio se observa un incremento significativo en el daño foliar y la presencia de aretes. En el mes de julio los niveles



de daño (orificios en hoja) y población de aretes se incrementan poco, pero en agosto se refleja el mayor aumento de daño foliar en hojas y mas representación de aretes. Tal como lo muestra la figura 1. El control y manejo de las huertas es un factor importante ya que la huerta de San Ramiro con manejo convencional, desde un inicio refleja un esquema de crecimiento en daño foliar (orificios) y población de aretes superior a las otras huertas. La huerta ubicada en la FAZ-UJED, es completamente orgánica, inicialmente sus poblaciones fueron bajas, sin embargo en el mes de julio y agosto gradualmente incrementaron hasta alcanzar el segundo lugar de mayor daño foliar. Las huertas del Hormiguero y El Refugio con un control biorracional presentan un modelo de crecimiento similares, donde hay una autorregulación en los niveles de infestación y presencia de aretes. En las cuatro huertas según el control y manejo se observa el incremento de los aretes en las hojas (Figura 2). Existe una relación entre el incremento de la población de minador (aretes) y el daño foliar.

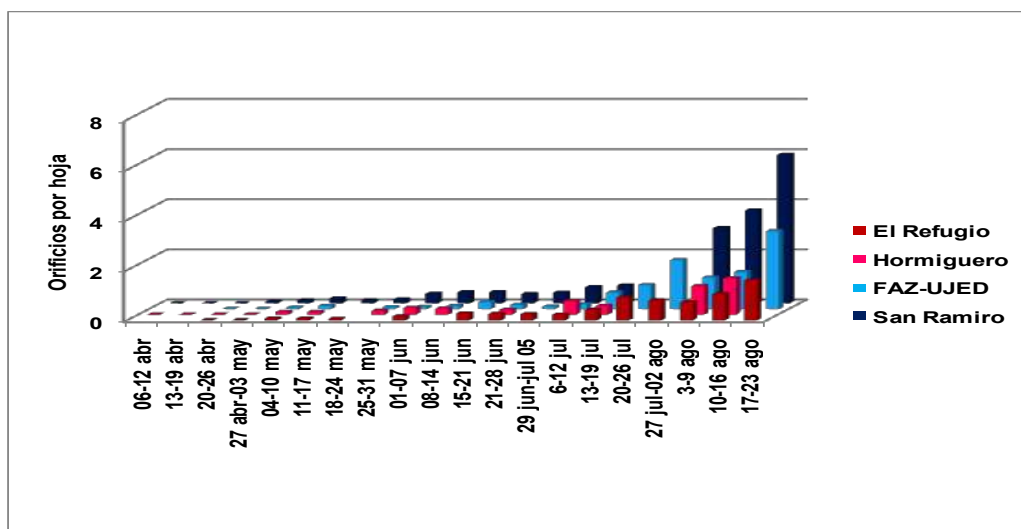


Figura 1. Daños foliares del minador de aretes en huertas de nogal con diferentes manejos de plagas, Comarca Lagunera, 2014.

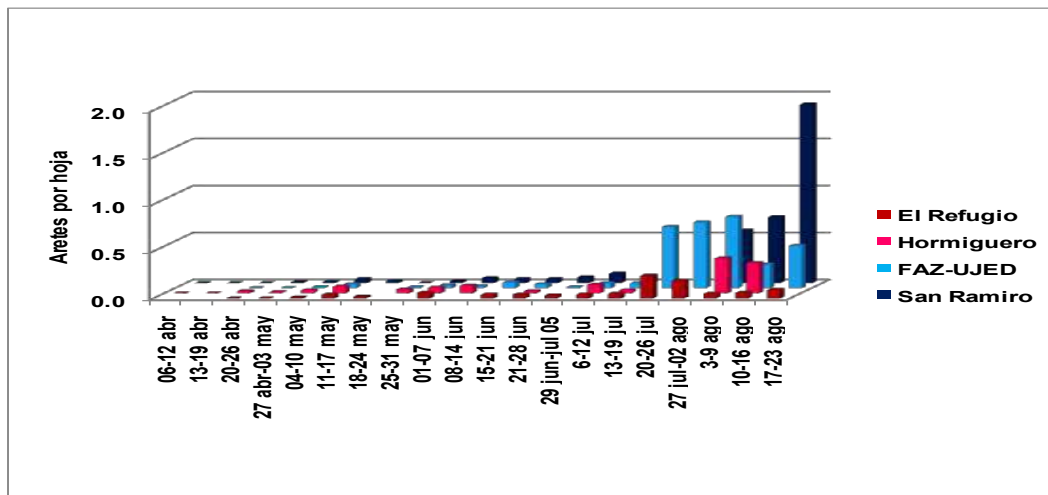


Figura 2. Infestaciones del minador de aretes en huertas de nogal con diferentes manejos de plagas, Comarca Lagunera, 2014.

Niveles de Parasitismo. Se encontró parasitismo en los estados de larva y pupa (aretas) del minador. En los primeros meses el parasitismo fue bajo, los parasitoides emergieron en el mes de mayo y se mantuvo un porcentaje menor hasta el mes de julio, incrementando notablemente las poblaciones de parasitoides en el mes agosto. En presencia de parasitoides La huerta de Hormiguero mostro mayor porcentaje, La FAZ-UJED, el segundo lugar, El Refugio tercer lugar y San Ramiro mostro los niveles más bajos ya que sus parasitoides fueron pocos y emergieron únicamente en el mes de agosto (Cuadro1).

Cuadro 1. Porcentajes de parasitismo del minador de aretes en huertas de nogal con diferente manejo de plagas, Comarca Lagunera, 2014.

Fecha de muestreo	El Refugio	San Ramiro	FAZ-UJED	Hormiguero
25-31 may	0	0	0	4
08-14 jun	2	0	0	2
22-28 jun	2	0	0	8
06-12 jul	2	0	4	4
13-19 jul	6	0	10	10
03-09 ago	2	8	22	22
17-23 ago	8	14	26	28



Conclusiones

Con los resultados de este trabajo que tuvo un seguimiento en forma continua de abril –agosto del 2014, podemos concluir lo siguiente; La poblaciones de minador de arete y su daño son variables de una huerta a otra, siendo una de sus causas el manejo agronomico, ya que durante todo el estudio se reflejo un claro ascenso de los niveles de infestacion en la huerta de manejo convencional. En todas las huertas se identificò en el mes de agosto un aumento en la poblacion del minador y se incremento la presencia de los parasitoides, lo que nos indica que las condiciones ambientales en este mes y los programa de manejo de las huertas son factores importantes. Debe existir un equilibrio ya que el abuso en la aplicación de insecticidas convencionales elimina los insectos benéficos y su parasitismo es bajo. En las huertas biorracionales y orgánica al aumentar la población de aretes también incremento el porcentaje de parasitismo. En general los niveles de parasitismo encontrados fueron bajos.

Agradecimiento

Al programa de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia(Conacyt) y a los propietarios y encargados de las huertas nogaleras donde se hizo el estudio.

Bibliografía

- Aguilar., Pérez, J. H. 2007. Principales plagas de nogal en el norte de Coahuila. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Saltillo. Sitio experimental Zaragoza. Folleto técnico Núm. 14. Zaragoza, Coahuila, México. 28p.
- Ávila R., V. y Nava C., U. 2013. Infestación y daño de minador de aretes, *Coptodisca powellella* (Lepidoptera: Heliozelidae), en huertas de nogal de la Comarca Lagunera pp. 916-920. En la XXV Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. Gómez Durango.
- U. Bernardo, R. Sasso, M. Gebiola, G. Viggiani. 2011. First record of a walnut shield bearer *Coptodisca* (Lepidoptera: Heliozelidae) in Europe. J. App. Entomol. 136 (8): 638-640p.



BUSQUEDA DE ENEMIGOS NATURALES DE BARRENADORES DEL TALLO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DEL INGENIO SANTA ROSALIA, TABASCO, MEXICO.

Vidal Hernández-García, Rodolfo Osorio-Osorio, y Luis U. Hernández-Hernández, División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km. 25 Carretera Villahermosa-Teapa. Villahermosa, Tabasco, Mex. 86280. vidalhg@gmail.com.

Resumen. El objetivo del estudio fue identificar especies de parasitoides como enemigos naturales de barrenadores y determinar la intensidad de infestación en plantaciones cañeras. Evaluándose semanalmente seis parcelas de producción en zafra y pelillos en área de influencia del ingenio, en el 2014. En la zafra (un mes antes), se seleccionó 5 sitios en forma de “cinco de oros”, en cada uno se cortaron 20 tallos, se cuantificaron todos los entrenudos de la muestra, y se llevó a cabo un corte longitudinalmente a los tallos para visualizar los dañados y realizar el conteo, con estos datos se calculó el porcentaje de daño e intensidad de infestación; mientras que en la etapa de “pelillo” se muestrearon 5 sitios en cada una de las plantaciones de caña seleccionadas en forma de “cinco de oros”, en cada sitio se muestreó 10 m lineales, es decir 50 m en total por plantación, en ambas etapas se localizaron y se colectaron oviposturas parasitadas y larvas del barrenador del tallo, con la finalidad de mantenerlos en observación en condiciones de laboratorio para detectar el parasitismo natural, en la búsqueda de enemigos naturales de barrenadores. Los parasitoides encontrados fueron identificados a nivel de especie, con el apoyo de claves taxonómicas de Wood (1987). De acuerdo con los resultados de ésta investigación, la especie de parasitoide encontrado fue *Billaea* (= *Paratheresia*) *claripalpis* (Diptera: Tachinidae). La evaluación y el efecto del parasitismo natural en plantaciones cañeras de la región Chontalpa, puede ser la explicación el por qué se tiene niveles de porcentajes e intensidad de infestación bajos, que van en promedio de 8.9% y 1.9% respectivamente, los cuales no alcanzan un nivel de daño económico, sin embargo es importante no subestimar estos valores con el daño directo que ocasionan los barrenadores de la caña, ya que los arribos de adultos de barrenadores a los sitios de producción, siempre precede con la intensidad de daño vistos en la molienda.

Palabras clave: *Tachinidae*, *Diatraea*, parasitismo, daño.



TÉCNICA DE MARCAJE TEMPORAL DEL PARASITOIDE *Tamarixia radiata* (WATERSTON) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PARA ESTUDIOS DE COMPORTAMIENTO

Nora I. Vizcarra-Valdez, Jorge A. Sánchez-González, Hugo C. Arredondo Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV-CNRF. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28110, Tecomán, Colima, México. j_asg2@hotmail.com

Resumen. El objetivo de este trabajo fue determinar una técnica económica de marcaje que permitiera realizar estudios de comportamiento, sin afectar parámetros biológicos básicos del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston). Debido al tamaño de dicho insecto las técnicas de marcaje frecuentemente empleadas en otros insectos como la aplicación de polvo fluorescente no son convenientes ya que se ha observado que afecta significativamente el desarrollo, movilidad y tiempo de vida de este parasitoide. Se ha visto que otras técnicas como el marcaje molecular resultan costosas y requieren de mucho tiempo para su implementación y revelación de resultados. La técnica consiste en alimentar al parasitoide con finas gotas de una solución de miel pura de abeja y 5% de colorante artificial líquido para alimentos marca Deiman (fabricado por Deiman S.A. de C.V. en México. D.F. www.deiman.com.mx) sobre papel encerado; se puede utilizar cualquier color, sin embargo son más notorios los tonos azul y rojo. La solución es proporcionada como alimento regular durante 24 horas previas al estudio a realizar. Se observó que la solución con pigmento entra al sistema digestivo de los insectos y es notoria la pigmentación a través del abdomen translucido de *T. radiata*. Para garantizar que el colorante no afecte la biología del parasitoide se llevaron a cabo pruebas de medición de longevidad en laboratorio a diferentes concentraciones, se evaluó la capacidad de parasitismo y la dispersión en campo; se obtuvo como resultado que los individuos pigmentados y no pigmentados son estadísticamente iguales, es decir, el colorante no afecta el comportamiento de este parasitoide a la concentración mencionada (5%). Se observó que el marcaje o pigmento en el abdomen de los parasitoides se pierde a las 72 horas después de retirado el alimento con el colorante, por lo que se recomienda el empleo de esta técnica para marcar y realizar estudios de comportamiento con lecturas no mayores a dicho tiempo para esta especie de parasitoide.

Palabras clave: *Tamarixia radiata*, pigmentación, evaluación, dispersión



EVALUACIÓN DE DOS PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE NEEM CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Villegas-Mendoza Jesús Manuel, Robles-Carrera Lluvia, Mireles-Martínez Maribel, Rosas-García Ninfa María y Paz-González Alma Delia. Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Blvd. Del Maestro s/n, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tamps. CP. 88710. México.
jmvillegas@ipn.mx

Resumen. El neem es reconocido por ser un insecticida natural amigable al ambiente, estudios demuestran que el aceite del neem inhibe el desarrollo de huevos, larvas y pupas; bloquea la muda de larvas, repele a las hembras para ovipositar y esteriliza a los adultos en algunas especies del orden Lepidoptera. Sin embargo, en nuestro estudio con *Spodoptera frugiperda* no mostró disminución de oviposición en adultos, ni tampoco toxicidad en larvas neonatas con los productos Agroneem y PHC, pero sí mostró un efecto antialimentario con la dosis recomendadas por el fabricantes del producto.

Palabras clave. Gusano cogollero. Ruda. Neem. *Spodoptera frugiperda*. Antialimentario.

Introducción

En México es de gran importancia el daño que causa *Spodoptera frugiperda* conocido como gusano cogollero (Alatorre *et al.*, 2000). Este puede ocasionar una reducción en la producción que va desde un 20% hasta la pérdida total del cultivo desde las primeras etapas de desarrollo de la planta e incluso cuando éste se encuentra en épocas de floración (Del Rincón *et al.*, 2006). Este insecto es plaga principalmente de maíz, sorgo, chile, cebolla y tiene alrededor de 200 hospedantes (Bautista-Martínez, 2006). Por otra parte el Neem está identificado como un pesticida natural amigable con el medio ambiente (Osuna-Leal, 2002). Todas las partes de este árbol tropical contienen compuestos amargos (Van der Nat *et al.*, 1991), que afectan a especies como Lepidópteros presentando una alta sensibilidad (Osuna-Leal, 2002). Actuando con su efecto repelente, anti alimentario e insecticida el modo de acción es dependiente de la dosis y de la especie. También interrumpen o inhiben el desarrollo de huevos, larvas y pupas; bloquea la muda de larvas, repele a las hembras para ovipositar; esteriliza a los adultos; confunde a los insectos para realizar la metamorfosis; e inhibe la formación de quitina (Saxena *et al.*, 1980, 1983; NRC, 1992).

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar los efectos de toxicidad, antialimentario y disuasión de oviposición de los productos PHC Neem y Agroneem contra larvas y adultos de *Spodoptera frugiperda*.

Materiales y Métodos

Cría de *Spodoptera frugiperda* en el laboratorio. El insecto fue criado a 26 ± 1 °C, humedad relativa $70 \pm 15\%$ (Roel *et al.*, 2010) y 12:12 luz: oscuridad. Los adultos fueron alimentados una



solución de azúcar al 15 % y las larvas con una dieta artificial a base de soya, germen de trigo, levaduras, vitaminas y conservadores.

Efecto de toxicidad. Las concentraciones utilizadas fueron las especificadas por los productos: una dosis baja de 0.5 L/Ha y una alta de 2.0 L/Ha. Estas dosis se mezclaron con la dieta de la siguiente manera: se colocaron 125 ml de dieta y homogenizaron con una licuadora durante 5 min, esto se colocó en 25 vasos de 1 oz, considerado un tratamiento, realizado por triplicado. Posteriormente se colocó una larva neonata por vaso y una tapa de cartón para absorber humedad (Roel *et al.*, 2010).

Efecto antialimentario. Se realizaron tres tratamientos, cada uno con cinco plántulas sembradas por separado en maceteros. Dos tratamientos fueron rociado con dosis alta de los productos Agroneem y PHC respectivamente y el tercero sin tratamiento. A cada plántula se le colocaron 10 larvas neonatas, después de 5 días se colectaron las hojas y se utilizó el programa Compu Eye, Leaf & Symptom para medir el porcentaje de daño. (Figura 1).

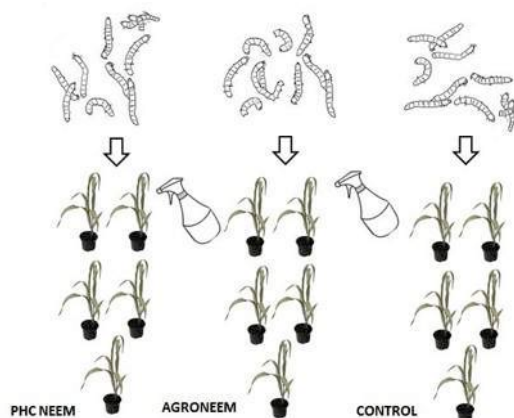


Figura 1. Bioensayo de efecto antialimentario.

Disuasión de oviposición. Se colocaron 5 plantas por jaula las cuales se rociaron con la dosis alta de PHC Neem y Agroneem y la tercera jaula será el control. Se introdujeron 30 adultos por jaula. Por día se tomarán muestras y se contaron las masas de huevos de cada tratamiento (Figura 2). (Hasan y Ansari, 2011).

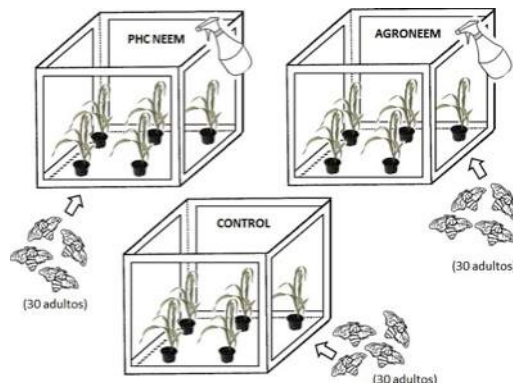


Figura 2.- Bioensayo de disuasión de oviposición.



Análisis Estadísticos. Los resultados se analizaron con una prueba de análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparaciones múltiples Tukey con el programa Minitab 17. Para el efecto antialimentario el porcentaje de daño de hojas se utilizó el programa Compu Eye, Leaf & Symptom.

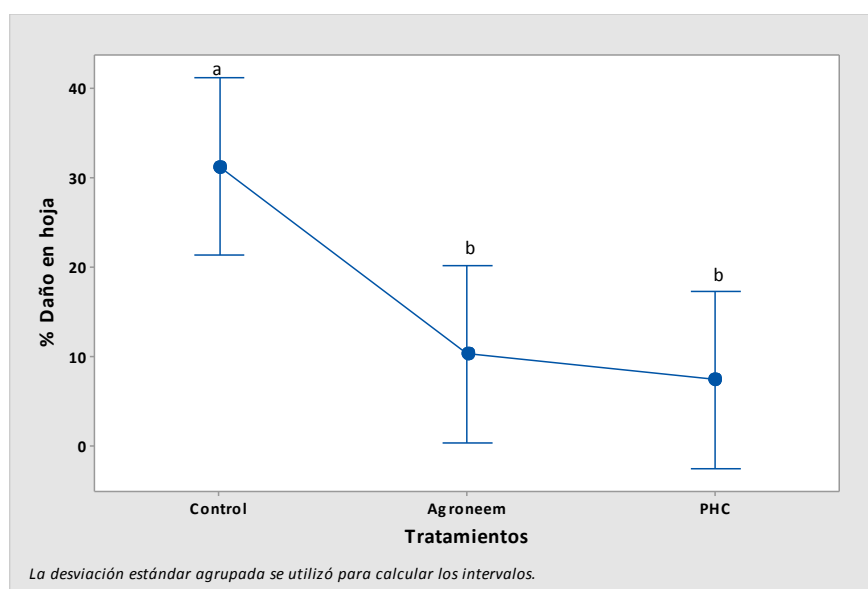
Resultados

Los efectos de toxicidad fueron nulos menos del 10 %, sobreviviendo más del 90 % de larvas neonatas en todos los tratamiento ver tabla 1.

Tabla 1.- Porcentajes de sobrevivencia analizados con ANOVA $p=0.05$, $F=3.65$, $gl=4$. Comparación múltiple Tukey

Tratamiento	Porcentajes de sobrevivencia
Control	98.67± 2.31 a
PHC Neem dosis baja	97.33 ± 4.62 ab
PHC Neem dosis alta	90.67 ± 4.62 b
Agroneem dosis baja	97.33 ± 2.31 ab
Agroneem dosis alta	100.0 ± 0.0 ab

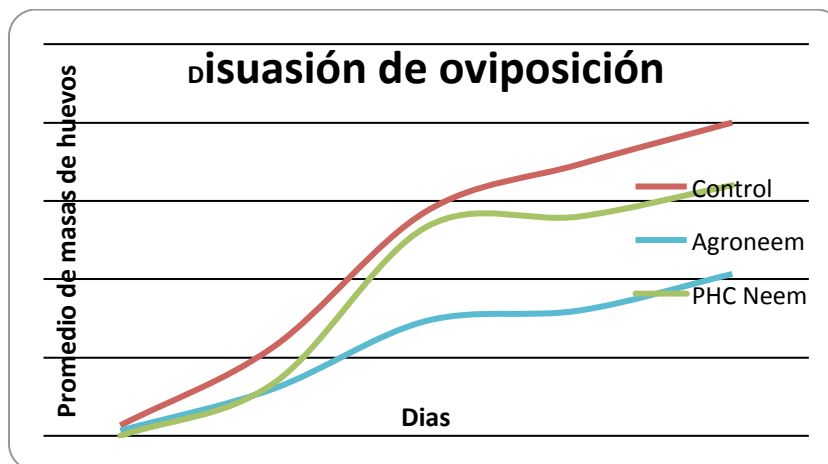
En el efecto antialimentario vemos una disminución en su alimentación de un 20 % en los tratamientos con agroneem y PHC ver grafica 1.



Grafica 1.- Efecto antialimentario. ANOVA $P=0.05$, $F=10.31$, $gL=2$, Comparación múltiple Tukey.



Por otra parte en el efecto de disuasión de oviposición el ANOVA nos da un $F= 0.71$, $gl= 2$ y un valor $P= 0.527$ donde nos indica que no existen diferencias significativas en los tratamientos con los productos del neem y el control ver gráfica 2.



Gráfica 2.- Efecto de disuasión de oviposición.

Discusiones

Greenberg *et al* 2005 realizó bioensayos con *Spodoptera exigua* en donde determinó que existió una disminución de oviposición, sin embargo el mismo autor menciona que lepidópteros como *Helicoverpa armigera* no muestran disuasión de oviposición. Para nuestro estudio con *Spodoptera frugiperda* no mostró disminución de oviposición en los tratamientos con los productos de neem, ni toxicidad hacia larvas neonatas contradiciendo el estudio de Railda-Roel *et al* 2010 donde demostró una toxicidad del 44 % con una concentración aceite de neem al .05% hacia *S. frugiperda*, en este estudio hay que tomar en cuenta que las concentraciones de aceites de neem son mucho más altas, que las concentraciones de los productos Agroneem y PHC contienen, esto es importante ya que para alcanzar una toxicidad en campo tendríamos que aplicar más de 3 L de estos productos lo que tendría un costo elevado. Por otro lado los productos aplicados con las dosis recomendadas por el fabricante muestran efectos antialimentario dándole protección a las plantas disminuyendo la defoliación de la larva en las hojas.

Agradecimientos. Los autores agradecen al financiamiento de Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas y la Secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional.

Bibliografía

- Bautista-Martínez Néstor. 2006. Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados.
- del Rincón-Castro, M. C., Méndez-Lozano, J., Ibarra, J. E. 2006. Caracterización de cepas nativas de *Bacillus Thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Entomológica Mexicana* pag 45(2):157-164.
- Greenberg S. M., Showler A. T. and Liu T. X. 2005. Effects of neem-based insecticides on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Science*. 12: 17-23.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Hasan, F., Ansari, M. S. 2011. Toxic effects of neem-based insecticides on *Pieris brassicae* (Linn.). *Crop Protection* 30, pp 502-507.
- Osuna-Leal, E. 2002. Potencialidades y manejo del neem. Memoria Técnica Núm. 1. INIFAP-Campo Experimental Todos Santos. La Paz, B.C.S., México. 102 p.
- Roel, A. R., Dourado, D. M., Matias, R., Porto, K., Bednaski, A., da Costa, R. 2010. The effect of sub-lethal doses of *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil on the midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). *Entomol* 54(3):505–510.
- Saxena, R. C., Liquido, N. J., Justo, H. D. 1980. Neem seed oil, a potential antifeedant for the control of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. In: Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* Juss.) Proc 1st. Int. Neem Conf., pp189-203. Rottach-Egern.
- Van der Nat, J. M., Van der Sluis, W. G., De Silva, K., Labadie, R. P. 1991. Ethnopharmacognostical survey of *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Ethnopharmacology* 35, pp 1–24.



ÁREAS DE RIESGO POR TEMPERATURA PARA *Diaphorina citri*, EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS, MÉXICO

Misael Erasmo Hernández-Ramos¹, Virginia Vargas-Tristan¹, Sóstenes Edmundo Varela-Fuentes¹, Ricardo Álvarez-Ramos², Omán Fernando Hernández-Ramos¹ y Elizabeth Andrade Limas¹. Universidad Autónoma de Tamaulipas¹. ¹Facultad de Ingeniería y Ciencias. UAT. Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Tamaulipas, CESAVETAM². Correo electrónico: misael_82@hotmail.com.

Resumen. El sector citrícola del estado de Tamaulipas, México, se ha visto amenazado actualmente por el Huanglongbing (HLB), enfermedad considerada como devastadora, que ha ocasionado pérdidas económicas en la citricultura. Por lo que es necesario determinar las áreas de incidencia del insecto vector (*Diaphorina citri*), con la finalidad de ubicar las zonas con las condiciones ambientales que favorezcan su desarrollo. El objetivo fue generar espacial y temporalmente las zonas de riesgo para el desarrollo de *D. citri*, mediante variables de temperatura máxima y mínima y grados día de desarrollo (GDD). Se generó una base de datos de 156 estaciones meteorológicas con las variables mencionadas, a la cual se le aplicaron cuatro funciones de distribución probabilística (Normal, Log-Normal, Raíz cúbica y Gamma-Incompleta), se utilizó el método residual para la estimación de los GDD, con el cero biológico de la especie *D. citri*, además de sus umbrales de temperatura. Para la generación de la cartografía de riesgo se utilizó el modelo espacial de kriging. Se encontró que el vector presenta una temperatura base de 10°C y un rango óptimo entre 27-28°C y umbrales máximos y mínimos de 45 y -7°C. Como resultado de este proceso se generó la cartografía de riesgo al 80% de probabilidad. Se encontró que un total de 1'756,400 hectáreas son potencialmente aptas para la presencia del insecto, cifra que equivale al 22.43% del total de la superficie estatal, ubicada en los Municipios de Güémez, Victoria, Padilla y Llera de Canales. La enfermedad recientemente se encontró en los Municipios de Madero, Tula, Bustamante y Jaumave, ubicados en las zonas sur y suroeste y en los Municipios de Río Bravo y Reynosa ubicados en el norte de Tamaulipas. Sobreponiendo la información encontrada en este trabajo con las áreas reportadas, la enfermedad aún no se encuentra para la zona centro.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, Huanglongbing, temperatura, riesgo.



EFFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE SPINOSAD EN PARÁMETROS DE SOBREVIVENCIA Y REPRODUCTIVOS DE *Aedes aegypti* (L.)

Samanta Del Río-Galván¹, Adriana E. Flores-Suárez¹, María Cecilia Hernández-Rubio² y Gustavo Ponce-García¹. ¹Laboratorio de Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66450, México. gponcealfa@gmail.com ²Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México.

Resumen. Se determinó el efecto de concentraciones subletales (CL₃₀, CL₅₀, y CL₇₀) de Spinosad, con la formulación comercial Natular[®] EC en una población de *Aedes aegypti* sobre parámetros reproductivos y de sobrevivencia. Las concentraciones utilizadas fueron CL₃₀ (0.033 ppm), CL₅₀ (0.055 ppm) y la CL₇₀ (0.092 ppm). El mayor tiempo de sobrevivencia se presentó en la CL₇₀. Para los períodos de pre y oviposición el mayor número de días se obtuvo en la CL₃₀, al igual que en el tiempo de desarrollo (51.00±29.30 días). El mayor número de huevos ovipuestos se obtuvo también en la CL₃₀. La tasa neta reproductiva fue menor al control, excepto para la CL₅₀, la Tasa Reproductiva Bruta se incrementó conforme aumentó la concentración, la menor tasa finita de crecimiento fue menor en los tratamientos, al igual que la tasa intrínseca de crecimiento. El tiempo de duplicación fue mayor en la CL₇₀. Se concluye que las dosis subletales de spinosad afectan los parámetros de sobrevivencia y reproductivos, por lo tanto, es necesario mantener las concentraciones a niveles letales en los hábitats de las larvas.

Palabras clave: *Ae. aegypti*, concentraciones subletales, tablas de vida, spinosad.

Introducción

Aedes aegypti (L., 1758) es el principal vector de dengue en América. Su control está dirigido tanto a los estadios larvales como a los adultos, se utilizan distintas técnicas, la principal es la aplicación de insecticidas organofosforados y piretroides (Hertlein, *et al.*, 2010). Sin embargo, un gran número de vectores ha desarrollado resistencia a los insecticidas sintéticos, por lo que el uso de bioinsecticidas como el Spinosad, representan una alternativa, debido a su rápida degradación, baja toxicidad en humanos y un reducido riesgo ambiental (Pineda, *et al.*, 2007; Antonio, *et al.*, 2008).

Spinosad es producto de la fermentación aeróbica del actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* Mertz y Yao. Es altamente activo por ingestión y por contacto en numerosas plagas, incluyendo al orden Diptera (Hertlein, *et al.*, 2010). Se ha demostrado que es altamente tóxico para *Ae. aegypti* y *Anopheles albimanus* Weidemann, bajo condiciones controladas (Bond, *et al.*, 2004), además del efecto subletal causado sobre el desarrollo, la longevidad y la reproducción, afecta la fecundidad y fertilidad de los adultos, lo cual se refleja en la dinámica poblacional ya que reduce la tasa de crecimiento (Pineda, *et al.*, 2007).



En el presente trabajo se determinan los efectos subletales de spinosad en una población de *Ae. aegypti* sobre los parámetros de sobrevivencia y reproducción.

Materiales y Métodos

Se colectaron larvas de *Ae. aegypti* en el municipio de San Nicolás de Los Garza, Nuevo León. Se mantuvieron hasta adultos, a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$, con $70\% \pm 2$ de Humedad Relativa y un fotoperiodo de 12:12 horas, en el laboratorio de Fisiología y Toxicología, en la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Las larvas obtenidas de la oviposición de las hembras, se utilizaron para el presente estudio. Las larvas se mantuvieron en agua de cloro, en charolas de plástico (35 x 35 cm) y se alimentaron *ad libitum* con hojuelas para peces, finamente molidas.

Determinación de las dosis subletales

Para determinar la susceptibilidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* se realizaron bioensayos bajo la metodología de la WHO (1981), se utilizó el insecticida comercial Natular[®] EC, Clarke, (239g/L). Se empleó agua destilada para preparar las diluciones. Los resultados se analizaron por medio del software IRMA de dosis-respuesta (Lozano-Fuentes, *et al.*, 2010) y posteriormente se obtuvo la CL_{30} , CL_{50} , y CL_{70} .

Efectos subletales de Spinosad

Se tomó una cohorte de individuos (huevos) provenientes de la colonia antes establecida en el insectario de la Facultad Ciencias Biológicas de la UANL, los cuales se incubaron por 24h; las larvas obtenidas se mantuvieron hasta el estadio III y posteriormente se expusieron a diferentes dosis subletales: CL_{30} , CL_{50} , y CL_{70} de Spinosad (Natular[®] EC). Las larvas muertas se contaron y eliminaron 24 horas después de la exposición. Las larvas vivas se transfirieron a agua de cloro y se alimentaron *ad libitum* con hojuelas para pez finamente molidas. Una vez en el estado de pupa se colocaron en cámaras de emergencia para la obtención de adultos, los cuales se contaron y se reconoció el sexo para determinar la proporción sexual. Se registró la duración del ciclo de desarrollo y la sobrevivencia y fecundidad diarias, hasta la muerte de la última hembra. De acuerdo a la metodología de Birch (1948) se evaluó: la Edad (x), el número de individuos vivos al inicio de x (n_x), la Proporción de vivos en cada x (l_x sobrevivencia), el Promedio hijas/madre/ x (m_x fecundidad), la Tasa reproductiva neta (R_0), la Tasa Reproductiva Bruta (TRB), Tasa finita de crecimiento (l), Tiempo de cohorte (T_c), Capacidad de crecimiento (r_m), el Tiempo generacional (TG), la Tasa instantánea de natalidad (b), la Tasa instantánea de mortalidad (d) y el Tiempo de duplicación. Para comparar la fecundidad total y media diaria, el ciclo de desarrollo y el número de hembras en las diferentes concentraciones se utilizó el análisis de varianza y la comparación múltiple de medias de Tukey. Las curvas de supervivencia se compararon mediante la prueba de Log_{Rank} (Méndez, *et al.*, 1984). Las longevidades obtenidas en cada concentración se compararon con el método de Log-rank. El nivel de significancia empleado en todas las pruebas estadísticas fue de 5%.



Resultados y Discusión

Las concentraciones subletales promedio de CL₃₀, CL₅₀ y CL₇₀ de Natular[®] EC determinadas fueron: CL₃₀ = 0.033 ppm (0.26-0.04 mg), CL₅₀ = 0.055 (0.046-0.065 mg) y CL₇₀ = 0.092 (0.077-0.116 mg).

Sólo la sobrevivencia en la CL₇₀ fue mayor respecto al control (Log-rank, P < 0.05). Esto indica que el insecticida tiene un efecto sobre este parámetro, por lo que la mayor sobrevivencia se presenta en la concentración más alta (cuadro 1).

Cuadro 1. Comparación de los tiempos de sobrevivencia por el método de Log-rank de *Ae. aegypti* expuestos a diferentes concentraciones subletales de Natular[®] EC.

		X ² obtenido	X ² crítico	Resultado
Control	CL ₃₀	3.71	3.84	-
Control	CL ₅₀	0.09	3.84	-
Control	CL ₇₀	32.38	3.84	SD
CL ₃₀	CL ₅₀	3.03	3.84	-
CL ₃₀	CL ₇₀	43.094	3.84	SD
CL ₅₀	CL ₇₀	33.98	3.84	SD

El tiempo de preoviposición fue mayor en la CL₃₀ (7 días) al igual que el de oviposición (101 días) y conforme aumenta la concentración, éste disminuye: CL₅₀ (6 días), CL₇₀ (5 días) lo cual se refleja en el número de generaciones, ya que disminuyen conforme aumenta la concentración.

La longevidad fue mayor en la CL₃₀, lo que aunado con los períodos de oviposición, en esta concentración el número de generaciones podría aumentar, ya que la cantidad de días que tienen para ovipositar es mayor (Cuadro 2).

Cuadro 2. Medias ±DE del número de huevos ovipuestos diariamente de hembras de *Ae. aegypti* en cada tratamiento

Tratamientos	Control	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
Media±DE	35.00±20.06a	51.00±29.3b	40.00±22.95a	40.00±22.95a

Letras diferentes representan diferencias significativas, Tukey p < 0.05

Tiempo de desarrollo

Las larvas sometidas a la CL₃₀ mostraron el mayor tiempo de sobrevivencia (ANOVA, P=0.05), lo que demuestra que bajas concentraciones de Spinosad aumentan el tiempo de desarrollo del ciclo, resultados semejantes obtuvieron Antonio, *et al.*, (2008) quienes no encontraron diferencias significativas entre la CL₅₀ y el control (cuadro 1).

Proporción sexual

Los resultados (Cuadro 3) indican una proporción mayor de hembras que de machos en todos los tratamientos, donde en la CL₇₀ hubo un mayor número de hembras respecto a los otros



tratamientos, en los cuales las proporciones son similares. Sin embargo, al compararlo con el control es evidente que el insecticida tuvo un efecto positivo sobre las hembras. Por el contrario, Flores, *et al.* (2004) encontraron que *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) en las mismas concentraciones (CL₃₀, CL₅₀, y CL₇₀) tuvo un efecto positivo hacia los machos.

Cuadro 3. Proporción sexual (hembras:machos) de larvas sobrevivientes de *Ae. aegypti* expuestas a concentraciones subletales de Spinosad (Natular® EC)

Tratamientos	Control	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
Hembras:Machos	1.95:1	1.22:1	1.21:1	1.39:1

Parámetros de crecimiento

Los parámetros de crecimiento se muestran en el cuadro 4 y se basan en las tablas de sobrevivencia y fecundidad (Birch, 1948).

Respecto a la tasa reproductiva neta (R_0), el mayor número de hembras producidas por una hembra, se observó en la CL₅₀ y la menor en la CL₇₀. Flores, *et al.* (2004), obtuvieron el mismo resultado en larvas sometidas a *Bti*, sin embargo, todas las concentraciones fueron mayores al control, caso contrario a lo encontrado con Spinosad en este trabajo, donde sólo en la CL₅₀, R_0 es mayor.

La Tasa Reproductiva Bruta (TRB) aumentó conforme aumentó la concentración de Spinosad, sin embargo, los mosquitos expuestos a la CL₃₀ obtuvieron una TRB menor a la del control. Estos resultados se reflejan en el aumento de la R_0 en concentraciones por arriba de la CL₃₀.

La tasa intrínseca de crecimiento (r_m) fue menor en los tratamientos respecto al control (0.339), ésta estima la capacidad de crecimiento de una población, lo cual demuestra que el insecticida ejerce un efecto negativo sobre la población y lo mismo ocurre con la tasa finita de crecimiento (l), la cual es menor en los tratamientos que en el control, en donde se observa que el incremento por cada individuo presente será menor en los organismos tratados, respecto a los no tratados. Guedes, *et al.*, (2010), determinaron un pico en la R_0 en picudos del maíz (*Sitophilus zeamais*) tratados con dosis subletales de deltametrina, que a su vez conducen a un pico en la tasa intrínseca de crecimiento.

El Tiempo Generacional (T_G) fue mayor en los tratamientos, respecto al control (12.76), donde el valor más alto se registró en la CL₇₀ (27.78), 2.2 veces mayor que el control, resultados similares se obtuvieron en mosquitos tratados con *Bti* (Flores, *et al.*, 2004).

El Tiempo de Duplicación fue menor en el control (2.044) que los tratamientos, con el valor más alto en la CL₇₀ (5.074).



Cuadro 4. Valores de parámetros reproductivos de *Ae. aegypti* expuestos a diferentes concentraciones subletales de Natular EC[®] y el grupo control

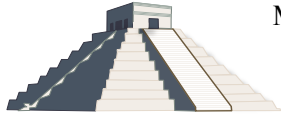
	Control	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
Tasa reproductiva neta (R ₀)	75.71	67.60	78.74	44.49
Tasa Reproductiva Bruta (TRB)	466.32	319.08	603.49	769.05
Tasa finita de crecimiento (l)	1.40	1.19	1.22	1.14
Tiempo de cohorte (T _c)	39.44	40.98	34.58	40.95
Tasa intrínseca de crecimiento (r _m)	0.339	0.1762	0.2069	0.1366
Tiempo generacional (T _G)	12.76	23.91	21.09	27.78
Tasa instantánea de natalidad (b)	0.1545	0.1797	1.02	0.22
Tasa instantánea de mortalidad (d)	-0.1844	0.003	0.814	0.089
Tiempo de duplicación	2.044	3.93	3.34	5.074

La respuesta de los insectos a insecticidas en dosis bajas, generalmente no es tomada en cuenta en los programas de manejo de plagas, sin embargo, es importante considerarlos porque se ha comprobado que la exposición a niveles altos de agentes de estrés (como químicos, antibióticos, hormonas, radiación, etc.) manifiestan una respuesta inhibitoria, mientras que niveles bajos (leves, subletales o subtóxicas) son estimulantes. Asimismo niveles moderados de estrés químico (por ejemplo, plaguicidas) pueden dar lugar a una mayor reproducción que se ha asociado con el resurgimiento de plagas (USDA, 2006, Kending, *et al.*, 2010).

En conclusión, el incremento en los niveles subletales de spinosad afectan de manera negativa los parámetros de sobrevivencia y reproductivos, lo que confirma los resultados de Antonio, *et al.*, (2008), por lo tanto, es necesario mantener las concentraciones a niveles letales en los hábitats de las larvas.

Literatura citada

- Antonio, G.E., Sánchez, D., Williams, T. and Marinca, C.F. 2008. Paradoxical effects of sublethal exposure to the naturally derived insecticide spinosad in the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. *Pest Manag Sci* 65: 323–326
- Birch LC. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J Anim Ecol* 17:15-26.
- Bond, J. G., C. F. Marina, and T. Williams. 2004. The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Med. Vet. Entomol.* 18: 50-56.
- Flores, A.E., G. Ponce, M.H. Badii, M. L. Rodriguez-Tovar, I. Fernandez-Salas. 2004. Effects of sublethal concentrations of vectobac[®] on biological parameters of *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(4):412-417.
- Kendig, E.L., Le, H.H., Belcher, S.M. 2010. Defining hormesis: evaluation of a complex concentration response phenomenon. *Int. J. Toxicol.* 29:235–246
- Mark B. Hertlein, Costas Mavrotas, Christian Jousseau, Michael Lysandrou, Gary D. Thompson, William Jany, and Scott A. Ritchie. 2010. A Review of Spinosad as a natural product for larval mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26(1):67-87.
- Pineda, S., M. I., Schneider y A.M., Martínez. 2007. Spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. *Ciencia Nicolaita*, (46): 29-42.
- USDA. 2006. Pesticide-mediated homeostatic modulation in arthropods En línea: <http://openagricola.nal.usda.gov/Record/IND43822960>
- World Health Organization (WHO). 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981. WHO/VBC/81.807. 6p. Geneva. Switzerland.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



LIBERACIÓN Y EVALUACIÓN



EVALUACIÓN DE CRISOPA SOBRE EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS EN HUERTAS COMERCIALES DE LIMÓN PERSA EN EL NORTE DE SINALOA

Edgardo Cortez-Mondaca¹; Martín Santana Montoya-Flores², Isabel López-Arroyo³, Miguel Ángel López¹, Fernando A. Valenzuela-Escoboza⁴. ¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental Valle del Fuerte. Juan José Ríos, Sinaloa. ²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Km.17.5, carret. Culiacán-El Dorado, Culiacán, Sinaloa. ³INIFAP-Campo Experimental General Terán. General Terán, Nuevo León. ⁴Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte-UAS. Avenida Japaraqui y Calle 16, Juan José Ríos, Sinaloa. cortez.edgardo@inifap.gob.mx

Resumen. El objetivo del estudio fue evaluar liberaciones de huevo de *Chrysoperla comanche* sobre el psílido asiático de los cítricos en dos huertas comerciales de limón Persa, en el norte de Sinaloa. Para observar el efecto de la crisopa comanche sobre el psílido se realizaron muestreos previos a la liberación y cinco días después, contabilizando sus inmaduros en 20 brotes tiernos; en el tratamiento testigo comercial el control del insecto plaga se realizó con aplicaciones de insecticidas convencionales. El control mostrado por el depredador *C. comanche* fue similar al control químico con aplicaciones de dos y tres insecticidas convencionales de amplio espectro por huerto; el porcentaje de depredación de crisopa sobre inmaduros de *D. citri* fluctuó entre el 50 y 100%. Se recomienda validar en huertos comerciales, en áreas regionales de control, el efecto de crisopa comanche sobre poblaciones del PAC.

Palabras Clave: *Control biológico, Depredación, Chrysoperla comanche.*

Introducción

En el estado de Sinaloa se han reportado diferentes especies de enemigos naturales del psílido asiático de los cítricos (PAC) *Diaphorina citri* Kuwayama, el parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) y diferentes depredadores (Cortez *et al.*, 2010) entre los que sobresale por su abundancia y frecuencia la crisopa *Chrysoperla comanche* (Banks) y la crisopa carga basura *Ceraeochrysa valida* (Banks) (Cortez *et al.*, 2011). La crisopa representa una interesante alternativa para el control biológico del PAC debido a que es reproducida masivamente en laboratorios de cría a lo largo y ancho de la República Mexicana. El objetivo del estudio fue evaluar liberaciones de huevo de *Chrysoperla comanche* sobre el psílido asiático de los cítricos en huertas comerciales de limón Persa, en el norte de Sinaloa.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en dos huertos comerciales de limón Persa, de dos años de edad, en el norte de Sinaloa: 1. Ubicada en el Ejido Dolores, en el Valle del Carrizo, Ahome, Sinaloa, 26°21'25.4118" N, 108°59'22.668" O, con una superficie de 20 ha. 2. Ubicada en el Campo El Amapal, Juan José Ríos, Sinaloa, 25°51'24.0"N, 108°45'02.9"O, en de 24 ha. En cada huerta se utilizó la mitad de la superficie como tratamiento testigo comercial y la otra parte como



tratamiento de liberación de crisopa (control biológico). El periodo de la evaluación fue de agosto a noviembre de 2013.

Tratamientos: 1. Manejo convencional con insecticidas sintético convencionales para el combate de *D. citri*; en la huerta El Carrizo, se realizaron tres aspersiones de insecticidas durante el periodo de evaluación: 1. Bifentrina (Talstar[®] 100 CE) 1.0 ml/L de agua (500 ml/ha), el 15 de septiembre de 2013; 2. Imidacloprid + Lambda cyalotrina (Engeo[®]) 1.0 ml/L de agua (500 ml/ha), el 05 de octubre de 2013; y Bifentrina (Talstar[®] 100 CE) 1.0 ml/L de agua (500 ml/ha), el 25 de octubre de 2013. En la huerta El amapal se realizaron dos aplicaciones de insecticidas: 1. Spinetoram (Palgus[®]) 0.5 ml/L de agua (150 ml/ha), el 15 de septiembre; y Spinetoram (Palgus[®]) 0.5 ml/L de agua (150 ml/ha), el 01 de noviembre de 2013. 2. Liberaciones de crisopa en estado de huevo, sin aspersiones de plaguicidas, utilizando 30 huevos/planta, lo que equivale a 12,480 huevos/ha para la huerta El Carrizo y 6,240 huevos/ha para la huerta El Amapal, la diferencia en la cantidad de huevo de crisopa liberado se debió al número de plantas/ha: 416 plantas/ha en la huerta El Carrizo (marco de 4 x 6 m) y 208 plantas/ha, la mitad, en la huerta de Juan José Ríos (marco de 6 x 8 m). Los huevos del depredador se colocaban en cada planta, adheridos en una cartulina de alrededor de 8.0 cm de largo por 1.5 cm de ancho, colocadas colgadas con un clip próximas a brotes tiernos susceptibles de estar infestados con el PAC. La primera liberación de crisopa se realizó el 16 de agosto y el 30 de agosto de 2013, en las huertas El Amapal y El Carrizo, respectivamente; las liberaciones posteriores se realizaron cada dos semanas; la última liberación fue el 06 y 08 de noviembre de 2013, para la huerta El Amapal y El Carrizo, respectivamente. En total se realizaron siete liberaciones de crisopa en El Amapal y seis en El Carrizo.

Previo a cada liberación de crisopa se realizó un muestreo en ambos tratamientos para estimar la cantidad de especímenes del PAC en las etapas de huevo, ninfas chicas y ninfas grandes en 20 brotes tiernos de limón, contabilizando mediante observación directa con lupas entomológicas (20X). Cinco días después de cada muestreo previo (liberación de crisopa), se repitió la inspección de inmaduros del PAC, en los mismos brotes tiernos previamente etiquetados, para obtener por diferencia la cantidad de especímenes depredados.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar considerando como repetición cada brote tierno y cada fecha de muestreo. Los datos por estado de desarrollo del insecto plaga se sometieron a un análisis de varianza y las medias se separaron mediante la prueba Tukey (5%). Para las variables promedio poblacional de inmaduros de *D. citri*, depredación de *D. citri* por crisopa, reducción de población *D. citri* en muestreo previo y cinco días después, se realizó una prueba de estadística no paramétrica (Kruskal Wallis) para diseño completamente al azar.

Resultados y Discusión

En el ANVA por cada estado de desarrollo, huevo, ninfa chica y ninfa grande, no se obtuvo diferencia significativa entre tratamientos en la huerta El Amapal y en la Huerta El Carrizo se obtuvo diferencia significativa para ninfa chica ($p < 0.05$) a favor del tratamiento de liberación de



crisopa. En el ANVA de la diferencia promedio poblacional (expresada en porcentaje) en muestreo previo y cinco días después de la liberación de crisopa y control químico en el tratamiento testigo, no se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos, respecto a la cantidad de inmaduros del PAC.

El promedio de reducción poblacional de inmaduros del PAC en la huerta El Amapal fluctuó entre el 20 y el 80% en los dos tratamientos evaluados (Fig. 1), y en la huerta El Carrizo fluctuó entre el 0 y el 70% para el tratamiento de crisopa y entre 20 y 40% para el tratamiento testigo (Fig. 2) y no hubo diferencia entre el tratamiento testigo comercial con aspersiones de insecticidas (dos aspersiones para la huerta El Amapal y tres aplicaciones para la huerta El Carrizo) con huertas con liberación de crisopa comanche.

La diferencia en promedio de especímenes inmaduros en valores reales de *D. citri*, entre el muestreo previo a la liberación del depredador y cinco días después, cuando ya el depredador debía encontrarse en larva de segundo instar, muestra diferencias notables y arrojan diferencia significativa para los resultados de ambas huertas. En la huerta El Amapal con un estadístico de prueba $H = 24.2371$ respecto a $JI\text{-Cuadrada} (0.05) = 3.8415$ y $JI\text{-Cuadrada} (0.01) = 6.6349$. En El Carrizo $H = 26.6934$ respecto a $JI\text{-Cuadrada} (0.05) = 3.8415$ y $JI\text{-Cuadrada} (0.01) = 6.6349$. Las gráficas muestran mayor reducción poblacional en la huerta El Carrizo, aunque también la población previa fue ligeramente menor para la misma huerta, ya que la población más alta no rebasó los 50 especímenes, mientras que en El Amapal en la mayoría de los muestreos estuvo por encima de 60 ejemplares del PAC. De ésta forma se corrobora el efecto del depredador sobre la población plaga.

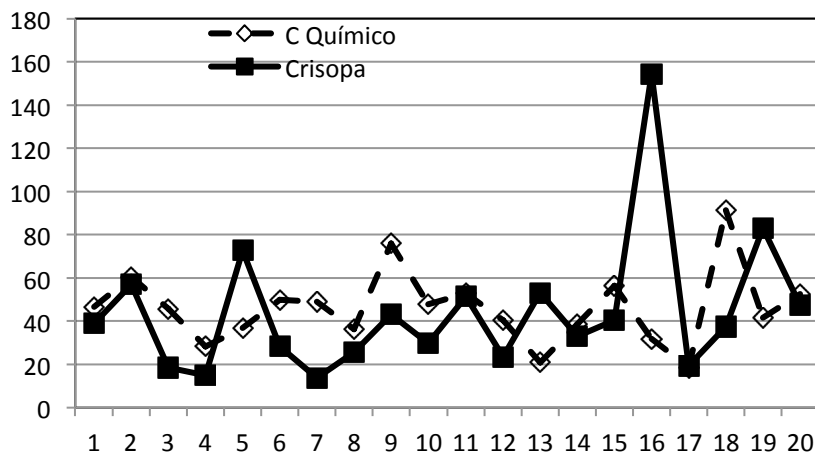


Figura 1. Porcentaje promedio poblacional de inmaduros de *D. citri* en 20 brotes tiernos a través de siete fechas de muestreos, en huerta El Amapal.

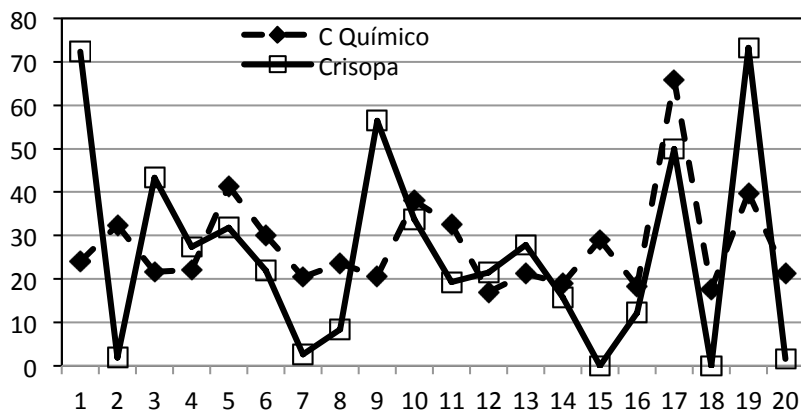


Figura 2. Porcentaje promedio poblacional de inmaduros de *D. citri* en 20 brotes tiernos a través de seis fechas de muestreos, en huerta El Carrizo.

El control mostrado por el depredador *C. comanche* fue similar al control químico con aplicaciones de dos y tres insecticidas convencionales de amplio espectro por huerto; el porcentaje de depredación de crisopa sobre inmaduros de *D. citri* fluctuó entre el 50 y 100%. Se recomienda validar en huertos comerciales, en áreas regionales de control, el efecto de crisopa comanche sobre poblaciones del PAC.

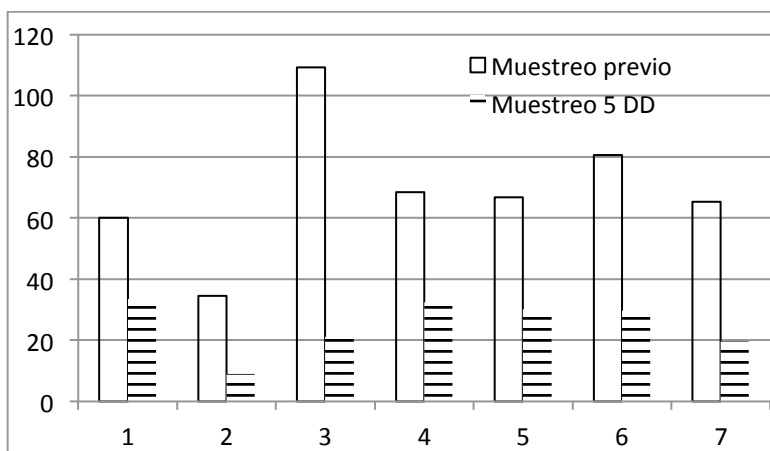


Figura 3. Promedio de especímenes de *D. citri* (huevo+ninfas) por liberación antes y después de liberación de crisopa, en huerta El Amapal. DD= días después.

El empleo de crisopa se propone como una alternativa que vendría a reducir la dependencia exclusiva del control químico para el control de *D. citri*, ya que el uso único de insecticidas eventualmente provocaría la selección de resistencia del insecto a los plaguicidas, así promueve la resurgencia de otros insectos plaga, tales como arador o negrilla *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead), minador de la hoja *Phyllocnistis citrella* Stainton, escamas como *Aonidiella aurantii* (Maskell) y *Aonidiella citrina* (Coquillett), mosca prieta *Aleurocanthus woglumi* Ashby, entre otras. Además se puede utilizar en lugares donde sea innecesaria o inadecuada la aplicación



de insecticidas; como en áreas urbanas, panteones, jardines, cultivos de traspatio, huertas orgánicas, huertas adyacentes a áreas urbanas, etc.

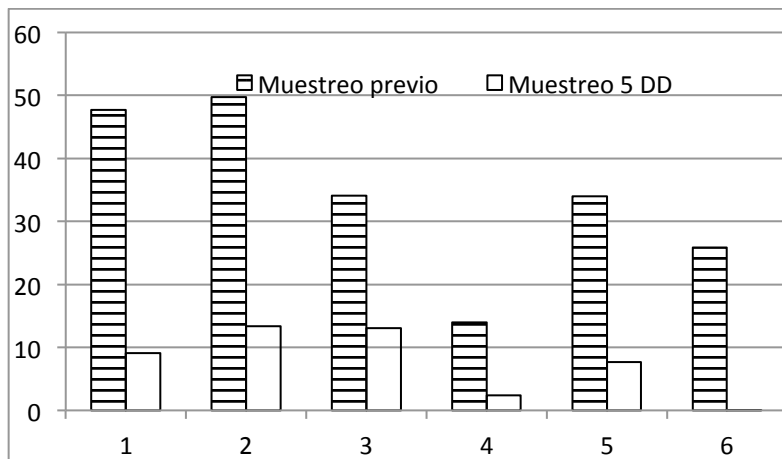


Figura 4. Promedio de especímenes de *D. citri* (huevo+ninfas) por liberación antes y después de liberación de crisopa, en huerta El Carrizo.

La propuesta de utilizar a crisopa comanche para el control biológico por aumento de *D. citri*, se sustenta también en que su técnica de cría está ampliamente difundida y desarrollada, y existe amplia infraestructura en el país para realizar su cría, ya que en cada estado hay al menos un laboratorio de reproducción de insectos benéficos y en la mayoría se reproduce alguna especie de *Chrysoperla* (Bahena, 2008; SENASICA, 2011),

Literatura Citada

- Bahena, J. F. 2008. Enemigos Naturales de las Plagas Agrícolas de Maíz y Otros cultivos. Libro Técnico Núm. 5. SAGARPA-INIFAP. Uruapan, Michoacán, México. 180 p.
- Cortez-Mondaca, E., Lugo-Angulo N.E., Pérez-Márquez, J., y Apodaca-Sánchez, M.A. 2010. Primer reporte de enemigos naturales y parasitismo sobre *Diaphorina citri* kuwayama en Sinaloa, México. Southwestern Entomologist. V. 35, P. 113-116,
- Cortez-Mondaca, E., López-Arroyo, J. I., L. Rodríguez-Ruiz, Partida-Valenzuela, M. P., Pérez-Márquez, J., y González-Calderón, V. M. 2011. Capacidad de depredación de especies de Chrysopidae asociadas a *Diaphorina citri* Kuwayama en los cítricos de Sinaloa, México. 2do Simposio Nacional Sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.
- SENASICA-Dirección General de Sanidad Vegetal. 2010. Plantas Productoras de Insectos Benéficos; Situación Actual y Perspectivas de la Red de Laboratorios Veterinarios y agronómicos en el País. Junio de 2010. <http://www.senasica.gob.mx/?id=2684>. Consultada en agosto de 2011.



REPORTE PRELIMINAR DE PARASITOIDES DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN CHIHUAHUA

Magali Ordoñez-García¹, Jesús Loya-Márquez², Claudio Rios-Velasco¹, David I. Berlanga-Reyes¹ y Juan L. Jacobo-Cuellar³. ¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ²Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Extensión Cuauhtémoc, Universidad Autónoma de Chihuahua, Av. Presa de la amistad # 2015. Barrio de la presa C.P 31510. ³Campo Experimental Sierra de Chihuahua, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Apdo. Postal 554. Hidalgo 1213. Zona Centro, C.P 31500, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Email: magali.ordonez@estudiantes.ciad.mx

Resumen. Se recolectaron larvas de diferentes estadios de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), en una parcela de maíz, ubicada en el ejido “Nuevo Zaragoza” del estado de Chihuahua, México en el año 2013, con el objetivo de identificar sus parasitoides y estimar su nivel de parasitismo. Las larvas fueron alimentadas con dieta artificial, bajo condiciones de laboratorio y observadas diariamente hasta la emergencia de parasitoides, o hasta que llegaron a la etapa adulta. De 1141 larvas recolectadas, 252 (22.08 %) mostraron parasitismo. Encontrando los siguientes parasitoides: *Meteorus rubens* (Nees), *Meteorus* sp, *Chelonus insularis* (Cresson), *Campoletis* sp. (Hymenoptera; Braconidae, Ichneumonidae) y *Lespesia* sp (Diptera: Tachinidae). Siendo *Meteorus* sp. y *Campoletis* sp. las especies más representadas con 66 (42.58 %) y 59 (38.06 %) respectivamente.

Palabras clave: Gusano cogollero, *Meteorus*, *Campoletis*, *Chelonus*, *Lespesia*

Introducción

El cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), es la principal plaga del maíz y otros cultivos en Latinoamérica (Hernández-Mendoza *et al.*, 2008), ocasionando reducciones en los rendimientos y por ende cuantiosas pérdidas económicas. Su control ha sido con insecticidas químicos, sin embargo, este método ha resultado ineficiente debido a su uso incorrecto e indiscriminado, además de causar intoxicaciones agudas a trabajadores agrícolas, inducción de aparición de resistencia, eliminación de enemigos naturales nativos, contaminación de suelos, entre otros (Tinoco y Halperin, 1998). Una alternativa a estos insecticidas, es el uso de enemigos naturales nativos (Rios-Velasco *et al.*, 2011), los cuales poseen grandes ventajas al no tener efectos nocivos en la salud humana y al ambiente, además de su especificidad y virulencia. A la fecha, han sido reportados varios enemigos naturales en México (Molina-Ochoa *et al.*, 2003; Molina-Ochoa *et al.*, 2004; Delfín-González *et al.*, 2007; Rios-Velasco *et al.*, 2011; Estrada-Virgen *et al.*, 2013). Dado lo anterior, el objetivo del trabajo fue identificar a los parasitoides de *Spodoptera frugiperda* y su nivel de parasitismo en Cuauhtémoc, Chihuahua, México.



Materiales y métodos

Recolección de enemigos naturales

Se recolectaron larvas de todos los estadios de *S. frugiperda* en una parcela de maíz en el ejido Nuevo Zaragoza, Municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua (28°41'2.48 N"; 106°47'53.67" O), las cuales fueron colocadas en contenedores plásticos de una onza (Convermex, Grupo Convermex, S.A. de C.V.), que contenían dieta artificial (Southland Products Incorporated). Dichas larvas fueron recolectadas en cuatro fechas de muestreo e incubadas a 26±2 °C, con >70 de humedad relativa, con un fotoperiodo 12:12 L: O. Los contenedores fueron revisados diariamente hasta la emergencia de parasitoides o hasta que las larvas de *S. frugiperda* llegaran a la etapa adulta (Cuadro 1). Los parasitoides obtenidos fueron colocados en etanol al 70 %. La extracción de ADN se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD), Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, usando el método de Moeller *et al.*(1992), para lo cual, se maceró en un mortero estéril de dos a tres insectos, adicionando 100 µL CHCl₃ (Cloroformo), para luego centrifugar a 14,000 rpm por 5 min y pasando la fase acuosa a un tubo Eppendorf limpio, precipitándolo con 100 µL de isopropanol a -70 °C por 1 h. Lo anterior se centrifugó por 15 min a 14,000 rpm, desechando el sobrenadante, luego se agregó 100 µL de ETOH, centrifugándolo a 14,000 por 3 min, desechando el sobrenadante y dejándolo secar, para luego re-suspenderlo en 30 µL de H₂O MQ estéril. El ADN obtenido fue examinado mediante electroforesis en geles de agarosa al 1 %, y el gen fue amplificado utilizando los iniciadores LCO (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994). Los amplicones de PCR, fueron clonados dentro del vector PCR4-TOPO (TOPO TA Cloning™ kits INVITROGEN) y enviados a la empresa MacroGen (Maryland, EUA) para su secuenciación, de acuerdo al método de Sanger (Sanger *et al.*, 1977). Las secuencias fueron comparadas contra la base de datos NCBI usando la base de datos del algoritmo de BLAST (Altschul *et al.*, 1990). El parasitismo fue calculado con base al número total de larvas de *S. frugiperda* recolectadas entre el número de larvas que resultaron parasitadas X 100.

Resultados y discusión

Parasitoides obtenidos

Se recolectó un total de 1141 larvas durante cuatro fechas de muestreo, de las cuales 252, se encontraban parasitadas, de estos, solo 155 emergieron himenópteros parasíticos de las familias Ichneumonidae y Braconidae, así como dípteros de la familia Tachinidae (Cuadro 1). Resultados similares fueron reportados por Molina-Ochoa *et al.* (2004) quienes encontraron larvas de *S. frugiperda* parasitadas por las familias Braconidae, Ichneumonidae y Eulophidae en un estudio realizado en los estados de Michoacán, Jalisco, Sinaloa, Nayarit, Veracruz y Colima para diferentes cultivos.



Los parasitoides encontrados fueron, *M. rubens*, *Meteorus* sp., *Campoletis* sp., *Ch. insularis* (Cresson) y *Lespesia* sp. (Cuadro 1). Estos resultados difieren con los encontrados por Delfín-González *et al.* (2007) quienes reportan a las especies de *Lespesia archippivora* (Riley), *Archytas marmoratus* (Townsend), *Winthemia* sp. y *Euplectrus platyhypenae* Howard en el estado de Yucatán y a los de Murúa *et al.* (2009) quienes reportan a *Campoletis grioti* (Blanchard), *Ch. insularis*, *A. marmoratus*, *Ophion* sp. *E. platyhypenae* e *Incamiya chilensis* (Aldrich), lo que sugiere una gran diversidad y variabilidad de especies de parasitoides, niveles de parasitismo y parasitoidismo dependiendo de la región geográfica, posiblemente por las diferencias con el agroclima propio de cada región.

Los parasitoides encontrados causaron un 22.08 % de parasitismo en larvas (Cuadro 1). Al respecto, Estrada-Virgen *et al.* (2013) reportan para el estado de Nayarit un parasitismo de 29.7 % superior a lo reportado en este estudio.

La especie con mayor representatividad fueron *Meteorus* sp. y *Campoletis* sp. con 66 (42.58 %) y 59 (38.06 %) de larvas parasitadas respectivamente. Al respecto Molina-Ochoa *et al.* (2003) reportan a la especie *Ch. Insularis* como la más representativa y ampliamente distribuida en Norteamérica y Centroamérica

Literatura citada

- Delfín-González, H., Bojórquez-Acevedo, M. and Manrique-Saide, P. (2007). Parasitoids or fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) from a traditional maize crop in the Mexican state of Yucatán. *Florida Entomol.* 90(4):759-761.
- Estrada-Virgen, O., Cambero-Campos J., Robles-Bermudez, A., Rios-Velasco, C., Carvajal-Cazola, C., Isiordia-Aquino, N. and Ruíz-Cancino, E. 2013. Parasitoides y entomopatogenos nativos asociados al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Nayarit, México. *Southwestern entomologist.* 38 (2):339-344.
- Hernández-Mendoza, J. L., López-Barbosa, E. C., Garza-González, E., and Pérez, M.N. 2008. Spatial distribution of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize landraces grown in Colima, México. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 28: 126-129.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294-299.
- Molina-Ochoa, J., Carpenter, J. E., Ledezma-Gutiérrez, R. Natural distribution of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in México. *Florida Entomol.* 87: 461-472.
- Moeller, E. M. 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. *Nucleic Acids Research*, 22(22): 6115-6116.
- Murúa, G., Molina-Ochoa, J and Fidalgo, P. 2009. Natural distribution of parasitoids of larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Argentina. *Journal of Insect Science.* 9(20).
- Rios-Velasco, C., Gallegos-Morales, G., Cambero-Campos, J., Cerna-Chávez, E., Del Rincón-Castro, M.C and Valenzuela-García, R. 2011. Natural enemies of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Coahuila, México. *Florida Entomol.* 94(3): 723-726.
- Sanger, F., Nicklen, S., y Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 74(12):5463-5467.
- Tinoco, R., and Halperin, D. 1998. Poverty, production and health: inhibition of erythrocyte cholinesterase through occupational exposure to organophosphate insecticides in Chiapas, México. *Arch. Environ. Health.* 53:29-



Cuadro 1. Parasitoides de *S. frugiperda* recuperados de larvas recolectadas en el ejido Nuevo Zaragoza, Cuauhtémoc, Chihuahua, 2013.

Fecha	Larvas colectadas	Larvas parasitadas	Parasitoides emergidos	% de parasitismo por fecha	Hymenoptera			Diptera	Muertos por causas desconocidas	
					Braconidae		Ichneumonidae	Tachinidae		
					<i>Meteorus rubens</i>	<i>Meteorus</i> sp.	<i>Chelonus insularis</i>	<i>Campoletis</i> sp.		<i>Lespesia</i> sp.
26-ago	116	20	16	17.24	1	5	1	9	0	15
10-sep	231	54	14	23.38	6	6	0	2	0	65
18-sep	525	151	108	28.76	12	50	2	44	0	48
21-sep	269	27	17	10.04	4	5	2	4	2	33
Total	1141	$\Sigma=252$	$\Sigma=155$	$\bar{x} = 19.86$	23	66	5	59	2	155/161



ESTIMACIÓN LINEAL DE PARÁMETROS DE DEPREDACIÓN

Badii, M.H., J.C. Chacon¹ & A. Guillen. UANL, San Nicolás de los Garza, N.L. & ¹UAAAN, Saltillo Coah., México

Introducción

El término Respuesta Funcional, fue acuñado originalmente por Salomón (1949) por la relación que describe la forma en que la densidad de presas afecta al número de presas atacadas por depredadores por unidad de tiempo. Las respuestas funcionales son por tanto, fundamentales para cualquier descripción de parasitismo o depredación. Posteriormente, en dos trabajos clásicos en 1959, Holling (1959a, b) hizo hincapié en la importancia de estas relaciones, y propuso una clasificación basada en tres tipos básicos de respuestas funcionales, y que representan diferencias en la proporción de presas disponibles en un tiempo fijo (Juliano 2001). Respuesta funcional tipo I, el número de presas consumidas aumenta linealmente a un máximo y luego se mantiene constante a medida que aumenta la densidad de presas (Figura 1A). Esto corresponde a una proporción constante de presas consumidas disponibles al máximo (independencia de densidad), seguido por una proporción decreciente de presas consumidas o muertas (Figura 1B) (Juliano 2001). Este tipo de respuesta refleja uno de los aspectos más realistas de modelos clásicos como los de Thompson (1930) y Nicholson & Bailey (1935). En éstos, las interacciones huésped-parasitoide ocurren en ambientes estacionales y con una tasa de depredación denso-independiente (Hassell 2000).

En el tipo II, el número de presas muertas se acerca a la asíntota y aumenta la densidad hiperbólica como incrementa la densidad de la presa (Figura 1C). Esto corresponde asíntoticamente a una proporción decreciente de presas muertas (dependencia inversa de la densidad; (Figura 1D) (Juliano 2001). En esta respuesta funcional (Figura 1C) aparece otro parámetro, además de la eficiencia de búsqueda, denominado "tiempo de manipulación o manipuleo" (T_m). Éste se define como el tiempo dedicado a perseguir, dominar, consumir y digerir las presas, y a prepararse para la siguiente búsqueda. Dado que el tiempo de búsqueda se reduce (por el tiempo de manipuleo), este tipo de respuesta resulta en un aumento desacelerado a medida que aumentan las presas consumidas, hasta llegar a una asíntota en la cual se expresa la máxima tasa de ataque (T_h/T_T) (T_T = Tiempo total de exposición depredador- presa) (Fernández-Arhex y Corley 2004). En consecuencia, tiempos de manipuleos largos conducen a bajas tasa de ataque y viceversa (Hassell 2000).

En el tipo III, el número de presas muertas se acerca a la asíntota en función sigmoidea (Figura 1E). Esto corresponde a un aumento en la proporción de presas muertas (dependencia de la densidad) hasta el punto de inflexión de la curva sigmoidea, seguido por una disminución en la proporción de presas muertas (Figura 1F) (Juliano 2001). Una curva sigmoidea es la que resulta en una respuesta de tipo III. Es decir, el número de presas consumidas por unidad de tiempo se



acelera con el aumento de la densidad de presas, hasta que el tiempo de manipuleo empieza a limitar su consumo (Figura 1E) (Fernández-Arhex y Corley 2004).

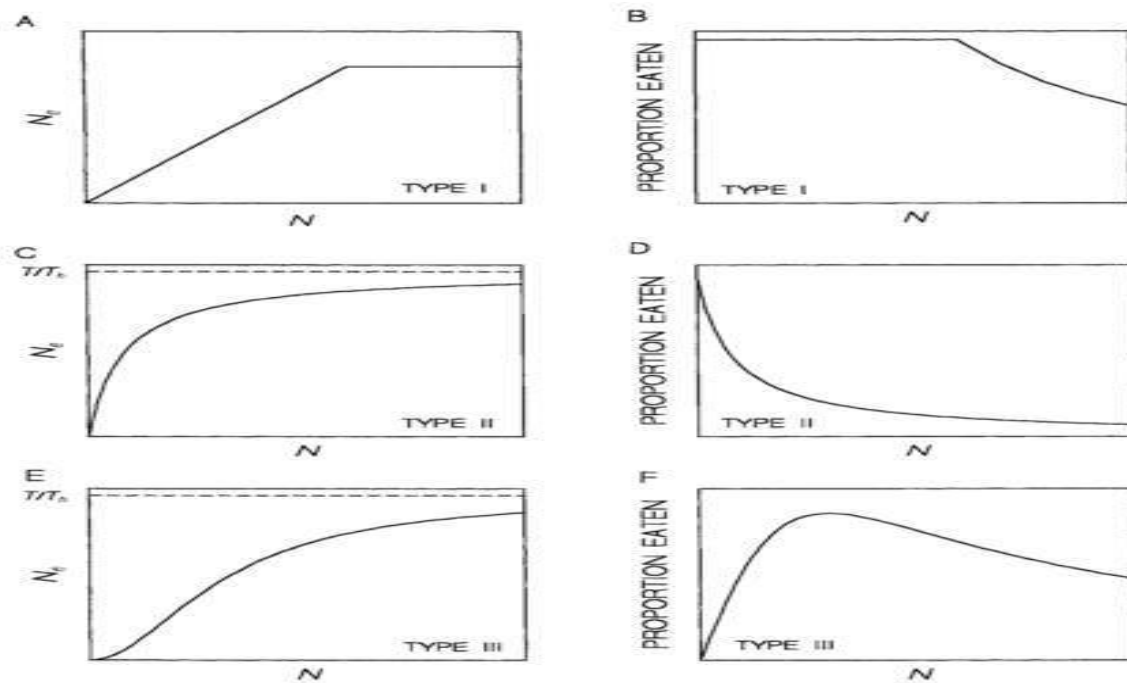


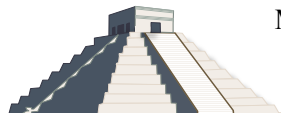
Figura 1. Tipos de respuesta funcional entre el número de presas ofrecidas (N) y atacadas por depredador consumidas por depredador (N_c). N[umeros en A, C y E; proporciones en B, D y F (Juliano 2001).

Modelos

Se utilizaron datos de depredación de ácaro depredador *Euseius mesembrinus* sobre el ácaro plaga *Eutetranychus banksi* en arenas experimentales de hojas de naranja bajo condiciones de laboratorio. Se analizaron los resultados de respuesta funcional por medio de los siguientes modelos: Watt, 1959; Holling tipo II (1959); Dowd y Riggs (1965). Las ecuaciones de estos modelos se presentan a continuación:

Tabla 1. Modelos de Respuesta Funcional Tipo II.	
Autor	Ecuación del Modelo
Holling (1959)	$N_a = a' Tt N_o / [1 + (a' Th N_o)]$
Watt (1959)	$N_a = N_{a_{max}} (1 - e^{-aN_o})$
Doed & Riggs (1965)	$N_a^{-1} = Th^{-1} + a Th^{-1} N_o^{-1}$
Rogers (1972)	$N_a = N_o [1 - e^{-a(ThN_a - Tt)}]$
Real (1977, 1979)	$N_a = K * N_t^\beta / (X + N_t^\beta)$
Lidahl & Stiven (1983)	$N_a^{-1} = (aN)^{-1} + Th$
Fan & petitt (1994)	$N_o/N_a = a^{-1} + Th N_o$

Donde N_a es el número de presas consumidas o atacadas, a (a') es la tasa de ataque constante (tasa de ataque o búsqueda instantánea), N_o es la densidad de la presa, Tt es el tiempo total



disponible (24 h en este experimento) y T_h es el tiempo de manipuleo, K = la tasa de alimentación máxima (saciedad o asíntota), N_t = densidad de presas inicial, X = la densidad de la presa en la que $N = 0.5K$, β = el parámetro asociado con la forma de la curva de la respuesta funcional. Si $\beta = 0$ la respuesta funcional es tipo I, si $\beta = 1$ la respuesta funcional es tipo II y para $\beta > 1$ la respuesta funcional es tipo III.

Metodología

Mediante métodos de mínimos cuadrados ordinarios se calcularon los parámetros (a' y T_h) de la respuesta funcional de los siete modelos.

Resultados

Fan y Pettit (1994) encontraron que la transformación Woolf no sólo linealiza la ecuación del disco de Holling (1959b), sino que también reduce la heterogeneidad de varianza, proporcionando así la mejor estimación del parámetro entre cuatro transformaciones lineales comúnmente utilizados. En el modelo de Real, el parámetro β fue igual a 1.0114, y realizando la prueba de t-students el parámetro no fue significativamente diferente de 1 ($P \leq 0.05$, $GL=6$), por lo que el tipo de respuesta funcional es II.

Tabla 2. Parámetros de la respuesta funcional de siete modelos por modelaje lineal*.								
No	Na	Holling	Rogers	Watt	F&P	D&R	L&S	Real
1	0.80	0.8015	0.7884	1.3933	0.8771	1.2650	0.7905	1.8889
2	1.47	1.5867	1.5692	2.7295	1.7258	1.5634	1.5634	5.6486
4	3.33	3.1101	3.0954	5.2398	3.3434	3.0588	3.0588	13.6991
8	5.33	5.9820	6.0933	9.6721	6.2922	5.8627	5.8627	23.6516
16	11.53	11.1127	11.5132	16.5928	11.2558	10.8231	10.8231	30.1103
32	24.93	19.4568	19.2464	25.0879	18.5871	18.7593	18.7593	32.7509
64	32.27	31.1520	33.0767	31.6640	27.5637	29.6183	29.6183	33.6214
128	33.80	44.5376	63.6206	33.8395	36.3384	41.6825	41.6825	33.8873
a' Tasa instantanea de descubrimiento o ataque		0.8098	1.5739	0.0418	0.8918	87.9682	0.7995	--
T_h : Tiempo de manipuleo		0.0128	0.0167	--	0.0188	70.3288	0.0142	--
β = Pendiente de ecuacion de Real								1.7658 (NS)
*: No = Número original de presas, Na Número de presas atacadas o consumidas, F&P = Fan y Pettit, D&R = Dowd y Riggs, L&S = Livdahl y Stiven. NS = Estadísticamente no es diferente de la unidad.								

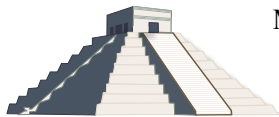
El valor calculado de a' obtenido por el modelo de Rogers fue aproximadamente, doble del valor de a' calculada por los modelos de Holling, Fan & Pettit y Livdahl & Stiven; mientras que, con el método no lineal, el valor calculado de a' obtenido por el modelo de Rogers fue aproximadamente, seis veces del valor de a' calculada por los modelos de Holling, Fan & Pettit y Livdahl & Stiven (Tabla 2). El modelo de Watt genero el menor valor de a' , lo cual fue casi 38, 21, 19 y 19 veces menor que el estimado por Rogers, Fan & Pettit, Holling y Livdahl & Stiven, respectivamente; Realizar una regresión lineal de los datos linealizados tiene varias ventajas: a)



es intuitivamente sencilla; b) no requiere un ordenador; y c) el resultado puede parecer fácil de evaluar estadísticamente. Sin embargo, los resultados no son estadísticamente óptimos (Motulsky y Ransnas 1987).

Referencias

- Dowd, J. E., and D. S. Riggs. 1965. A comparison of Michaelis-Menten kinetic constants from various transformations. *J. Biol. Chem.* 240: 863–869.
- Fan Y & F. Petit. 1994 Parameter estimation of functional response. *Environmental Entomologist* 23: 785-794.
- Fernández-Arhex, V. & J. Corley. 2004. La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. *Ecol. Austral.* 14: 83-93
- Hassell, M.P. 2000. *The Spatial and Temporal Dynamics of Host-Parasitoid Interactions.* Oxford U. Press, UK.
- Holling C.S. 1959a. The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the European pine sawfly. *Can. Ent.* 91: 293-320.
- Juliano, S.A. 2001. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. Pp. 159-182 en: SM Scheiner & J Gurevitch (eds). *Design and analysis of ecological experiments.* Chapman & Hall, N.Y.
- Livdhal, T.P. & A.E. Stiven. 1983. Statistical difficulties in the analysis of predator functional response data. *Can. Ent.* 115: 1365-1370
- Motulsky, H. & L. Ransnas. 1987. Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *Fed. of Amer. Soc. Journal* 1: 365-374.
- Nicholson, A.J. & V.A. Bailey. 1935. The balance of animal populations. Part 1. *P. Zool. Soc. Lond.* 3: 551-598.
- Real, L.A. 1977. The kinetics of functional response. *Amer. Naturalist*, 111: 298-300.
- Real, L.A. 1979. Ecological determinants of functional response. *Ecology* 60:481-485.
- Rogers, D. 1972. Random search and insect population models. *J. Anim. Ecol.* 41: 369-383.
- Solomon, J.E. 1949. The natural control of animal populations. *J. Anim. Ecol.* 18:1-35.
- Thompson, W.R. 1930. The utility of mathematical methods in relation to work on biological control. *Ann. Appl. Biol.* 17: 641-648.
- Watt, K.E.F. 1959. A mathematical model for the effect of densities of attacked and attacking species on the numbers attacked. *Can. Ent.* 91: 129-144.

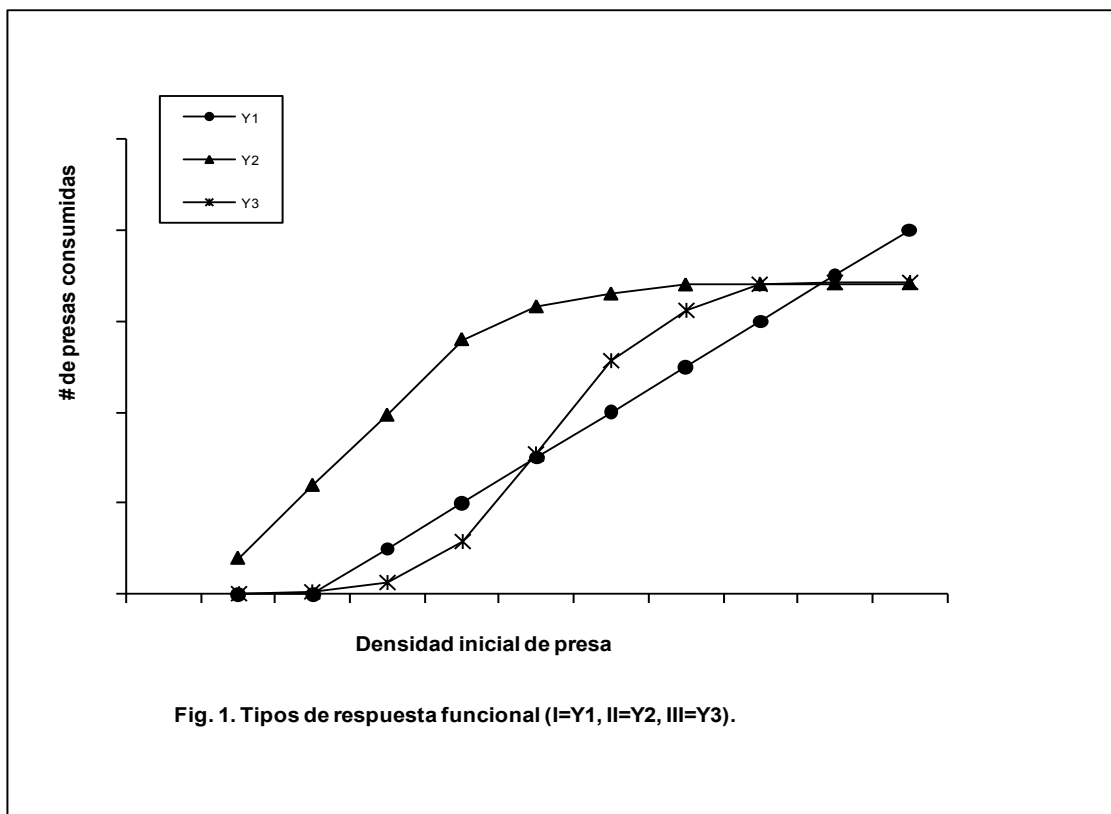


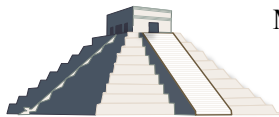
ESTIMACIÓN NO-LINEAL DE PARÁMETROS DE DEPREDACIÓN

Badii, M.H., J.C. Chacon¹ & A. Guillen. UANL, San Nicolás de los Garza, N.L. & ¹UAAAN, Saltillo Coah., México

Introducción

El impacto del depredador sobre la población de la presa se estima por medio de: **(a)** Capacidad destructiva (matar) de un individuo del depredador en función del cambio de la densidad de la presa (respuesta funcional o comportamental, Solomon, 1949). **(b)** Cambio poblacional del depredador en base al cambio de la población de la presa (respuesta numérica, Solomon, 1949) la cual se estima basada vía: **b₁**. Cambio en la tasa reproductiva del depredador. **b₂**. Cambio en la densidad del depredador por medio del proceso de la migración (inmigración e emigración). La respuesta funcional puede ser de uno de 3 tipos siguientes (Figura 1):





- 1. Respuesta funcional Tipo I:** Denominado denso-independiente (DI), en donde el % de la mortalidad de la presa provocado por el individuo del depredador es constante y por tanto independiente del cambio en la densidad de la presa.
- 2. Respuesta funcional Tipo II:** Denominado inversamente denso-dependiente (IDD), en donde el % de la mortalidad está inversamente relacionado con el cambio en la densidad de la presa.
- 3. Respuesta funcional Tipo III:** Denominado directamente denso-dependiente (DDD), en donde el % de la mortalidad está relacionado con el cambio en la densidad de la presa en forma directa y proporcional. Existen modelos analíticos de respuesta funcional (Figura 1) para describir y predecir los resultados del proceso de la depredación, se dividen éstos en término general, en tres grupos.

Modelos

Los modelos de respuesta funcional, tienen como factor importante el tiempo que dura el experimento ya que este es importante con respecto al ataque y suponen que el número de presas muertas por el depredador incrementa monótonamente a una asíntota. Dentro de este comportamiento se encuentran los modelo Watt, 1959; y el modelo Holling tipo II (1959), Dowd y Riggs (1965) y Livdahl y Stiven (1983); menciona Hernández-Sandoval (2009) que estos modelos describen el proceso de depredación de forma instantánea. El modelo de Rogers (1972) propuso un modelo alternativo, conocido como "ecuación del depredador al azar", que tiene las mismas restricciones que el modelo mencionado de Holling, pero que permite el agotamiento de la presa y suponen que los procesos duran un lapso de tiempo y el proceso de la depredación no es instantáneo (Fernández-Arhex y Corley 2004), además, el modelo de Holling no contempla el reemplazo de la presa en el bioensayo, por lo que, el modelo de Rogers se utiliza generalmente para superar el problema de reemplazo de presa presente en el modelo Holling. Aparte de estos modelos existen los de Real (1977, 1979) que toma en cuenta la inteligencia del depredador como un componente importante en el proceso de ataque. Los modelos antes mencionados se comportan de igual manera. Las ecuaciones de estos modelos se presentan a continuación:

Modelo	Ecuación
Watt (1959), Ivlev (1955)	$N_a = N_{amax} (1 - \exp -aN_o)$
Holling (1959): Tipo II (logaritmico)	$N_a = a' T_t N_o / (1 + a' T_h N_o)$
Dowd y Riggs (1965)	$N_a = T_h^{-1} + (-a' T_h)^{-1} (N_o / N_a)$
Livdahl y Stiven (1983)	$N_a^{-1} = T_h + a^{-1} N_o^{-1}$
Rogers (1972)	$N_a = N_o (1 - \exp -a'T_t + a'T_h N_a)$
Real (1977, 1979: n = 1 = no-aprendizaje)	$N_a = (N_o)^n N_{amax} / [(N_o)^n + N_o]$
Fan y Petitt (1994)	$N_o / N_a = a^{-1} + T_h N_o$



Donde N_a es el número de presas consumidas o atacadas, a (a') es la tasa de ataque constante (tasa de ataque o búsqueda instantánea), N_o es la densidad de la presa, T_t es el tiempo total disponible (24 h en este experimento) y T_h es el tiempo de manipuleo, K = la tasa de alimentación máxima (saciedad o asíntota), N_t = densidad de presas inicial, X = la densidad de la presa en la que $N = 0.5K$, β = el parámetro asociado con la forma de la curva de la respuesta funcional. Si $\beta = 0$ la respuesta funcional es tipo I, si $\beta = 1$ la respuesta funcional es tipo II y para $\beta > 1$ la respuesta funcional es tipo III.

Metodología

Se uso para este análisis, los resultados de un experimento de depredación del ácaro depredador *Euseius Mesebrinus* sobre el ácaro fitófago *Eustetranychus banksi* bajo condiciones controladas de laboratorio. Mediante modelos no lineales se obtuvieron los parámetros de la respuesta funcional. Siete modelos fueron utilizados para determinar la respuesta funcional (Tabla 1). En este trabajo se utilizó el método de Marquardt para obtener los parámetros de la respuesta funcional; el tiempo de manipuleo (T_h) y la tasa de búsqueda (a') del depredador. El ajuste de los datos a cada modelo y las estimativas de los parámetros se realizaron a través del proceso iterativo del algoritmo Marquardt (Marquardt 1963). Cabe señalar que ambos procedimientos fueron para modelos no lineales PROC NLIN de SAS/STAT (SAS, 2001).

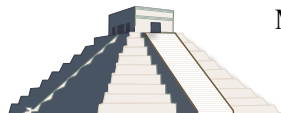
Resultados

Se observó una respuesta funcional de tipo II. Los modelos de Holling, Fan & Pettitt y Livdahl & Stiven presentaron valores similares con respecto a los parámetros a' y T_h , de 1.2337 y 1.2357, 0.0212 y 0.0212 respectivamente, sin embargo, los valores de los parámetros obtenidos por el modelo de Dowd & Riggs fueron mayores con respecto a los demás ($a'=38.2238$ y $T_h=47.1547$) (Tabla 2). El modelo de Rogers dio un T_h mayor a los valores obtenidos por los modelos de Holling, Fan & Pettitt y Livdahl & Stiven, pero menor que el valor obtenido por el modelo de Dowd & Riggs. Con respecto al parámetro de ataque, el modelo de Rogers fue similar a los modelos linealizados de Holling y al de Holling.

Fan y Pettitt (1994) encontraron que la transformación Woolf provee la mejor estimación del parámetro tanto para los modelos lineales, así como de regresión no lineal (Sepulveda & Carrillo 2008). En base a esto, el parámetro T_h obtenido por los modelos Dowd & Riggs y Rogers están subestimados y a' están sobreestimados. Así como el valor de a' obtenido por el modelo de Watt.

En el modelo de Real, el parámetro β fue igual a 1.0114, y realizando la prueba de t-students el parámetro no fue significativamente diferente de 1 ($P \leq 0.05$, $GL=6$), por lo que el tipo de respuesta funcional es II.

Según Hassell (1978) y Livdahl y Stiven (1983) las regresiones utilizadas de forma linealizada respecto a los modelos de respuesta funcional como los anteriores, pueden dar estimaciones



sesgadas (menores) de los parámetros y por tanto, estadísticamente inválidos, en comparación con los modelos no lineales.

Tabla 2. Parámetros de la respuesta funcional de siete modelos por modelaje no lineal*.

No	Na	Holling	Rogers	Watt	F&P	D&R	L&S	Real
1	0.80	1.2022	0.9992	1.1208	1.2022	1.2022	1.2041	1.8889
2	1.47	2.3447	1.9981	2.2047	2.3447	2.3446	2.3482	3.6042
4	3.33	4.4673	3.9944	4.2665	4.4673	4.4671	4.4733	6.5591
8	5.33	8.1613	7.9831	7.9976	8.1613	8.1611	8.1708	11.0553
16	11.53	13.9143	15.8792	14.1140	13.9143	13.9141	13.9261	16.7522
32	24.93	21.4879	28.2180	22.3691	21.4879	21.4878	21.4972	22.5052
64	32.27	29.5224	29.8652	30.0212	29.5224	29.5225	29.5223	27.1267
128	33.80	36.3109	34.5363	33.5344	36.3109	36.3113	36.2973	30.2035
a' Tasa instantanea de descubrimiento o ataque		1.2337	7.2536	0.0335	1.2357	38.2238	1.2357	--
T_h : Tiempo de manipuleo		0.0212	0.0283	--	0.0212	47.1547	0.0212	--
β = Pendiente de ecuacion de Real								1.0114 (NS)

*: No = Número original de presas, Na = Número de presas atacadas o consumidas, F&P = Fan y Petitt, D&R = Dowd y Riggs, L&S = Livdahl y Stiven. NS = Estadísticamente no es diferente de la unidad.

Con el método no lineal, el valor máximo de a' la fue generado por los modelos de Dowd & Riggs, seguido por el modelo de Rogers, mientras que, el valor mínimo de T_h fueron generado por los modelos de Holling y Livdahl & Stiven (Tabla 2). Con el método no lineal, el valor calculado de a' obtenido por el modelo de Rogers fue aproximadamente, seis veces del valor de a' calculada por los modelos de Holling, Fan & Petitt y Livdahl & Stiven (Tabla 2).

Según los datos de la Tabla 2, con el método no lineal, el modelo de Watt generó el menor valor de a' , lo cual fue casi 217, 37, 37 y 37 veces menor que el estimado por Rogers, Fan & Petitt, Holling y Livdahl & Stiven, respectivamente. Los resultados de análisis de respuesta funcional por medio de modelos no lineales son estadísticamente más óptimos (Motulsky y Ransnas 1987). En término general se concluye que la regresión lineal por cuadrados mínimos es el método más común usado en las investigaciones sobre la interacción depredador-presa, pero también se pueden usar las regresiones no lineales por cuadrados mínimos para la estimación y comparación de parámetros. En este punto se aconseja utilizar la regresión no lineal, ajustada por cuadrados mínimos del número de presas consumidas versus el número de presas ofrecidas. Los parámetros obtenidos mediante la regresión no lineal son menos sesgados que los calculados por la regresión lineal.



Referencias

- Dowd, J. E., and D. S. Riggs. 1965. A comparison of Michaelis-Menten kinetic constants from various transformations. *J. Biol. Chem.* 240: 863–869.
- Fan Y & F. Petit. 1994 Parameter estimation of functional response. *Environmental Entomologist* 23: 785-794.
- Fernández-Arhex, V. & J. Corley. 2004. La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. *Ecol. Austral.* 14: 83-93
- Hassell, MP. 1978. The dynamics of arthropod predator-prey systems. Princeton University Press, Princeton.
- Hassell, M.P. 2000. The Spatial and Temporal Dynamics of Host-Parasitoid Interactions. Oxford U. Press, UK.
- Holling C.S. 1959. The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the European pine sawfly. *Canadian Entomologist* 91: 293-320.
- Juliano, S.A. 2001. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. Pp. 159-182 en: SM Scheiner & J Gurevitch (eds). *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman & Hall, N.Y.
- Livdhal, T.P. & A.E. Stiven. 1983. Statistical difficulties in the analysis of predator functional response data. *Can. Ent.* 115: 1365-1370
- Marquardt, D.W. 1963. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society of Industrial and Applied Mathematics* 11: 431-441.
- Motulsky, H. & L. Ransnas. 1987. Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *Fed. of Amer. Soc. for Exp. Biol. Journal* 1: 365-374.
- Real, L.A. 1977. The kinetics of functional response. *Amer. Naturalist*, 111: 298-300.
- Real, L.A. 1979. Ecological determinants of functional response. *Ecology* 60: 481-485.
- Rogers, D. 1972. Random search and insect population models. *J. Anim. Ecol.* 41: 369-383.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Solomon, J.E. 1949. The natural control of animal populations. *J. Anim. Ecol.* 18: 1-35.
- Watt, K.E.F. 1959. A mathematical model for the effect of densities of attacked and attacking species on the numbers attacked. *Canadian Entomologist*, 91: 129-144.



USO DE ALGUNOS MODELOS NO-PARAMÉTRICOS EN ESCALA NOMINAL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO

Badii, M.H. & A. Guillen. UANL, San Nicolás de los Garza, N.L., México

Introducción

La aplicación de la estadística, tanto los modelos paramétricos como no-paramétricos, para analizar, cuantificar y validar las probabilidades en los fenómenos y los procesos pertinentes a la disciplina y los programas de control biológico ha progresado significativamente, a lo largo de tiempo. La selección de clase de modelo estadístico depende de la naturaleza del fenómeno y los objetivos propuestos para analizar dicho fenómeno en términos de la probabilidad. Si la distribución de los datos del estudio se ajusta a la curva normal, se utilizan modelos paramétricos y de lo contrario será necesario emplear modelos no-paramétricos. En este trabajo se describe algunos de los modelos no-paramétricos, y se demuestra la aplicación de éstos modelos por medio de un ejemplo a algunos casos en el control biológico.

Modelo de J_i^2 de Pearson

Descripción. Se utiliza para 1, 2 o más muestras independientes cuyas distribuciones no son normales, con varias variables en escala Nominal. Cuando el tamaño de muestra es mayor que 30 se reduce la probabilidad de cometer error tipo I y II. Sin embargo toma en cuenta las 2 siguientes condiciones: **(a)** Cuando maneja Tabla de Contingencia (T.C.) de 2×2 , el tamaño óptimo de muestra es ≤ 30 , y hay 0 observaciones a algunas celdas, usar la prueba Exacta de Fisher & Yates. **(b)** Con múltiples grupos (muestras) pero con frecuencias menores que 5, usar Prueba $(J_i)^2$ de Proporciones (Pearson, 1904; Fisher, 1922, 1922a).

Estas 2 opciones limitan el error Tipo I (falso negativo) e incrementan la potencia-eficacia de muestras pequeñas. Donde, la potencia es $1 - \text{error tipo II}$ o β (error tipo II es la probabilidad de aceptar una hipótesis nula $[H_0]$ falsa, es decir, un falso positivo y la eficacia es reducir la probabilidad de rechazar un H_0 cierto y aumentar la probabilidad de rechazar un H_0 falso).

Ecuación. $X^2 = \sum[(O - E)^2 / E]$, Donde, X^2 = Valor calculado del modelo, \sum = Signo de sumatorio, O = Frecuencia observada, E = Frecuencia esperada o teórica, $gl = K - 1$ = grados de libertad, donde, K = número de muestras o grupos.

Ejemplo. Hay 36 plantas con una plaga insectil (1 grupo o muestra), un investigador aplica 4 variedades o cepas diferentes de una especie de un hongo entomopatógeno (tratamiento) a estas plantas y encuentra datos diferentes sobre mortalidad (36 muertos) de diferentes grupos. Se analizó los 36 muertos para ver si hay diferencia significativa en función de toxicidad de los tratamientos (Tabla 1).

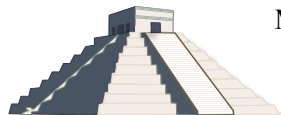


Tabla 1. Número de muertos bajo diferentes tratamientos o cepas.					Total
	Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3	Cepa 4	
Observado (O)	12	7	8	9	36
Esperado (E)	9	9	9	9	36

Hipótesis:

Ho: Las diferencias en la mortalidad por tipo de tratamiento son efectos aleatorios

Ha: La cepa 1 donde hay mayor mortalidad es más tóxica que otras cepas, es decir, la diferencia observada en mortalidad se debe al impacto de la cepa 1

Nivele de significancia. $\alpha = 0.05$ para probar la hipótesis.

Zona de rechazo. Para todo valor menor que $p = .05$ ($p \leq .05$) se rechaza la Ho.

Procedimiento. Primero, hay que calcular los valores esperados. En este caso para una situación aleatorio del efecto de cepa se maneja $36/4 = 9$ y por tanto: para cuantificar el valor calculado del modelo de $X^2 = \sum [(O - E)^2 / E]$, se procede con $X^2 = [(12 - 9)^2 + (7 - 9)^2 + (8 - 9)^2 + (9 - 9)^2] / 9 = 1.55$

El gl es igual a $k - 1$ o $4 - 1 = 3$, y el valor tabulado para 3 gl con $\alpha = 0.05$ es igual a 7.815.

Tomar decisión. Valor calculado del modelo de 1.55 es menor que valor crítico de 7.815 y por tanto Ho se Acepta.

Interpretación. Todos los tratamientos (cepas) tienen el mismo efecto de toxicidad, y por tanto, el hecho de que la cepa uno aparentemente está causando mayor mortalidad se debe a un efecto aleatorio, es decir, no hay diferencia entre las 4 cepas en término de toxicidad y por ende la mortalidad.

Cuando la “n” es mayor que 30 la *Potencia-Eficacia* incrementa, es decir, la probabilidad de rechazar una Ho Correcta se reduce y la probabilidad de aceptar una Ho Falsa también se reduce. Pero cuando la n es menor que 30, existen 2 alternativas en lugar de usar la Ji^2 .

1. Cuando tenemos una: **(a)** T.C. de 2×2 , **(b)** la muestra total es menor que 30 y **(c)** incluye 0 observaciones en alguna de las celdas, la prueba correcta sería la Probabilidad Exacta de Fisher y Yates.
2. Con grupos múltiples y con frecuencias menores que 5, se recomienda el uso de Ji^2 de proporciones.

Probabilidad Exacta de Fisher & Yates

Este modelo tiene mayor *Potencia-Eficacia* que Ji^2 normal Cuando en una T.C. de 2×2 , la “n” es menor que 30 y hay alguna celda con valor de 0 (Fisher, 1935; Yates, 1934).



Ecuación. $P = [(A+B)! (C+D)! (A+C)! (B+D)!] / GT! (A! B! C! D!)$. Donde, P = Probabilidad exacta de Fisher & Yates. A, B, C y D son las observaciones de las celdas de la Tabla 2. j = Signo de factorial.

Tabla 2. Despliegue de la Tabla y anotaciones correspondientes.			
Grupos	Variable		Total de Hilera
	X	Y	
1	A	B	A+B
2	C	D	C+D
Total de Columna	A+C	B+D	GT = A+B+C+D

Ejemplo. Hay 15 plantas con problema de estar atacadas por larvas de una especie de Lepidóptera, se selecciona 7 de ellas como grupo que reciben una cepa de virus entomopatógeno y el resto (8) reciben un insecticida en control de la plaga (Tabla 3).

Hipótesis.

Ho: Las frecuencias observadas para los 2 tipos de tratamiento son iguales y la diferencia es al azar.

Ho: Las frecuencias observadas para los 2 tipos de tratamiento No son iguales y la diferencia es significativa, es decir, que hay mayor frecuencia de mejoría para el tratamiento con virus versus la insecticida.

Tabla 3. Plantas atacadas por una plaga insectil (mejoría = recuperar del ataque).			
Grupos	Variable		Total de Hilera
	Con mejoría	Sin mejoría	
Virus	6	1	7
Insecticida	2	6	8
Total de Columna	8	7	15

Nivel de significancia. Para todo valor de probabilidad ≤ 0.05 , se rechaza la Ho.

Zona de rechazo. Para todo valor de probabilidad ≥ 0.05 , se acepta la Ho.

Procedimiento. $P = [(A+B)! (C+D)! (A+C)! (B+D)!] / GT! (A! B! C! D!)$

$$P = [7! 8! 8! 7!] / [15! (6! 1! 2! 6!)] = 0.031$$

Toma de decisión. El valor de la probabilidad calculada (0.031) es menor que 0.05, y por tanto, la Ho se rechaza.

Interpretación. A nivel de probabilidad de 0.031 (un nivel de confianza de casi 97%), el tratamiento con el virus es significativamente efectivo, es decir, produce mayor mejoría (comparando con el insecticida).



Prueba de J_i^2 de proporción

Esta prueba es para dos o más muestras independiente, y cuando el tamaño de la muestra o gran total es pequeño y hay cero en alguna celda, esta prueba provee la misma potencia-eficacia que la prueba J_i^2 con tamaño de muestras muy grandes (Daniel, 1978).

Ecuación. $X_p^2 = (1/m_p * m_q) \sum Ni (p - m_p)^2$. Donde, X_p^2 = Valor estadístico del modelo, m_p = Proporción promedio de que sucede, ocurre o acontezca el evento, m_q = Proporción promedio de que no ocurre el evento, p = Proporción de ocurrencia del evento, Ni = Tamaño de la muestra de subgrupo “i”.

Ejemplo. Se conduce un experimento en diseño factorial de 2 x 3 (2 condiciones de nutrición: alimentado o en ayuno durante últimos 24 horas y 3 condiciones de diferentes especies de presa como sustrato para criar los depredadores), con 24 ácaros depredadores en estadio de adulto hembra fertilizada (12 bien alimentados y 12 en ayuno) para detectar la posible diferencia entre los depredadores sobre la reducción o el aumento de presas atacadas debido al estado nutrido o debido a la especie de presa para criar el depredador (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de desnutrición en la variación en número de presas atacadas.				
Subgrupo*	Reducción en número de presas atacadas	Aumento en número de presas atacadas	Ni	Proporción de reducción de número de presas atacadas
1	1	3	4	0.25
2	0	4	4	0.00
3	3	1	4	0.75
4	1	3	4	0.25
5	2	2	4	0.50
6	4	0	4	1.00
Total	11	13	24	Proporción de ocurrencia <i>al azar</i> del evento: $(m_p)=12/24=0.5$ $[m_q=1- m_p=1-0.5=0.5]$

*: 1 = Bien nutridos y criados sobre presa A, 2 = Bien nutridos y criados sobre presa B, 3 = Bien nutridos y criados sobre presa C, 4 = En ayuno y criados sobre presa A, 5 = En ayuno y criados sobre presa B, 6 = En ayuno y criados sobre presa C.

Hipótesis:

Ho: La diferencia entre depredadores nutridos y desnutridos y criados sobre diferentes especies de presas es al azar

Ha: Esta diferencia es significativa y se debe a diferencia tanto del estado de nutrición como las especies de presas usadas para criar los depredadores

Nivel de significancia. Para todo valor de probabilidad ≤ 0.05 , la Ho se rechaza.



Zona de rechazo. Para todo valor de probabilidad > 0.05 , la H_0 se acepta.

Procedimiento. $X_p^2 = (1/m_p * m_q) \sum N_i (p - m_p)^2$

$$X_p^2 = 1 / 0.5 * 0.5 [4(0.25 - 0.5)^2 + 4(0 - 0.5)^2 + \dots 4(1 - 0.5)^2] = 11$$

gl = Número de Hileras - 1 = 6 - 1 = 5

X^2 de Tabla con 5 gl es igual a 11.07.

Toma de decisión. El valor calculado es menor que el valor tabulado y por tanto la H_0 se acepta, es decir con 95% de probabilidad el valor de probabilidad de error tipo I o alfa es menor de 5%.

Interpretación. La diferencia entre el número de presas atacadas entre los individuos de diferentes especies se debe al azar.

Referencias

Daniel, W.W. 1978. Applied Nonparametric Statistics. Coston, Houghton Mifflin Company.

Fisher, R.A. 1934. Statistical Methods for Reserach Workers. Fifth Edition, Edinburgh, Oliver & Boyd.

Fisher, R.A. 1922. On the interpretation of X^2 from contingency tables and the calculation of p . J. Roy. Statist. Soc. 85: 87-94.

Fisher, R.A. 1922a. The goodness of fit of regression formulae and the distribution of regression coefficients. J. Roy. Statist. Soc. 85: 597-612.

Fisher, R.A. 1935. The logic of inductive inference. J. Roy. Statist. Soc. Ser. A,98: 39-54.

Pearson, K. 1904. Methematical Contribution to The theory of Evolution. Draper's Co. Res. Mem., Bimetric Ser., 1. 35 pp.

Yates, F. 1934. Contingency tables involving small numbers and the X^2 test. J. Roy. Statist. Soc., 1: 217-235.



TAMAÑO ÓPTIMO DE LA MUESTRA EN PROGRAMAS DE CONTROL BIOLÓGICO

Badii, M.H. & A. Guillen. UANL, San Nicolás de los Garza, N.L., México

Introducción

El muestreo es uno de los conceptos fundamentales en la estadística o de hecho en toda la ciencia. Las muestras son reflejos imperfectas de la población. Una población es un conjunto total de los individuos (observaciones, unidades, etc.) tangible o conceptual con rasgos similares. Una muestra es un subconjunto de una población. El muestreo es el proceso de seleccionar la muestra en base a ciertos criterios. En el muestreo uno debe definir el tamaño óptimo, la frecuencia y el diseño del muestreo. El diseño del muestreo mayormente depende de los objetivos de muestreo y las características de la población. La frecuencia del muestreo se basa a la tasa de reemplazo o cambio en el rasgo o variable a medir. El tamaño óptimo de la muestra (TOM), el objetivo de este trabajo, se explica a continuación.

TOM depende en la cantidad de recursos para realizar el muestreo tales como capital, energía, tiempo, estructura etc.; el grado de precisión deseada; el tipo de la distribución de los datos lo cual nos provee información sobre la magnitud o el promedio y la variabilidad de la población. La precisión es el grado de la diferencia entre diferentes estimaciones tomadas de la misma población y se lo mide vía error estándar de la muestra. El sesgo de la muestra es el grado de diferencia entre el parámetro o la variable poblacional y la estimación o la variable muestral. Los tipos de distribución de los datos poblacionales en término general y resumida son: a) uniforme (done la razón varianza-media o V/M es estadísticamente menor que la unidad, b) agregada con V/M mayor que la unidad, c) aleatorio, lo cual se presenta en dos formas: c_1) Poisson con V/M igual a la unidad y c_2) normal en donde la varianza es independiente de la media. En todos los ejemplos siguientes se supone que la distribución de los datos se ajuste a la “*distribución normal*.”

Estudios transversales

Para una sola muestra (estudio transversal). TOM está basado en 2 tipos de investigación: **1.** Determinar la media o la proporción de la población. **2.** Determinar más de 2 medias o proporciones poblacionales.

A. Solo un caso

Ejemplo 1. Calcular el TOM para el caso en donde se estudian 15 agentes de control biológico (depredadores) para investigar su efectividad como un depredador prometedor para el control de su presa. Después del estudio de rasgos bio-ecológicos y comportamentales se concluye que solamente 5 de ellos son buenos agentes de control biológico.Cuál sería el TOM para predecir con mayor precisión la aprobación de los depredadores similares.



Ecuación: $TOM = Z^2(pq)/e^2$, Donde, TOM = Tamaño óptimo de la muestra; Z = Valor de la tabla de la distribución normal a una $\sigma = 0.05$ es igual a 1.96.; p = Tasa de aprobación; q=1-p; e = Error permisible o error de estimación (una estimación de la *precisión relativa*) (Castillo, 2011).

Solución: Z = 1.96 Valor de Z corresponde a 95% de I.C. p=5/15=0.33, q=1-0.33=0.67, e = 5%. $TOM = Z^2(pq)/e^2 = 1.96^2(0.33 \times 0.67)/.05^2 = 340$. Es decir, que se requiere mínimamente estudiar 340 depredadores para poder predecir con 95% de confianza que los depredadores seleccionados serán buenos enemigos naturales dentro de un margen de error $\pm 5\%$. Si se desea una mayor precisión, por ejemplo una e = 1%, entonces el TOM sería: $TOM = Z^2(pq)/e^2 = 1.96^2(0.33 \times 0.67)/.01^2 = 8,496$. Se puede observar que a mayor precisión deseada, sería mayor el TOM.

Ejemplo 2. Estimar TOM cuando desea conocer la media poblacional: En un estudio de revisar los casos de programas control biológico clásico de importación de enemigos naturales exóticos se tienen que el promedio de éxito en establecimiento y efectividad es igual a 50.8% con una desviación estándar de 2.5%. Determinar el TOM para estimar la media de los éxitos con un error permisible no mayor de 0.5%.

Ecuación: $TOM = Z^2(V)/e^2$, Donde, TOM = Tamaño óptimo de la muestra; Z = Valor de la tabla de la distribución normal; V = Varianza poblacional; e = Precisión relativa o error permisible o error de estimación (Castillo, 2011).

Solución: Z = 1.96 Valor de Z corresponde a una $\sigma = 0.05$. V = 2.5², e = 0.5%. $TOM = Z^2(V)/e^2 = 1.96^2(2.5^2)/0.5^2 = 96$. En otras palabras, hay que estudiar por lo menos 96 casos para poder estimar el promedio de éxitos con 95% de confianza dentro un margen de error de 0.5%.

B. Múltiples casos

Ejemplo 3. Estudio sobre la tendencia de utilizar individuos de F1 de depredadores provenientes de 2 lugares (A y B) de reciente centro de origen (convergencia evolutiva). Determinar el tamaño óptimo de la muestra para estudiar la situación comparativa, es decir, la tendencia de seleccionar o no los individuos de F1 de cada grupo mencionado arriba. Se supone que de un estudio anterior se conoce las medias y las desviaciones estándares para el grupo proveniente de lugar A (grupo 1) y el grupo desde lugar B (grupo 2) igual a 3.175 ± 0.362 y 3.350 ± 0.345 , respectivamente. Estos datos indican en número promedio de presas atacadas por cada 12 horas por un individuo del depredador.

Ecuación: $R = |m_1 - m_2| / (V_1 + V_2)^{1/2}$, Donde, R = Valor equivalente para estimar TOM en la Tabla 1 (Natrella, 1963), | = Tomar el valor absoluto, m₁ = media del grupo 1, m₂ = media del grupo 2, V₁ = varianza del grupo 1, V₂ = Varianza del grupo 2 (Castillo, 2011).

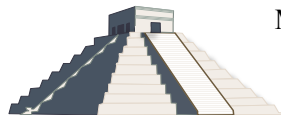


Tabla 1. TOM en base a los valores R, $\sigma = 0.05$ y poder estadístico $(1 - \beta)$.

R	1 - β		
	0.90	0.95	0.99
0.10	1,051	1,300	838
0.15	500	660	950
0.20	263	325	460
0.25	180	220	325
0.30	130	152	222
0.35	91	111	162
0.40	66	82	115
0.45	53	66	96
0.50	43	54	78
0.55	36	44	64
0.60	30	37	52
0.70	22	28	39
0.80	17	21	29
0.90	14	16	23
1.00	11	13	19
1.10	9	12	16
1.20	8	10	13
1.30	7	9	11
1.40	6	7	10

Solución: $R = |m_1 - m_2| / (V_1 + V_2)^{1/2}$, $R = |3.175 - 3.350| / (.362^2 + 0.345^2)^{1/2} = 0.35$. Consultar la Tabla 1 y se observa que para el valor de $R = 0.35$ y una $\alpha = .05$ y una potencia $(1 - \beta)$ igual a 90% o un error β igual a 10%, se encuentra un TOM igual a 91 individuos. Por tanto hay que considerar mínimamente 91 individuos para el estudio.

Estudios longitudinales

Un estudio longitudinal es aquel en donde los datos se obtienen a través de tiempo en 2 o más muestras.

Ecuación: Para dos casos: $TOM = [Z^2(q_1)/p_1] + [Z^2(q_2)/p_2] / [\ln(1 - e)]^2$, Donde, **TOM**=Tamaño óptimo de la muestra, **Z** = Valor de la tabla de la distribución normal, **p₁** = Tasa de prevalencia en la población o especie expuesta a un factor de riesgo, **q₁**=1-p₁, **p₂**=Tasa de prevalencia en la población o especie NO expuesta a un factor de riesgo, **q₂**=1-p₂, **e**=Precisión relativa o error permisible o error de estimación.

Ejemplo. Se desea en una investigación epidemiológica, estudiar a lo largo de tiempo, una enfermedad bacteriana en dos especies diferentes de mosquitos, una especie (especie 1) en una



zona contaminada para el mosquito y la otra especie (especie 2) no expuesta a un factor de riesgo y por tanto, se desea estimar el TOM en este estudio.

Datos. $p_1=0.7$ lo cual es la tasa de prevalencia en la especie 1, $p_2=0.35$ la tasa de prevalencia en la especie 2, e =error de estimación igual a: $e=15\%$ y $e=10\%$.

Solución.

$$e=0.15 \quad \text{TOM}=[Z^2(q_1)/p_1]+[Z^2(q_2/p_2)]/[\ln(1e)]^2=[1.96^2(.3)/.7]+[1.96^2(.65/.35)]/[\ln(1.15)]^2=332.45 = 333.$$

$$e=0.10$$

$$\text{TOM}=[Z^2(q_1)/p_1]+[Z^2(q_2/p_2)]/[\ln(1e)]^2=[1.96^2(.3)/.7]+[1.96^2(.65/.35)]/[\ln(1-.10)]^2= 790.99 = 791.$$

Se puede notar que a medida que se incrementa el error de estimación se reduce el TOM y viceversa. Por ejemplo, con un nivel de confianza de 95% y con un error de estimación igual a 25% se requiere aproximadamente 333 individuos para el estudio, sin embargo, éste número se incrementa a cerca de 800 para un margen de error igual a 10%.

Conclusión.

En la vida actual por las restricciones de los recursos disponibles y accesibles (tiempo, energía, estructura, economía, etc.), realizar censo poblacional, es decir, contar todo y cada uno de los elementos de la población es muy costoso y casi imposible de lograr, de hecho, casi todas las inferencias se consiguen por medio del muestreo. Muestreo, es decir, la forma de obtener estimaciones confiables de los parámetros poblacionales constituye una base fundamental para las investigaciones científicas cuantitativas. En todas las situaciones en donde se pretende obtener inferencias precisas sobre los parámetros de las poblaciones, el muestreo constituye la piedra angular sobre cual depende la generación del sesgo, la precisión y la exactitud de las conclusiones. Dicho esto, el tamaño óptimo de la muestra a su vez define y determina el grado de confianza en los resultados.

Referencias

- Castillo Serna, L. 2011. Manual Práctico de Estadística para las Ciencias de la Salud. Trillas, México, D.F., México.
Natrella, M.G. 1963. Experimental Statistics. Handbook 91, national Bureau of Standards, Washington, D.C.



CAPTURA DE *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) CON FEROMONA SEXUAL EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MICHOACÁN

Helios Escobedo-Cruz¹, Fernando Bahena-Juárez², Celeste Alvarado-Alonso¹, Erick Ortiz-Hernández¹, José de Jesús Sesmas-Garfías¹, José Carapia-García¹ Agroservicios Integrales para el Desarrollo Sostenible, S. C. Camelina, 57; Tarímbaro, Mich. C. electrónico: hescru@hotmail.com. ²INIFAP. Campo Experimental Uruapan.

Resumen: Se evaluó durante el ciclo primavera-verano 2014, la captura de adultos machos del Gusano Cogollero del Maíz *S. frugiperda* en trampas cebadas con feromonas sexuales, en siete localidades de cuatro municipios del estado de Michoacán. Se colocaron cuatro trampas por hectárea en cada localidad y la feromona se cambió a los 30 días, haciendo revisiones y conteos de las palomillas capturadas dos veces por semana. La feromona utilizada fue formulada en el ECOSUR, en Chiapas. Las trampas quedaron colocadas siempre por arriba del dosel del cultivo. La mayor captura de palomillas se presentó en las localidades del municipio de Cuitzeo con un promedio por trampa/noche de 13.19 palomillas, con mayor captura durante la última quincena de junio y los primeros días de julio; sólo en la localidad de Cuamio se observó en los primeros conteos una alta captura, la cual fue disminuyendo gradualmente en el transcurso de las siguientes observaciones. Las menores capturas de palomillas ocurrieron en la localidad de Charo con un promedio de 1.76 adultos capturados. Existe una relación entre las capturas registradas para cada localidad y el tipo de manejo del cultivo ya que en donde se registran más capturas existe un uso más intensivo de agroquímicos caso contrario ocurre donde las capturas fueron bajas. Una resultado adicional es la disminución de la incidencia por parte de la plaga y como consecuencia un menor número de tratamientos con insecticidas para todas las localidades estudiadas.

Palabras clave: Trampeo, Feromonas sexuales, Gusano cogollero, Maíz, Michoacán

Introducción

El maíz en México es el cultivo de mayor importancia y entre las plagas que más daños causan se encuentra el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera:Noctuidae), por tal motivo, al igual que en otros países de Latinoamérica, se ha optado por el uso intensivo de insecticidas químicos (Rojas *et al.*, 2008). Por ejemplo en Colombia *S. frugiperda* es reconocido también como una plaga primaria en el cultivo de maíz en la gran mayoría de las zonas, ya que llega a producir pérdidas de hasta el 35% (Agudelo *et al.*, 2010). El mal uso de agroquímicos ha generado resistencia en insectos plaga, además de afectar el equilibrio natural de los ecosistemas mediante la eliminación de insectos benéficos; aunado a esto, la contaminación que se genera por el uso indiscriminado de productos tóxicos y residuales ha logrado afectar también la salud del ser humano, ocasionando problemas agudos o crónicos, ya sea de manera directa o indirecta al consumir productos tratados con plaguicidas.

Hilman en 1990 comenta que en los últimos 50 años ha existido un uso creciente de insecticidas que asciende a más de 250,000 ton por temporada a escala mundial, sin embargo Oerke en 1994



menciona que las pérdidas por artrópodos se incrementaron del 35% en 1965 a 42% en 1990, datos que están muy relacionados con los que menciona Agudelo *et al.* (2010). Estas cifras mencionadas nos indican que existe una gran problemática con respecto al control de plagas y más aún en las clasificadas primarias como el cogollero, para las cuales debemos de buscar herramientas de control con un enfoque holístico aprovechando todas las alternativas posibles que se tengan dentro del entorno, siempre y cuando se basen en la agroecología. Es necesario considerar medidas como el uso de sustancias modificadoras del comportamiento de los insectos (semioquímicos), el uso de variedades resistentes, y otras técnicas compatibles (Rojas *et al.*, 2008). Los insectos y plantas liberan compuestos químicos volátiles al espacio aéreo alrededor de ellos, mismos que pueden afectar la fisiología y comportamiento de los insectos. En años recientes ha habido un gran interés en identificar los volátiles emitidos por insectos y plantas, y entender su efecto en las interacciones intraespecíficas e interespecíficas (Malo, 2013). Sin embargo, a pesar que se han descubierto herramientas como son los semioquímicos y ha existido un gran avance en la ciencia con respecto a la producción y desarrollo para el control de plagas, esto desde la identificación química del primer semioquímico (feromona sexual), hasta el día de hoy en muy pocos casos se han adoptado estas herramientas para el control de plagas según Shorey (1967), debido en gran medida al escaso conocimiento de dichas herramientas. Lo que sí es muy cierto es que no se debe manejar como una alternativa única, si no como una opción más dentro del manejo agroecológico para el control de *S. frugiperda* y que puede ser compatible con otras alternativas existentes como el uso de extractos vegetales, bioinsecticidas, insecticidas de bajo impacto ambiental o insecticidas conocidos como RCI (Bahena y Velázquez, 2012).

Materiales y métodos

Se utilizó un semioquímico (feromona sexual) muy específico al insecto blanco *S. frugiperda*, adquirido del El Colegio de la Frontera Sur (Ecosur) ubicado en Tapachula, Chiapas. El estudio se realizó en siete localidades de cuatro municipios en el estado de Michoacán, ubicados en 2 diferentes regiones geográficas. Se tiene dos parcelas en la región de la cuenca de Cuitzeo (localidad de Cuamio y La Cinta), el resto de las parcelas están dentro del Valle Morelia-Queréndaro, el cual cuenta con varios microclimas y es variable en temperaturas y precipitaciones. Se establecieron trampas en tres potreros del municipio de Indaparapeo, una en el municipio de Queréndaro, dos en Cuitzeo y una en Charo. El número de trampas varía según la superficie del predio, tomando en cuenta el establecimiento de 4 septos por hectárea. Las fechas de monitoreo fueron entre el 19 de mayo y el 30 de agosto, realizando un cambio de septo a los 30 días. La trampa utilizada es una garrafa común de 20 L. con abertura de 3 de sus lados, dejando aproximadamente 10 cm de altura para mantener el agua y jabón utilizado para la captura. Dichas trampas se distribuyeron de manera aleatoria tomando en cuenta el radio de acción de 50 m y la altura en que se instalaron es siempre arriba del dosel del cultivo, llegando a una altura máxima de 1.5 m. El monitoreo se realizó haciendo el conteo constante de adultos macho de *S. frugiperda* capturados cada 3 a 4 noches. Para el análisis de datos se tomó el promedio de palomillas por trampa, dividido entre las noches de captura, obteniendo así el promedio de machos capturados/trampa/noche (Bahena y Velázquez, 2012).



Figura 1.- Instalación de trampa con septo cebado de feromona sexual

Resultados

Se capturaron palomillas en siete diferente lugares, obteniendo de igual manera el promedio de palomilla capturada/trampa/noche teniendo una variación de 11.46 con respecto la localidad de menor captura Charo que presentó 1.76 palomillas/trampa/noche y en la localidad de mayor captura fue de 13.19 palomillas/trampa/noche. Como se puede ver en la figura 1, existe una variación mínima de 0.72 en las localidades de Cuamio y la Cinta, ubicadas geográficamente en la misma región, por lo que la similitud de datos podría estar muy relacionada con el porcentaje de parasitismo de esa región. De igual manera se observa una similitud en la captura de la región del valle Morelia-Queréndaro, la cual muestra una variación de 2.19 palomillas: en Indaparapeo presenta 6.32 palomillas/trampa/noche en el predio de mayor incidencia y 4.13 en Queréndaro; en la región se han realizado estudios que arrojan un porcentaje de parasitismo del 35% en Indaparapeo y 45% en Queréndaro (Bahena *et al.*, 2012). La región de Charo presenta un bajo porcentaje de captura, con 1.76 de palomillas/trampa/noche, es importante comentar esta región presenta diferencias con los municipios de Indaparapeo y Queréndaro en cuanto al manejo agronómico y el potencial de rendimiento, siendo éste menor, su sistema es muy rústico y la utilización de químicos es muy baja, preservando mejor el equilibrio del ecosistema.

Dentro de las parcelas con feromonas se realizaron dos aplicaciones de productos químicos de bajo impacto ambiental (spinetoram y benzoato de emamectina) en los casos donde se presentó mayor cantidad de palomilla capturada, caso específico Cuamio y La Cinta en el municipio de Cuitzeo. En el resto de localidades se realizó únicamente una aplicación de los mismos productos de bajo impacto. Es de destacarse que en el caso de parcelas que no tenían trampas con feromonas sexuales, se realizaron de 3 a 4 aplicaciones, específicamente en las localidades de estudio, con productos altamente tóxicos y residuales.

Las parcelas monitoreadas tienen en común que llevan varios años bajo el sistema de Agricultura de Conservación, caracterizado particularmente por el no movimiento del suelo, dejando residuos sobre la superficie y en algunos casos rotación de cultivos.

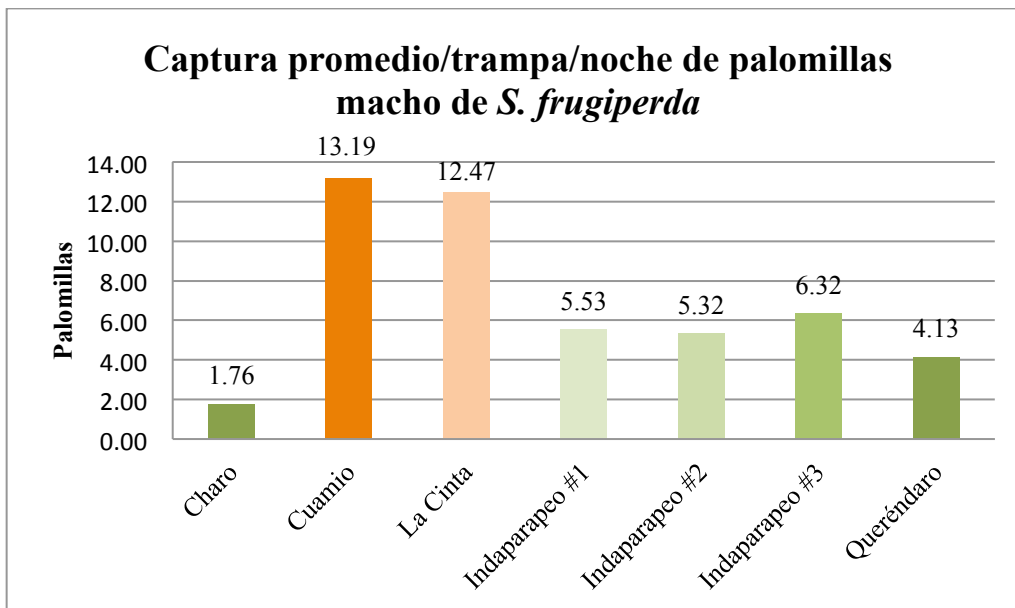
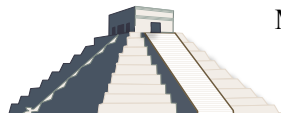


Figura 1.- Comparativo de captura de palomillas macho de *S. frugiperda*, captura promedio/ trampa/noche

Discusión

En investigaciones hechas dentro y fuera de nuestro país se ha demostrado que al hacer uso de las trampas con feromonas para control de cogollero hay una disminución en la ovoposición, por lo tanto en la incidencia larval. Por otra parte, el uso de una trampas ha^{-1} cebadas con la feromona reducen el número de aplicaciones de insecticidas para control del *S. frugiperda* en Israel (Gutiérrez, 1988). Malo *et al.* (1999 y 2001) evaluó en el estado de Chiapas a dos tipos de feromonas teniendo un promedio de 0.37 palomillas/trampa/noche. La palomilla hembra llega a ovipositar 150 huevecillos o más en cada postura y puede realizar varias posturas, el macho se llega a aparear mínimo en tres ocasiones (Bahena y Velázquez, 2012), esto quiere decir que por cada macho capturado se evita la eclosión de al menos 450 larvas.

La cantidad de captura que se tiene fue variable por cada una de las regiones, tal como se muestra en el cuadro 1, mismo que hace mención de cada una de las localidades evaluadas de una manera geográfica, donde se pueden ver la cantidad promedio capturada por fecha, captura promedio por trampa y promedio de captura/trampa/noche. Estos datos son de gran importancia para cada región y en base a esto poder determinar un plan de acción haciendo uso de alternativas de control como semioquímicos y poder tomar en cuenta también el establecimiento en tiempo adecuado para evitar infestaciones masivas.



Cuadro1.- Captura total de adultos, captura promedio por trampa y captura promedio por trampa por noche

Localidad	Geoposición	Altitud Msnm	Captura Total	Captura Promedio/ Trampa	Captura/ Trampa/ Noche
Municipio de Charo					
Charo	19° 47' 4.40"N 101° 00' 11.09" W	1859	730	12.17	1.76
Municipio de Cuitzeo					
Cuamio	20° 00' 54.33" N 101° 09' 22.26"W	1842	5,285	40.04	13.19
La Cinta	20° 04' 17.9" N 101° 09' 28.5"W	1842	2,244	37.40	12.47
Municipio de Indaparapeo					
Indaparapeo #1	20° 00' 54.33" N 101° 09' 22.26"W	1842	3,288	21.92	5.53
Indaparapeo #2	20° 00' 54.33" N 101° 09' 22.26"W	1842	1,978	19.39	5.32
Indaparapeo #3	19° 47' 49.66" N 100° 57' 04.44"W	1888	3,636	25.25	6.32
Municipio de Queréndaro					
Queréndaro	19° 48' 56.13" N 100° 54' 05.48"W	1844	1,647	17.16	4.13

Los datos que se muestran en el cuadro anterior son elevados, por lo que debemos de considerar la biodiversidad que se tiene dentro de estas regiones, como es el caso de la fauna benéfica, climática y canibalismo hábito del género *Spodoptera*, es importante conocer dicha biodiversidad para conjugarla con un manejo más agroecológico y obtener control de plagas de una manera sustentable, evitando contaminación y usos indiscriminado de plaguicidas

Las capturas registradas, han permitido que en las distintas localidades de estudio, es posible y factible el uso de productos de bajo impacto ambiental, situación que se ha dado como se ha registrado, dos aplicaciones en la región de Cuitzeo y una aplicación en el resto de localidades, mostrando un control en los momentos de mayor incidencia de acuerdo al monitoreo en campo; la aplicación se realizó con el afán de bajar el umbral económico presente, sin afectar el equilibrio de cada uno de los ecosistemas regionales, ya que por las altas cantidades de adultos capturados se puede asumir que hay un alto índice de parasitismo, y se han realizado trabajos de parasitismo en dichas regiones con un promedio de 40% (Bahena *et al.*, 2012), así mismo en la región se ha detectado un alto índice de entomopatógenos nativos, pero aún no se han investigado a fondo. En realidad el uso de semioquímicos ha sido un gran logro dentro del manejo agroecológico de plagas dentro de este trabajo realizado, pero existe una gran cantidad de estudios hechos que respaldan los resultados.

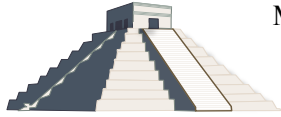
Agradecimientos

A todos los productores que hicieron posible el desarrollo del establecimiento y monitoreo en sus parcelas y que han colaborado con la investigación de alternativas sustentables para el desarrollo del campo mexicano (Rafael Castolo Cisneros, Rafael y Rubén Ortiz Arroyo, Aristeo López Aguilera, Jesús Arreola Acosta, Ricardo Vega Ayala, Francisco Rodríguez López y José Antonio Solís Hernández) y a todos los productores que han colaborado en la implementación de la Agricultura de Conservación en cada una de sus regiones. Se agradece el apoyo a la iniciativa MasAgro, que nos ha permitido poder realizar estos trabajos y la interacciones con los agricultores.



Literatura citada

- Agudelo H., J.H, Santos A., O., Aguilera G., E., Argüelles-Cárdenas, J. 2010. Evaluación de dos marcas comerciales de la feromona sexual de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en el Tolima (Colombia). Revista Corpoica 11(2):137-143.
- Bahena J., F. y Velázquez G., J. 2012. Manejo agroecológico de plagas en maíz para una agricultura de conservación en el valle Morelia-Queréndaro, Michoacán. INIFAP. CIRPAC. Campo Experimental Uruapan. Folleto Técnico Núm. 27. México. 81 p.
- Bahena-Juárez F, Zamora-Equihua S & García-Becerra M (2012) Parasitismo natural de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en las regiones de Patzcuaro y Valle Morelia-Querendaro, Michoacán, 154-158. En: Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2012, Puebla, Puebla, México.
- Gutiérrez M., A. 1988. Captura de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 76 p.
- Malo, E.A., Zabeche, A., Virgen, A. 1999. Evaluación preliminar de trampas y feromonas para el monitoreo de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) en maíz. Simposio Nacional de Ecología Química. Aguascalientes, Ags. 73-79 p.
- Malo, E.A., Cruz-López, L., Valle-Mora, J., Virgen, A., Sánchez, J.A., Rojas, J.C. 2001. Evaluation of comercial pheromone lures and traps for monitoring male fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) in the coastal region of Chiapas, Mexico. Flo. Entomol, 84(2):288-292.
- Malo R., E.A. Feromonas sexuales como herramienta del manejo agroecológico de plagas. 2013. Memorias del XII Simposio Internacional y VII Congreso Nacional de Agricultura Sostenible. Puebla, México.
- Oerke, E.C. 1994. Estimated losses in major food and cash crops. Elsevier. Amsterdam, 1994.
- Rojas, J.C., Malo, E.A., Macías Sámano, J.E. 2008. Uso de semioquímicos en el manejo de insectos plaga. En: Manejo Integrado de Plagas. Ed. Trillas. México. pp. 167-182.
- Shorey, H.H. 1967. Sex pheromone of noctuid moths:XIV. Feasibility of behavioral control by disrupting pheromone communication in cabbage loopers. J. Econ. Entomol. 60:1541-1545.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



BIOLOGÍA MOLECULAR, BIOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA GENÉTICA



UV RADIATION EFFECTS IN THE CHITINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY IN *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPIACEAE)

Jesús Eduardo Martínez-Hernández, **Isela Quintero-Zapata**, Susana de la Torre-Zavala, Ma. Del Socorro Flores-González, Lilia H. Morales-Ramos. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66450. San Nicolás de los Garza Nuevo León, México. isela.quinterozp@uanl.edu.mx

Abstract. *Beauveria bassiana* is used as a biological control agent. This entomopathogenic fungi use some enzymes in its infection process on insects. These enzymes are classified in lipases, proteases and chitinases mainly. In this work we performed assays with UV radiation and observed the effects on the production of proteases and chitinases in *B. bassiana*. The chitinolytic activity obtained in Bromocresol purple and colloidal chitin media oscillated from 2,17 to 2,32 being the minimum potential index(p.I) value. For the time exposure of 6 minutes and the maximum value of 2 and 8 with UV radiation. In regard to proteolytic, the activity was recorded on a range to 2, 75 for 10 minutes and 3,44 for 2 minutes. According to the ANOVA, there is no a significant difference in proteolytic ($p= 0,596$) and chitinolytic ($p=0,739$) activities between different radiation time. The production of enzymes varied between the different treatments with UV radiation. Although no significant differences were observed in both activities the major efficiency for chitinases is in two and eight minutes, for proteases the major efficiency range to enhance this activity is at time of 2 minutes.

Keywords. *Beauveria bassiana*, enzymatic activity, UV radiation

Introduction

The biological control of plague is an alternative to the use of chemical pesticides. One of these alternatives is the use of entomopathogenic fungus. This kind of fungus is effective for the biocontrol of many plagues that affect mainly agricultural crops (Zakharov and Levitin, 1971). Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* is an important natural pathogen of insects that has been developed as a microbial insecticide for its use against many major arthropod pests in agriculture, urban areas, among others (Charnley and Collins, 2007). There have been listed about 707 species of host insects of *B. bassiana*, comprising 521 genera and 149 families of 15 orders (Zimmermann, 2007). In the last years *B. bassiana*, has been efficiently used as a biological control agent. However, pathogenic fungi are constrained by many physical and biological factors (Hajek and St. Lager, 1994). The main factor for the pathogenicity of *B. bassiana* is an enzymatic set comprising mostly of chitinases, proteases and lipases (Khachatourians and Sohaj, 2008). Some studies have sought enhance the virulence of *B. bassiana* subjecting it to treatments with mutagenesis and genetic engineering. In 2007, Alcázar reported one *B. bassiana* mutant strain with proteases overproduction by using UV radiation. The influence of UV radiation and the pathogenicity of *B. bassiana* have been studied in a lot works (Teng, 1962; Tobar *et al.*, 1998; Douglas *et al.*, 1995). In 2001 Cagán and Švercel used the UV radiation to check how it looked affected the infectivity of *B. bassiana*. The effect of UV



radiation in levels of proteolytic, chitinolytic and lipolytic enzymes has been measured finding differences between the cultures irradiated and non-irradiated (Champlin *et al.*, 1981). In this work we used the UV radiation over *B. bassiana* cultures to evaluate its effects on the production of proteases and chitinases.

Materials and methods

Sample activation. *B. bassiana* strain HIB3 from Institute of Biotechnology of the UANL was used in this work. Isolate of fungi to study will be plated on Potato Dextrose Agar (PDA) (Bioxon[®]) for 14 to 21 days. Subsequently counts of conidia were performed using a Neubauer chamber, where the inoculum was adjusted to 10^7 conidia / ml.

UV treatment. Adjusted inoculum were taken 5mL aliquots and irradiated with UV lamp of 254 nm, 150 volts, 4w (Sankyo Denki) per five different times, 2, 4, 6, 8 and 10 minutes. Distance of irradiation was at 10 cm of the UV lamp.

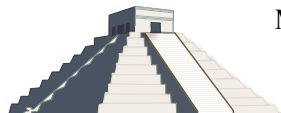
Differential medium by enzymatic semiquantitative assays. Two different selective medium were used by enzymatic assays. Bromocresol purple and colloidal chitin agar for chitinases that contain per liter, 4.5 g of colloidal chitin, 0.3 g of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Sigma Aldrich), 3.0 g of $(NH_4)SO_4$ (Sigma Aldrich), 2.0 g KH_2PO_4 (Sigma Aldrich), 1 g of citric acid monohydrate, 15 g agar (Bioxon), and 0.15 g bromocresol purple (Sigma Aldrich) and 200 μL of Tween[®]-80, pH was adjusted to 4.7. Casein hydrolysis agar for proteases contains KH_2PO_4 (Sigma Aldrich) 1.0 g, KCl (BioBassic Inc.) 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (CTR brand) 0.2 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (BioBassic Inc.) 0.1 g, skim milk 15 % (25 mL), glucose 10.0 g and agar 12.0 g. Both medium were autoclaved at $121^\circ C$ for 15 min and were poured into Petri dishes and allow it to solidify. After each irradiation time, 2 μL aliquots of the irradiated solution were inoculated in petri dishes to be tested activity were incubated at $25^\circ C$ for 3-4 days. Formation of the purple colored zone was observed for chitinase activity (Figure 1a) and degradation halo was observed by protease activity (Figure 1b).

Enzymatic activity interpretation in solid media. For the enzymatic reaction in solid medium interpretation was conducted the criteria of growth rate and enzymatic activity through Potential Index (I. P.), that is equal to (halo diameter + fungal colony) / fungal colony ((Dh+ Dc)/Dc).

Statistical analysis. The results were analyzed with SPSS[®] v.20. (IBM). Initially, Kolmogorov-Smirnov was performed in order to verify data normality. After that, we made ANOVA to verify the significance of results at 0.05 significance.

Results and Discussion

The chitinolytic activity obtained in Bromocresol purple and colloidal chitin medium oscillated from 2,17 to 2,32 (P.I.) being the minimum value for the time exposure of 6 minutes and the maximum value of 2 and 8 minutes with UV radiation. In regard to proteolytic, the activity was



recorded on a range to 2,75 for 10 minutes and 3,44 for 2 minutes. In the Table 1 can be seen the proteolytic and chitinolytic activity expressed in P.I. observed in the treatments.

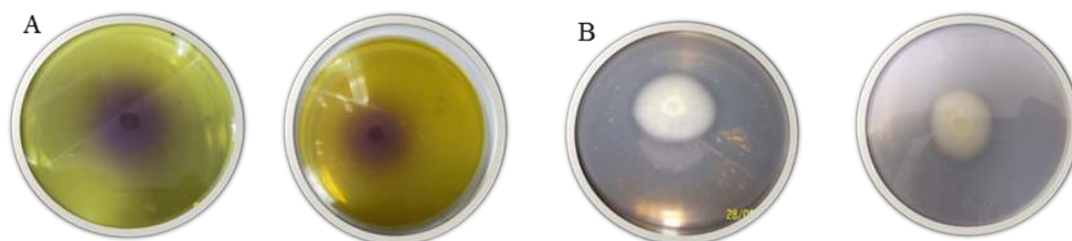


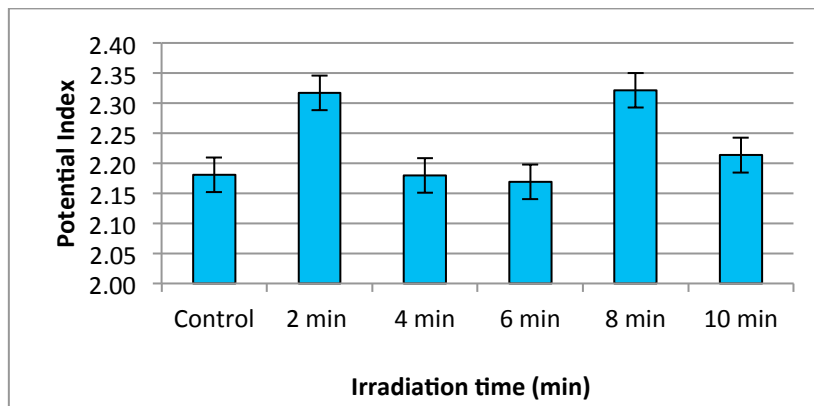
Figure 1. A) Enzymatic assay with Bromocresol purple and colloidal chitin, the change from yellow to purple indicates chitinolytic activity. B) Enzymatic assay with Casein hydrolysis media, the halo indicates proteolytic activity.

Table 1. The different values of Potential Index from the interpretation of the enzymatic assays.

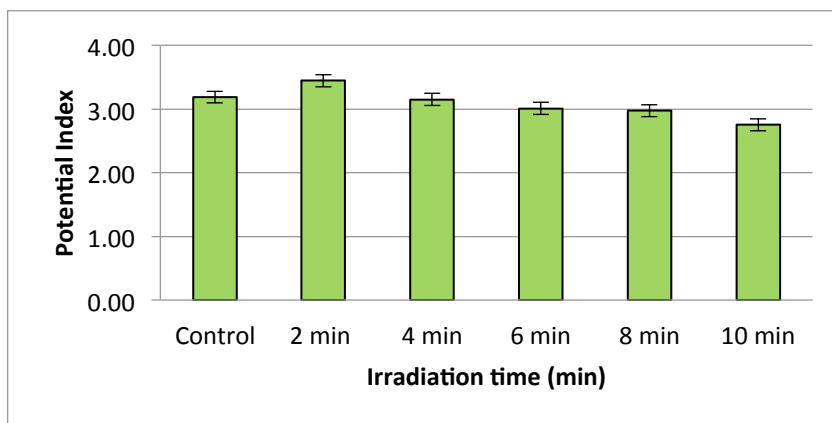
Treatment	Potential Index (PI)	
	Chitinases	Proteases
Control	2,18	3,19
2 min	2,32	3,44
4 min	2,18	3,15
6 min	2,17	3,01
8 min	2,32	2,98
10 min	2,21	2,75
Controls didn't have treatment with UV radiation.		

We observe that in both assays at 6 minutes obtained a decrease of the enzyme activity. However at 2 minutes of exposure we can see that the enzymatic activity increases in the case of proteolytic and chitinolytic activity.

The chitinolytic activity can be affected by UV to positively between 2 or 8 minutes of exposure, however, can be observed that in 4 and 6 min assays is a reduction below the control activity (Graphic 1). in question of the proteolytic activity we can be seen as two minutes of irradiation is slightly increased proteolytic activity but this decreases in the following exposure times, having the lowest value at 10 minutes UV exposure (Graphic 2).



Graphic 1. The values of chitinolytic activity between UV radiation assay. Controls didn't have treatment with UV radiation.



Graphic 2. The proteolytic activity between UV radiation assays. Controls didn't have treatment with UV radiation.

According of this results we determinate there is no a significant difference in proteolytic ($p=0,596$) and chitinolytic ($p=0,739$) activity between different radiation time. In contrast with, it was found that with a wavelength of 302 nm, and a constant exposure time of 60 min was inhibited completely the biological activity of *B. bassiana* spores (Edgington *et al*, 2000). In other hand the viability of spores of *B. bassiana* decreased in relation of control, which agrees with the low spore viability and decreased enzyme activities e.g. lipase (Varela and Morales, 1995). However although no significant was found, we can be inferred that the production of some enzymes such as proteases was affected, which may reduce their pathogenic activity (Bidochka and Khachatourians, 1990). We observed that the production of enzymes varied between the different treatments with UV radiation. Although no significant differences were observed in both activities the major efficiency for chitinolytic activity is in 2 minutes and 8 minutes, for proteolytic activity can be enhanced the major efficiency range is at time of 2 minutes. In both activities we saw that the enzyme activity was related to the rise time and the number of surviving cells to the effect of radiation.

Acknowledgements. PAICYT-UANL CN 1008-11 and PROMEP /103.5 /07 /1735.



References

- Alcázar-Pizaña, A.G. 2007 Obtención de mutantes de *Beauveria bassiana* sobreproductoras de proteasas. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México.
- Bidochka, M.J., Khachatourians, G.G. 1990 Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. Journal of Invertebrate Pathology. 56: 362-370
- Cagán, E., Švercel, M. 2001. The Influence of Ultraviolet light on pathogenicity of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (balsam) villemain to the European corn borer, *Ostrina nubilalis* HBN (Lepidoptera:Crambidae). Journal of Central European Agriculture. 2: 227-233
- Charnley, A., Collins, S.A. 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. In: Howard DH, Miller JD (eds.), the Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp.159-187
- Champlin, F.R., Cheung, P.Y.K., Pekrul, S., Smith, R.J., Burton, R.L., Grula, E.A. 1981. Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. Journal of Economic Entomology. 74: 617-621
- Edgington S., Segura H., De la Rosa, W., Williams, T. 2000. Photoprotection of *Beauveria bassiana*: Testing simple formulations for control of the coffee berry borer. International Journal of Pest Management, 46 (3):169-176.
- Hajek, A.E., St. Leger, R.J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology. 39:293-322.
- Khachatourians, G.G., Sohail, S.Q. 2008. Entomopathogenic Fungi. In: Brakhage A.A., and Zipfel P.F. (eds.), Biochemistry and molecular biology, human and animal relationships, 2nd Edition. The Mycota VI, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg
- Teng, C. 1962. Studies on the biology of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with the reference to microbial control of insects. Act. Bot. Sinica, 10: 210-232
- Tobar, H.S., Velez, A.P., Montoya, R.E. 1998. Field evaluation of one isolate of the fungus *Beauveria bassiana* selected by resistance to the ultraviolet light. /Evaluación en campo de un aislamiento del hongo *Beauveria bassiana* seleccionado por resistencia a la luz ultravioleta./ Revista Colombiana de Entomología. 24:157-163
- Varela, A., Morales, E. 1996. Characterization of Some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry Borer *Hypothenemus hampei*. Journal of Invertebrate Pathology. 67:147-152
- Zakharov, I.A., Levitin, M.M. 1971 Genetic approaches to the selection of entomopathogens and antagonist of phytopathogens, Mikrobiol. Prom-st'. 7: 38.
- Zimmermann, G. 2007 Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Sci. Techn. 17: 553-596.



EVALUACIÓN DE PROTOTIPOS DE FORMULACIÓN DE CONIDIOS DE *Isaria fumosorosea* PARA EL CONTROL DE *Bemisia tabaci*.

Karla Tatiana Murillo-Alonso¹, Víctor Manuel Hernández-Velázquez¹, Laura Patricia Lina García¹, Guadalupe Peña-Chora², Efrén Hernández-Baltazar³. ¹Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), ²Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), ³Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209. E-mail: sulim_luany@hotmail.com, vmanuelh@uaem.mx

Resumen. La formulación a base de microorganismos entomopatógenos es de gran importancia en la agricultura, y es probablemente el obstáculo técnico más significativo que superar en el desarrollo de agentes de control biológico debido a que son microorganismos. En este trabajo elaboramos 18 prototipos de formulación de la cepa EH-511/3 de *I. fumosorosea* para el control de *B. tabaci*, se evaluó la termotolerancia a 50 °C, se obtuvo que seis formulaciones presentaron porcentajes de germinación oscila entre 87 y 91 %, lo que indica que los formulados desarrollados confieren tolerancia a los conidios. También se evaluó la funcionalidad (mortalidad de ninfas de *B. tabaci*, bioensayo en invernadero) de las formulaciones que presentaron mayor termotolerancia, se encontró que los formulados F4, F5, F6, F7, F17, PAESIN y CSF (conidios sin formular) ocasionaron mortalidades en ninfas de mosca blanca que oscilan entre un 43 y 56% siendo estadísticamente iguales entre ellos.

Palabras clave: conidios, aceites, formulación, germinación, termotolerancia.

Introducción

Bemisia tabaci, conocida también como mosquita blanca es una plaga polífaga y de amplia distribución geográfica convirtiéndose en un serio problema fitosanitario ya que es transmisora de diversos virus. La especie *Isaria fumosorosea* causa epizootias naturales en mosca blanca y es capaz de infectar todos los estados de desarrollo de la mosquita blanca, dando como resultado altos niveles de mortalidad en menor tiempo en comparación con otros hongos (Osborne y Landa, 1992; Smith, 1993). La cepa EH-511/3 tiene una CL_{50} sobre ninfas en tercer estadio de 7.28×10^4 c/mL y una TL_{50} de 98.81 h a una concentración de 1×10^7 c/mL (Murillo *et al.*, 2012).

La formulación es el proceso mediante el cual el ingrediente activo se mezcla con ingredientes inertes, coadyuvantes y surfactantes que acondicionan al conidio para mejorar su vida de anaquel, manipulación, aplicación y efectividad biológica. Sin embargo, una formulación adecuada de estos microorganismos requiere de una protección contra el efecto de temperatura, radiación solar, entre otros factores condicionantes (Burges, 1998). La protección de conidios se logra mediante mezclas de adherentes-dispersantes de tipo aceitoso o aquellos que facilita a que el ingrediente activo quede encapsulado, esto permite que las gotas finas impacten y persistan sobre los insectos que se desean controlar. En condiciones de ambientes secos con altas temperaturas es recomendable utilizar emulsiones (formulaciones aceitosas) ya que se ha



demostrado que las emulsiones son más efectivas que las suspensiones acuosas (Hernández, 2003). Los materiales inertes y coadyuvantes utilizados para realizar una formulación deben ser inocuos al ambiente, no deben tener actividad biológica, deben tener características físicas adecuadas para mezclarse con los conidios y que ayuden a la aplicación del producto, no deben afectar la actividad biológica del hongo y deben ser económicos.

El objetivo de nuestro trabajo es desarrollar de formulaciones líquidas estables y funcionales para la aplicación de la cepa EH-511/3 de *I. fumosorosea* para el manejo *B. tabaci*, ya que los conidios de la cepa EH-511/3 de *I. fumosorosea* tienen un alto potencial como agentes de control biológico de mosquita blanca, pero es necesario desarrollar formulados que posean vida de anaquel prolongada y conserven la viabilidad y virulencia de los conidios para su futura comercialización.

Materiales y métodos

Se elaboraron 18 formulaciones que contienen conidios de la cepa EH-511/3 de *I. fumosorosea*; se desarrollaron empleando el número de HLB, la afinidad de conidios-aceites y la compatibilidad hacia emulsificantes entre otra cosas (Murillo-Alonso *et al.*, 2013). Estos formulados se desarrollaron en porciones de 50 g con tres repeticiones, los formulados contienen 1×10^{11} conidios, aceite o mezclas de aceites: mineral, ricino, soya, cacahuate, maíz, canola y aceite de oliva; y emulsificantes.

Los 18 formulados y el control de conidios suspendidos en agua con Tween 80 al 0,2% (v/v), se expusieron a 50 °C durante 8 h, las tasas de germinación son evaluados. Se tomó una muestra de 1 mL de cada una de las formulaciones y se colocan en un tubo eppendorf (tres tubos/tratamiento), los tubos fueron expuestos a 50 ° C durante 2 y 8 h en una incubadora. Después de la incubación, los formulados se suspendieron en cada uno de sus vehículos correspondientes y el control en agua con Tween 80 al 0,2% (v/v). Los formulados se ajustaron a concentración de 1×10^4 conidios / ml y se tomó 0.1 mL de cada formulado, se vertió la muestra en las cajas Petri que contienen el medio de cultivo PDA, se distribuyó con perlas de vidrio y se selló, posteriormente las cajas se colocaron en la incubadora a una temperatura a 25°.

Se evaluaron los formulados 3, 4, 5, 6, 7, 17; como controles se emplearon PAE SIN líquido, conidios sin formular (suspensión en agua con Tween al 0.01%), un insecticida químico (dosis recomendada en ficha técnica para el control de mosquita blanca) y un control negativo (agua). La mortalidad de las formulaciones desarrolladas se evaluó en invernadero en plantas de Tomate híbrido RECOVA, se fraccionó el invernadero en tres bloques al azar, se evaluaron 10 tratamientos y 3 repeticiones independientes. Se separó con plástico cada bloque y unidad experimental; las unidades experimentales consistieron en 12 plantas de aproximadamente 120 cm de altura por tratamiento. Las formulaciones se diluyeron 1:200, se aplicó de cada tratamiento por unidad experimental. Se tomaron muestras y marcaron al azar hojas de jitomate infestadas de mosca blanca y se contabilizó el número de ninfas infestadas por cm^2 ; se muestreo a los días 3, 5 y 7.



Resultados y Discusión

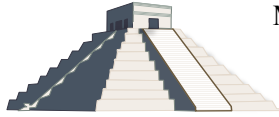
La temperatura es el principal factor que influye longevidad de conidios y la actividad biológica de la formulación. En general, las temperaturas óptimas para generales la germinación, el crecimiento, la esporulación y la virulencia de hongos entomopatógenos han sido notificados al rango entre 20 y 30 ° C (Hsia *et al.*, 2014). La tolerancia de los conidios a altas temperaturas es poco probable ya que por lo general se inactiva a temperaturas mayores a 35-40°C (Goettel *et al.*, 2000); por ello la importancia de desarrollar una formulación que confiera protección y permita la efectividad del principio activo. Se evaluó la exposición de los 18 formulados a 50°C por 8 horas, el análisis de varianza mostró diferencias significativas para los formulados (P<0.05), se realizó la comparación múltiple de medias por DMS mostró seis formulados (F3, F4, F5, F6, F7, F17) estadísticamente iguales entre ellos con porcentajes de germinación que oscila entre 87 y 91 % de germinación y diferentes a las demás; el control no presentó porcentaje de germinación. Por lo que la mezcla de aceites y emulsificantes no son únicamente ingredientes de la formulación, sino que también actúan como protectores térmicos, ya que tienen por lo general elevados puntos de ebullición, así como ácidos grasos; que están implicados en la protección de las células al estrés térmico (Kim *et al.*, 2011).

Una formulación adecuada debe ser capaz de satisfacer los requisitos de eficacia y vida útil, entre otras cosas. Se evaluó la mortalidad en invernadero de los formulados F3, F4, F5, F6, F7 y F17, y de los controles ya mencionados en la metodología. El análisis de varianza de la mortalidad mostró diferencias significativas para los tratamientos evaluados a los siete días (P< 0.05). Al realizar la comparación de medias, el control químico ocasionó el 65% de mortalidad; los formulados F4, F5, F6, F7, F17, PAESIN y CSF (conidios sin formular) ocasionaron mortalidades que oscilan entre un 43 y 56% siendo estadísticamente iguales entre ellos. Estrada en el 2010 cuantificó la mortalidad de ninfas del primer, segundo y tercer estadio de mosquita blanca en invernadero con plantas de jitomate de la cepa EH-511/3 de *I. fumosorosea*; este microorganismo fue evaluado a una concentración de 1×10^7 conidios /mL y ocasionó el 62%, 66% y 72% en ninfas del primer, segundo y tercer estadio respectivamente. La diferencia entre este y el bioensayo que realizamos, es que aquí se cuantifico únicamente el número total de ninfas de mosquita blanca y la concentración aplicada fue de 2×10^7 conidios /mL y se evaluó la funcionalidad de las formulaciones; cabe destacar que nosotros reportamos la mortalidad corregida, donde se toma en cuenta el efecto ocasionado por el blanco.

Agradecimientos. El primer autor agradece a CONACyT la beca para estudios de postgrado.

Literatura citada

- Burges, H. D. 1998. Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer, Dordrecht.
- Estrada U. R. L. 2010. Interacción de la cepa GP139 de *Bacillus thuringiensis* e *Isaria fumosorosa* en invernadero para el control de *Bemisia tabaci* en jitomate. Tesis: Maestro en Ciencias agropecuarias y desarrollo rural. Universidad Autónoma del Estado de Morelos



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Hernández, V. V. M. 2003. Efecto del contenido de humedad de conidios formulados de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) sorokin sobre la viabilidad y producción de exudados en almacenamiento y virulencia sobre *Schistocerca paiceifrons* (Orthóptera: Acrididae). Tesis : Doctorado. Área de biotecnología, Universidad de Colima, México. 130 p.
- Hsia I. C. C., Islam Md.T., Ibrahim Y., How T.Y. and Dzolkhifli O. 2014 Evaluation of Conidial Viability of Entomopathogenic Fungi as Influenced by Temperature and Additive. International journal of agriculture & biology,16: 146–152.
- Kim J. S., Je Y. H., Woo E. O y Park J, S. 2011. Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. Mycopathologia, 171(1):67-75.
- Murillo-Alonso K. T., Hernández-Velázquez V. M., Lina-García L. P., Peña-Chora G. y Hernández-Baltazar E. 2013 Formulación de conidios de *Isaria fumosorosea* para el control de *Bemisia tabaci*. En Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca, México.
- Murillo-Alonso K. T., Peña-Chora G. y Hernández- Velázquez V. M.2012. Virulencia de conidios desarrollados en sustrato sólido arroz y plátano de la cepa EH-511/3 de *Isaria fumosorosea*. En Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Puebla, Mexico
- Osborne L. and Landa Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomological Society, 75:465-471.
- Smith P. 1993. Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. Biocontrol News and Information, 14(4):71-78.



EFICACIA DE ACEITES ESENCIALES Y CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DEL *Diaphorina citri* EN TAMAULIPAS

Mireles-Martínez, M., Alba-Moreno, I.M., Villegas-Mendoza, J.M., Rosas-García, N.M. Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Blvd. Del Maestro S/N Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza. C.P. 88710. Cd. Reynosa, Tamaulipas, México. mmireles@ipn.mx

Resumen. Los aceites esenciales y los hongos entomopatógenos, son utilizados ampliamente por sus propiedades insecticidas hacia una gran variedad de plagas de importancia económica. En este estudio se evaluó la eficacia insecticida de diferentes aceites esenciales y de cepas de *M. anisopliae* (*Ma*) para el control de *Diaphorina citri*, mediante bioensayos *in vitro*. El aceite esencial de ciprés y la cepa Ma57, causaron una mortalidad mayor al 50% y 75%, respectivamente. Estos agentes activos serán seleccionados como componentes de una formulación biorracional para el control del psílido como una alternativa a los productos comerciales actuales.

Palabras clave: Aceites esenciales, *Metarhizium anisopliae*, *Diaphorina citri*, Control biorracional

Introducción

Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae), es el insecto vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter*, la cual es responsable de la enfermedad Greening o Huanlongbing, que afecta principalmente a los cítricos a nivel mundial (Hall *et al.*, 2013). Este psílido se distribuye en las zonas cítricas del país lo que lo lleva a ser una amenaza en la producción nacional, debido a que México participa con más de 13 millones de pesos en la producción de cítricos con cultivos como naranja, toronja, limón y mandarina. Y Tamaulipas se posiciona en el primer lugar con la producción de la mandarina y en segundo lugar con la naranja, además participa con la producción de toronja y limón para sumar un total de \$1, 185,357.00 en la producción nacional (SIAP, 2013). Esto abre una perspectiva sobre la importancia económica que representa el manejo del psílido, por lo que a lo largo de las regiones cítricas del país, se han implementado diferentes medidas para su manejo, sobresaliendo por su eficacia y rápido control los tratamientos químicos, sin embargo, sus efectos secundarios y resistencia a los compuestos ya han sido discutidos (Tiwari *et al.*, 2011). Otras medidas han sido evaluadas; como parte del control natural se ha aplicado masivamente insectos benéficos y el control microbiano a través de hongos entomopatógenos (HE). Diversos estudios han demostrado el efecto patogénico de los HE hacia ninfas y adultos con mortalidades entre el 56-90% con especies como *Hirsutella citriformis*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosorosae* (*Isaria fumosorosea*) y *M. anisopliae* (SENASICA, 2010)(Arredondo-Bernal, *et al.*, 2010) (Subandiyah, *et al.*, 2010). Por otra parte, los aceites esenciales son conocidos por sus propiedades insecticidas, disuasivas de la oviposición, antialimentarios (Dayan *et al.*, 2009). En base a lo anterior, los aceites esenciales y la combinación con HE, pueden ser utilizados como una alternativa hacia los insecticidas químicos, como parte del control biorracional del psílido. Razón por la cual en este estudio se



llevó a cabo la evaluación *in vitro* de la eficacia insecticida de aceites esenciales y la patogenicidad de *M. anisopliae* para el control de *D. citri* en su etapa de adulto.

Materiales y métodos:

Selección de aceites esenciales y de HE: Los aceites esenciales de ciprés, eucalipto, menta fueron adquiridos en la casa comercial Aloha (Edo. de México), los AE de limón y naranja de Neals Yard (Londres) y el aceite puro de ajo San Lucas[®] (Maprinsa, S.A. de C.V.), los cuales fueron seleccionados por tener compatibilidad biológica hacia las cepas de *M. anisopliae* (resultados no mostrados). Por otra parte, las claves de las cepas de *Ma* son: Ma56, Ma57, Ma60, Ma62, Ma67. Las cepas fueron activadas en Agar Dextrosa Papa, suplementado con extracto de levadura (1%), la esporulación fue realizada mediante el método de difusión, a 28°C. La colecta de conidias se realizó mediante raspado en seco a los 21 días de incubación.

Bioensayos de toxicidad de aceites esenciales contra adultos de *D. citri*: Se realizó mediante la inoculación directa de 30 adultos de *D. citri* por repetición, con 5 repeticiones. Para verificar la toxicidad de los aceites esenciales contra el insecto se evaluaron 2 tratamientos. El primero consistió en una suspensión en Tween[®] 80 al 0.05% en los siguientes aceites esenciales: ajo, ciprés, eucalipto, limón, menta y naranja, ajustados a una dosis de 1 mL/L (Fontes-Puebla, 2012). Como testigo los insectos fueron asperjados con una solución de Tween80[®] al 0.05%, y fueron transferidos a la unidad experimental.

Bioensayos de patogenicidad hacia adultos de *D. citri*: Los insectos fueron enfriados durante 6 min a 4°C para adormecerlos y permitir su manejo. Enseguida se colocaron en toallas de papel estériles (Hoy *et al.*, 2010) y fueron rociados con una suspensión de 3×10^8 conidias/mL por cepa. En seguida, los insectos se transfirieron con un pincel (pelo de camello), en grupos de 10 a una rama turgente de naranjo (*Citrus sinensis*) que representó la unidad experimental, por quintuplicado. La rama se colocó en el interior del recipiente de plástico, que contenía en su interior un recipiente de plástico con 7 g de hidrogel (Water gems[®]). Para evitar el contacto directo del insecto con el hidrogel, se perforó la tapa del vaso de 30mL, todos los vasos se cubrieron con “tela de tul”, sujeta con ligas de hule para garantizar la aireación (Morales *et al.*, 2010). El control negativo consistió en la aplicación de agua destilada estéril con Tween 80[®] al 0.05%. Para el control positivo se utilizó el insecticida comercial PHC[®] META TRON[®] que contiene conidias de *M. anisopliae* de la cepa Abn Ma201, de tipo polvo humectable y se aplicó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Cada bioensayo se incubó a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, con fotoperiodo de 12:12 L:O y una HR del 60% (Hoy *et al.*, 2010) durante 7 días.

Análisis estadístico

Los datos del porcentaje de mortalidad obtenidos de ambos bioensayos fueron transformados en arco seno y en seguida se ejecutó un ANOVA y las medias fueron comparadas con prueba de Tukey ($P < 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS (Versión 15). Los datos reportados del porcentaje de mortalidad mostrados en las tablas corresponden a las medias de los porcentajes originales.



Resultados y Discusión

Los bioensayos de toxicidad de los aceites esenciales hacia adultos de *D. citri* se muestran en el cuadro 1. El ciprés causó una mayor efecto tóxico a los psílicos adultos con un $55.99 \pm 3.48\%$ de mortalidad, mientras que el AE de naranja causó menor efecto insecticida con 21.86 ± 2.12 , se obtuvo 3 niveles de significancia de los 7 tratamientos, con una diferencia significativa del ($F=14.33$, $gl=34$, $P < 0.00$).

Cuadro 1. Mortalidad causada por aceites esenciales en adultos hacia *D. citri*.

TRATAMIENTOS	MEDIA \pm EE
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	$27.32 \pm 2.01b$
Ciprés (<i>Cupressus sempervirens</i>)	$55.99 \pm 3.48c$
Eucalipto (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>)	$15.29 \pm 4.24ab$
Limón (<i>Citrus limonum</i>)	$31.33 \pm 1.79b$
Menta piperita (<i>Mentha sativa</i>)	$31.87 \pm 0.71b$
Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	$21.86 \pm 2.12ab$
Testigo absoluto	9.33 ± 2.16^a

Valores seguidos por letras iguales en la misma columna, no son diferentes significativamente, Prueba de Tukey (SPS, Versión 15); $P < 0.05$ y $\alpha = 0.05$.

Las cepas de *Ma* presentaron un porcentaje de mortalidad variable entre el 39 al 75% en adultos de *D. citri*, mientras que el fungicida comercial causó el 28% de mortalidad (Cuadro 2 y 3). Las cepas Ma56 y Ma57 fueron evaluadas por Arredondo-Bernal, (2010) hacia ninfas del psílido con resultados del 56 y 59% de mortalidad respectivamente, resultados inferiores al observado en nuestro trabajo. Esto indica que los psílicos presentan diferente grado de susceptibilidad hacia las cepas de *Ma* analizadas, en sus etapas de ninfas o adultos de acuerdo a los resultados observados.

Cuadro 2. Mortalidad causada por cepas de *M. anisopliae* spp., hacia adultos de *D. citri*.

Tratamientos	Media \pm EE
Ma 56	$46.04 \pm 5.42b$
Ma 57	$75.20 \pm 2.44c$
Ma 60	$61.60 \pm 4.41bc$
Testigo absoluto	16.40 ± 1.93^a

Valores seguidos por letras iguales en la misma columna, no son diferentes significativamente, Prueba de Tukey (SPS, Versión 15); $P < 0.05$ y $\alpha = 0.05$.

Cuadro 3. Mortalidad causada por cepas de *M. anisopliae* spp., en adultos de *D. citri*.

Tratamientos	Media \pm EE
PHC [®] META TRON [®]	$26.8 \pm 0.71b$
Ma 62	$39.2 \pm 0.18bc$
Ma 67	$56.4 \pm 0.05c$
Testigo absoluto	$10.4 \pm 0.125a$

Valores seguidos por letras iguales en la misma columna, no son diferentes significativamente, Prueba de Tukey (SPS, Versión 15); $P < 0.05$ y $\alpha = 0.05$.



De acuerdo a los resultados obtenidos la cepa Ma57 de *M. anisopliae* será considerada como agente activo de una formulación biorracional, que presente como co-adyuvante el aceite esencial de ciprés en su composición, por ser los agentes con mayor mortalidad hacia adultos de *D. citri*.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo otorgado al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico por la donación de cepas de *M. anisopliae*; al Comité para el Fomento e Investigación Citrícola del Estado de Tamaulipas “Gral. Fco. Villa”, Cd. Victoria por las facilidades prestadas para la realización de los bioensayos; a Fondos Mixtos Tamaulipas por el soporte financiero (Proyecto 177332), así como a la SIP-IPN y COFAA

Literatura citada

- Arredondo Bernal, H.C., Sánchez González, J.A., Merlin-Rosas, M.A. (2010). Avances en el control biológico del psílido asiático de los cítricos en México. *VI Simposio Internacional Citricola, Colima*.
- Fontes-Puebla, A.A., Fu-Castillo, A.A., López-Arroyo, J.I. 2012. Eficacia de productos orgánicos foliares para el control de ninfas y adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Biotecnia*. XIV(2)26-31.
- Hall D.G., Richardson, M. L., Ammar E.D. y Halbert, S.E. (2013). Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146, 20-223.
- Hoy, M.A., Singh, R., Rogers, M.E. (2010). Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomologist*, 93(1), 24-32.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2010. <http://www.senasica.gob.mx>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2013. Producción Anual de Cítricos en México. Consultado en línea. HYPERLINK "<http://www.siap.gob.mx/>" <http://www.siap.gob.mx/>. Revisado 2014. Actualizado 2013.
- Subandiyah, S. Nikoh, N. Wagiman F., Tsuyumu's S., Kukatsu, T. (2010). Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera, Psylloidea) in Indonesia. *Mycoscience*, 41, 509-513.
- Tiwari, S., Mann, R.S, Rogers, M.E, Stelinski, L.L. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Manag Sci* 67(10):1258-68.



COMPATIBILIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES ESENCIALES HACIA *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CLAVICIPIITACEAE)

Alma Delia Paz-González¹, Maribel Mireles-Martínez^{1*}, Juan Eduardo Navarro-Sáenz², Jesús Manuel Villegas-Mendoza¹ y Ninfa María Rosas-García¹. ¹Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. del Maestro, s/n, Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, 88710, Reynosa, México. ²Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Calle Fuente de Diana, Aztlán, 88740 Reynosa, Tamaulipas.*mmireles@ipn.mx

Resumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto biológico de aceites esenciales sobre la germinación de *Beauveria bassiana* hongo entomopatógeno que es utilizado comercialmente como agente de control biológico para el control de insectos plagas. En este estudio los resultados evidencian que los aceites de eucalipto y ajo, permitieron la germinación de la cepa Bb119 mayor al 98%, los cuales pueden ser seleccionados como agentes coadyuvantes en una formulación biorracional, mientras que el aceite esencial de lavandín presentó mayor efecto inhibitorio mayor al producto comercial.

Palabras clave: Aceites esenciales, *Beauveria bassiana*, compatibilidad biológica

Introducción

Se conocen más de 700 especies de hongos entomopatógenos (HE) distribuidos en 90 géneros, sin embargo, solo menos del 2% son utilizados en el control microbiano de insectos (Rosas-García *et al.*, 2011). La mayoría no presentan efecto nocivo a plantas, ni toxicidad a humanos y animales (Skinner *et al.*, 2014). *Beauveria bassiana* es la segunda especie de HE más reportada en el control biológico, este hongo ataca a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola, entre las que están la broca del café, la palomilla del repollo, picudo del plátano (Monzón, 2001) y el psílido asiático de los cítricos. Los aceites esenciales (AE) son mezclas naturales complejas que contienen cerca de 20-60 componentes, de los cuales de dos a tres son reconocidos como los componentes mayoritarios con concentraciones entre un 20-70% (Bakkali *et al.*, 2008), responsables de sus propiedades antimicrobianas e insecticidas. Así como los HE, los aceites esenciales han sido propuestos como una alternativa a los insecticidas químicos (Regnault-Roger, 1997), por demostrar propiedades insecticidas, larvicidas, de repelencia, ovicidas, disuasivas entre otras, (Dayan *et al.*, 2009), formando parte del control biorracional de insectos. Razón por la cual el objetivo de este trabajo fue evaluar la compatibilidad diferentes aceites esenciales hacia la germinación de la cepa Bb119 de *Beauveria bassiana* y ser utilizados como coadyuvantes en una formulación biorracional para el control de insectos.

Materiales y Métodos

Aceites esenciales: Los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill), lavandín (*Lavandula hybrida*), ciprés (*Cupressus sempervirens*), y mandarina (*Citrus reticulata*) fueron



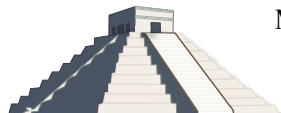
obtenidos de la casa comercial Aloha[®] (Edo. de México), naranja (*Citrus sinensis*) y limón (*Citrus limonum*) fueron obtenidos de Neals Yard (Londres), el aceite de ajo (*Allium sativum*) de San Lucas[®] (Maprinsa, S.A. de C.V).

Selección de la cepa y preparación de medios: Se utilizó la cepa Bb119 de *Beauveria bassiana* la cual fue activada en Agar Dextrosa Saboraud (ADS), para tener una alta concentración de esporas se utilizó el método de difusión, las cajas se incubaron a 28°C durante 21 días. Las conidias fueron colectadas por raspado y la cuantificación en cámara Neubauer. Para la preparación de los medios se modificó la técnica del pozo en agar reportada por Ríos *et al.*, (1988), se utilizó ADS y se formó un pozo en el centro de aprox. 14 mm en condiciones asépticas. Los AE fueron dispersados con un asa de Digrafsky, y se dejaron secar 10 min. Cada tratamiento fue inoculado en el centro del pocillo; testigo positivo (producto comercial Physan 20[®]), testigo negativo (agua destilada estéril), tratamiento (2×10^6 con/ml), se sellaron con una película de parafina, y se dejaron secar de 5 a 10 min en una campana de flujo vertical, enseguida se mantuvieron a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, H.R. 80%.

Evaluación de la actividad antifúngica: Se realizó un ensayo preliminar para evaluar el efecto de los AE sobre el crecimiento micelial de Bb119 a dos concentraciones (0.5% y 0.05%), el desplazamiento micelial se midió con Vernier (Scala, México) hasta el octavo día, estos resultados se usaron como base para seleccionar una concentración media de trabajo. Cada AE se evaluaron a 0.25% mediante Vernier, se determinó el fin del bioensayo hasta que la caja del testigo negativo alcanzó aproximadamente 50 mm de diámetro. El diámetro de crecimiento obtenido en los tratamientos, se utilizó para determinar el porcentaje de crecimiento y el porcentaje de inhibición, considerando que la inhibición es el inverso del crecimiento, mediante las siguientes formulas:

$$\% \text{ de crecimiento} = \frac{\text{Diámetro del crecimiento del HEP en el medio}}{\text{Diámetro del testigo negativo}} \times 100$$
$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento.}$$

Para evaluar el efecto antifúngico de los aceites esenciales se consideró el efecto tóxico que los aceites esenciales provocaron sobre el crecimiento de la cepa, de acuerdo a los siguientes criterios reportados por Arslan y Dervis (2010): Toxicidad absoluta (100% de inhibición), fungitoxicidad moderada (<100% pero > 50% de inhibición) y fungitoxicidad pobre (<50% de inhibición). Los resultados de crecimiento micelial a una concentración de 0.25% fueron realizados por quintuplicado y se sometieron a un Análisis de Varianza, la comparación de medias se llevó mediante la prueba de Tukey utilizando el programa SPSS.



Resultados y discusiones

Los aceites esenciales les atribuye propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas, por lo que son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica, alimentaria y agrícola (Solórzano-Miranda, *et al.*, 2012). Los siete AE a una concentración de 0.05% permitieron el desarrollo micelial de la cepa, sin embargo, a una concentración de 0.5% los aceites esenciales mostraron diferente efecto inhibitorio o de retraso hacia la cepa Bb119. Los aceites de lavandín, naranja y limón inhibieron el desarrollo de Bb119, mientras que los aceites de eucalipto y ciprés retardaron de uno a dos días el desarrollo del hongo. Sin embargo, los aceites de mandarina y ajo permitieron el desarrollo micelial de Bb119. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de los aceites esenciales sobre el crecimiento micelial de *B. bassiana* (Bb119) a 0.5% y 0.05

	Concentración	Crecimiento micelial durante 8 días (mm)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Testigo (-)	0.05%	20	22	26	30	32.5	48	52	55
Fungicida	1.25%	16.5	18.5	21	24	26	31	33	35
Eucalipto	0.50%	N/C	N/C	17	24	26	40	44	48
Mandarina	0.05%	15	20	26	30	32	47	50	53
	0.50%	10	17	20	26	30	33	37	40
Ajo	0.05%	20	21	23	26	28	30	34	38
	0.50%	20	22	24	27	28	28	28	29
Lavandín	0.05%	21	23	25	31	34	39	44	47
	0.50%	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C
Naranja	0.05%	15	17	24	26	28	32	37	38
	0.50%	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C
Limón	0.05%	11	16	19	21	24	26	28	29
	0.50%	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C
Ciprés	0.05%	14	17	20	22	25	27	29	31
	0.50%	N/C	13	14	17	20	23	25	26
	0.05%	14	17	20	24	27	29	32	33

En base a lo anterior se propuso continuar los ensayos con una concentración media de 0.25.



Cuadro 2. Crecimiento micelial de *B. bassiana*, en presencia de diferentes aceites esenciales.

Tratamiento	Concentración	Crecimiento micelial	% de crecimiento micelial	% de inhibición
Testigo (-)	0.025%	51 ± 0.00 a	100.0	0
Fungicida	0.25%	41.8 ± 0.860 c	82.0	18
Ajo	0.25%	51.4 ± 0.980 a	100.8	0
Eucalipto	0.25%	50.8 ± 0.374 a	99.6	0.4
Limón	0.25%	48.0 ± 1.14 ab	94.1	5.9
Ciprés	0.25%	44.4 ± 0.980 bc	87.1	12.9
Naranja	0.25%	41.6 ± 0.400 cd	81.6	18.4
Mandarina	0.25%	37.6 ± 0.245 de	73.7	26.3
Lavandín	0.25%	36.0 ± 1.34 e	70.6	29.4

Los valores están representados como la media ± EE de 5 experimentos
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, según la Prueba de Tukey (P<0.05). *T(-), se aplicó 0.025% de agua destilada estéril

En el cuadro 2, se observa los resultados sobre la compatibilidad de los AE hacia Bb119. A la concentración de 0.25% los AE causaron un efecto de fungitoxicidad pobre ya que causaron <50% de inhibición en Bb119. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que estos AE presentan un grado de toxicidad diferente, por ejemplo Viuda-Martos, *et al.*, (2008) reportó que los AE de naranja y limón a 0.27% causaron un efecto inhibitorio hacia mohos de alimentos entre 15 y 29%, mientras que en nuestro estudio fue >18 y >5%, respectivamente. Chutia, *et al.*, (2009) reportó que a 0.20% el AE de mandarina causó una inhibición mayor al 95% sobre fitopatógenos, mientras que en la cepa Bb119 causó una inhibición del 26%. Batish, *et al.*, (2008) reportó que los componentes del AE de eucalipto presentan propiedades antifúngicas, sin embargo en nuestro estudio permitió el crecimiento micelial entre el 99.6%. Los diversos aceites esenciales utilizados en este estudio presentaron una compatibilidad mayor al 70% hacia *B. bassiana*, a pesar de ser reportados como antifúngicos de patógenos de alimentos y de plantas. Sin embargo, la cepa Bb119 de *B. bassiana* mostró una mayor compatibilidad biológica hacia los AE de eucalipto y ajo, por lo que pueden ser seleccionados como coadyuvantes en una formulación biorracional para el control de insectos plagas.

Agradecimientos. Los autores agradecen al Centro Nacional del Referencia de Control Biológico por la donación de la cepa Bb119. A la SIP y COFAA por el apoyo económico.



Literatura citada

- Arslan, M., & Dervis, S. (2010). Antifungal activity of essential oils against three vegetative-compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(10), 1813-1821.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K. and Kaur, S. 2008. *Eucalyptus* essential oil as natural pesticide. *For. Ecol. Manage.* 256: 2166–2174.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils. *Rev. Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475.
- Chutia, M., Deka-Bhuyan, P., Pathak, M. G., Sarma, T. C. and Boruah, P. 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *LWT-Food Science and Technology* 42 (3): 777-780.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. 2009. Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(12), 4022-4034.
- Regnault-Roger, 1997. The potential of botanical essential oils for insects pest control. *Integral pest management Review*, 2:25-34.
- Ríos JL, Recio MC, Villar A. 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J Ethnopharmacol.* 23(2-3):127–149. doi: 10.1016/0378-8741(88)90001-3.
- Skinner M., Parker B.L., Su Kim, J. 2014. Chapter 10. Role of entomopathogenic fungi in integrated pest management. *Integrated Pest Management*. P. 169-191
- Rosas- García, N.M, Villegas-Mendoza, J.M., Sánchez-Varela, A. 2011. Fungi entomopathogenic. In: *Biological Control of Insect Pest*. Studium Press
- Solórzano-Santos F., Miranda-Novales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology.* 2012; 23: 136-141.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, 19(12), 1130-1138.



EVALUACIÓN DE SEIS PROTOCOLOS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Gilda Y. Andrade-Michel, María G. Serna-Domínguez y Adrien Gallou. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA-DGSV, Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, 28100, Tecomán, Colima, México.gilda.am@gmail.com

Resumen. La pared celular de los hongos, por su rigidez dada por presencia de proteínas y polisacáridos (entre otros), dificulta la obtención de ADN. Análisis con técnicas como huella genética (AFLPs e ISSR) y relaciones filogenéticas, requieren ADN genómico de alta calidad. Con el uso de kits comerciales se garantiza la extracción de ADN, aunque no la concentración e integridad. Los protocolos convencionales aseguran la obtención de ácidos nucleicos con buena concentración, sin embargo se alcanzan bajos estándares de pureza. El objetivo de este trabajo es establecer un protocolo que funcione adecuadamente para cuatro géneros de hongos entomopatógenos (HE) utilizados como agentes de control biológico en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (*Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* e *Hirsutella*). Se llevaron a cabo extracciones con tres kits comerciales y tres protocolos convencionales, se realizaron dos repeticiones biológicas, cada una con tres repeticiones técnicas. Después se hicieron pruebas de calidad en espectrofotómetro, electroforesis en gel de agarosa y electroforesis capilar para detectar integridad, concentración y pureza. Resultados preliminares indican buena calidad en las muestras extraídas con el kit Qiagen y el protocolo convencional SDS (dodecil sulfato de sodio) para el caso de los géneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria*.

Palabras clave. Pared celular, protocolos de extracción, calidad del ADN, espectrofotometría, electroforesis capilar.

Introducción

Para corroborar la identificación de aislados de la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) por medio de técnicas usadas ampliamente en biología molecular, tales como huella genética, microsatélites, secuenciación entre otras, es obligatorio utilizar ADN de alta calidad. La complejidad en la extracción de un ADN con la característica antes mencionada radica en la composición de la pared celular de los hongos.

Los hongos tienen un alto contenido de polisacáridos y proteínas en su pared celular (que le brindan rigidez) (Pontón, 2008), los cuales pueden no eliminarse por completo durante la extracción coprecipitando con el ADN e inhibiendo la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Además los HE, producen una gran variedad de metabolitos secundarios, algunos altamente efectivos desde el punto de vista biológico (Borjes *et al.*, 2010) aunque difíciles de eliminar en la extracción. Por ello es necesario implementar métodos especiales para realizar la lisis o ruptura celular que permita la obtención de ADN íntegro, con buena concentración y pureza (Gupta *et al.*, 2013)



El aislamiento del ADN se resume en cuatro pasos: lisis celular, extracción del ADN, precipitación y purificación, de manera general, la lisis o ruptura celular se lleva a cabo mecánicamente con mortero y pistilo; enzimas; con o sin buffer de extracción (Clark, 2005). La mayoría de los buffers contienen detergentes como dodecil sulfato de sodio (SDS) o bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), una molécula quelante (como EDTA que desestabiliza la membrana e inhibe las ADNasas, y sales que protegen al ADN evitando que se degrade (Eguiarte *et al.*, 2007)). Una vez liberado el contenido celular con la lisis, se excluyen el resto de las moléculas agregando etanol, o un buffer de lavado quedándose únicamente con el ADN, éste se purifica y resuspende en agua o buffer libre de nucleasas y RNAsas, terminando así el proceso de extracción.

El objetivo de este trabajo es seleccionar entre seis protocolos de extracción de ADN (tres convencionales y tres con kit) el adecuado para los géneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* e *Hirsutella*, por medio de un estricto control de calidad con espectrofotometría, electroforesis (en gel de agarosa y capilar) y PCR.

Materiales y métodos

A partir de micelio liofilizado de muestras de *Metarhizium anisopliae* (CHE-CNRCB235), *Isaria fumosorosea* (CHE-CNRCB310) y *Beauveria bassiana* (CHE-CNRCB168) (Cuadro 1), se realizó una maceración con nitrógeno líquido, se colocaron 10 mg de muestra en tubos eppendorf de 1.5 mL y se guardaron a -80°C (RevcTM Thermo Scientific). Las extracciones de ADN se llevaron a cabo con 6 métodos: 3 protocolos con kits comerciales y 3 protocolos convencionales. Los protocolos comerciales son: 1) DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen[®]), 2) AxyprepTM Multisource Genomic DNA Miniprep (Axygen[®]) y 3) Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Promega[®]); mientras que los convencionales son: 4) Osama *et al.*(2011) (SDS 0.5%), 5) Verbylaité *et al.*(2010) (CTAB 1% con β -mercaptoetanol) y 6) Cubero *et al.*(1999) (CTAB 1% y PVPP 1%). En total para cada muestra (CHE-CNRCB235, CHE-CNRCB310 y CHE-CNRCB168) se hicieron dos repeticiones biológicas con tres repeticiones técnicas cada una.

Cuadro 1. Hongos entomopatógenos utilizados en el experimento.

Género	Clave LBM*	Clave CHE*	Identificación CHE*
<i>Metarhizium</i>	M13	CHE-CNRCB 235	<i>Metarhizium anisopliae</i> . 1996. <i>Aeneolamia</i> sp. [Hemiptera: Cercopidae]. Caña de azúcar. Veracruz, México.
<i>Isaria</i>	P08	CHE-CNRCB 310	<i>Isaria fumosorosea</i> . INR*. <i>Spodoptera littoralis</i> [Lepidoptera: Noctuidae]. Maíz. Francia.
<i>Beauveria</i>	B06	CHE-CNRCB 168	<i>Beauveria bassiana</i> . 2011. <i>Diaphorina citri</i> [Hemiptera: Psyllidae]. Limón mexicano. San Miguel del Ojo de Agua, Colima, México.

*INR: Información No Registrada

*LBM: Laboratorio de Biología Molecular.

*CHE: Colección de Hongos Entomopatógenos.



Las soluciones utilizadas para los primeros 3 métodos corresponden a los kits comerciales de cada uno. En el caso de los protocolos convencionales, se utilizó SDS al 0.5%, 20mM Tris-HCl, pH 8.5; 250mM NaCl, 25mM de EDTA, RNasa 50ng/uL (Axygen[®]); acetato de amonio 7.5M pH 5.2, isopropanol, etanol absoluto, etanol al 70%, buffer TE (Axygen[®]); CTAB 1%, PVPP, cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), 50mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 40mM NaCl, 1.2M NaCl; 50mM Tris pH 8.0, 0.7M NaCl, 10mM EDTA, 0.5% β -mercaptoetanol y NaCl 5M.

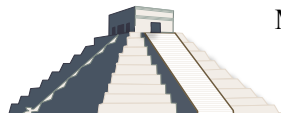
El ADN de las muestras se cuantificó en un espectrofotómetro Epoch (Biotek[®]), de acuerdo a los datos obtenidos se seleccionaron las muestras con suficiente concentración de ADN para ser visualizadas porelectroforesis en geles de agarosaal 1.3% con buffer TBE 1X (Tris-Borato-EDTA), a 90 volts constantes por 20 minutos, se realizó la tinción con Bromuro de Etidio y se capturó la imagen en un fotodocumentador (GEL DOC XR+, BIO-RAD, D.F., México).

Resultados y discusión

La concentración de ADN más elevada fue obtenida mediante el protocolo CTAB+PVPP registrándose valores de 2395 ng/ μ L para *Metarhizium*, 1188 ng/ μ L para *Beauveria* y 1626 ng/ μ L para *Isaria*. En cuanto a los kits comerciales, con Promega se alcanzó una mayor concentración siendo los valores 996 ng/ μ L para *Beauveria*, 867 ng/ μ L para *Metarhizium* y 278 ng/ μ L para *Isaria*. Por otro lado, *Beauveria* con el protocolo CTAB+ β -mercaptoetanol logró la menor concentración que fue de 6 ng/ μ L, aunque en promedio con este protocolo los tres géneros consiguieron una concentración de 32ng/ μ L, a diferencia de la baja concentración de *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* con el kit Axygen donde el promedio fue de 14 ng/ μ L, colocando a este último kit como el menos efectivo para la obtención de altos valores de concentración de ADN (Cuadro 2).

El ADN extraído con kits comerciales presenta una pureza distinta de acuerdo a cada kit, con el Qiagen se obtuvo un valor de pureza de 1.87 (ratio 260/280 nm) y con Axygen de 1.86, mientras que para el kit Promega, la pureza fue de 1.98. Las muestras de ADN extraídas con protocolos convencionales, también lograron valores de pureza diferentes entre ellas, para SDS (Osama *et al.*, 2011) se obtuvo 1.85, 1.95 para CTAB+ β -mercaptoetanol (Verbylaité *et al.*, 2010) y 2.07 para CTAB+PVPP (Cubero *et al.*, 1999). Un valor de ratio 260/280 nm menor a 1.8 indica la presencia de proteínas y un valor superior significa la presencia de ARN en la muestra (Clark, 2005). Lo ideal es lograr un ratio 260/280 cercano a 1.8, indicando la obtención de un ADN de alta pureza. Los resultados demuestran la obtención de ADN de alta pureza con los protocolos Qiagen, Axygen y SDS, mientras que los de Promega, CTAB+ β -mercaptoetanol y CTAB+PVPP con valores cerca de 2.00 revelan la presencia de ARN en las muestras, visualizándose en el gel de agarosa como un barrido (Fig. 1).

El límite de detección de moléculas por electroforesis en gel de agarosa no permitió visualizar las muestras extraídas con el kit Axygen debido a la baja concentración que se obtuvo (14 ng/ μ L), por ello es necesario emplear técnicas más finas como electroforesis capilar. Con el kit Qiagen (Fig. 1A), se observa una banda definida para las muestras de los tres géneros (*Beauveria*,



Metarhizium e *Isaria*) lo cual indica que la integridad del ADN extraído con este kit es adecuada, del mismo modo que la lograda con el protocolo SDS que muestra un ADN íntegro para *Beauveria* e *Isaria*. Por otro lado con el kit Promega (Fig. 1C) se observó integridad adecuada sólo para muestras de *Isaria*, en el caso de *Metarhizium* y *Beauveria* el gel tiene barridos indicando posiblemente la presencia de ARN. En la figura 1A se distinguen barridos y bandas que migraron muy rápido (por su menor tamaño) ubicadas en la parte inferior de su carril con el ADN de *Metarhizium* y *Beauveria* (protocolo convencional CTAB+ PVPP (Cubero *et al.*, 1999)) demostrando degradación de ADN y/o presencia de ARN. En las muestras de *Beauveria* e *Isaria* (B06 y P08) analizadas con el protocolo CTAB+β-mercaptoetanol (Verbylaité *et al.*, 2010), se aprecia en el gel una banda tenue y sin señales de degradación (Fig. 1B).

Cuadro 2. Concentración promedio para cada repetición biológica obtenida con el equipo Epoch (Biotek®).

Género	Réplica biológica	Qiagen		Axygen		Promega		SDS		CTAB y β-mercaptoetanol		CTAB y PVPP	
		ng/μL	±	ng/μL	±	ng/μL	±	ng/μL	±	ng/μL	±	ng/μL	±
<i>Beauveria</i>	1	40	19	13	2	995	151	321	103	6	2	1188	142
	2	44	5	15	3	996	401	223	24	10	4	255	73
<i>Metarhizium</i>	1	63	18	16	2	867	45	802	199	42	3	2395	798
	2	55	12	16	2	358	210	493	98	66	23	824	456
<i>Isaria</i>	1	75	33	9	4	268	31	413	116	29	19	817	251
	2	71	9	15	3	278	19	706	110	43	6	1626	498

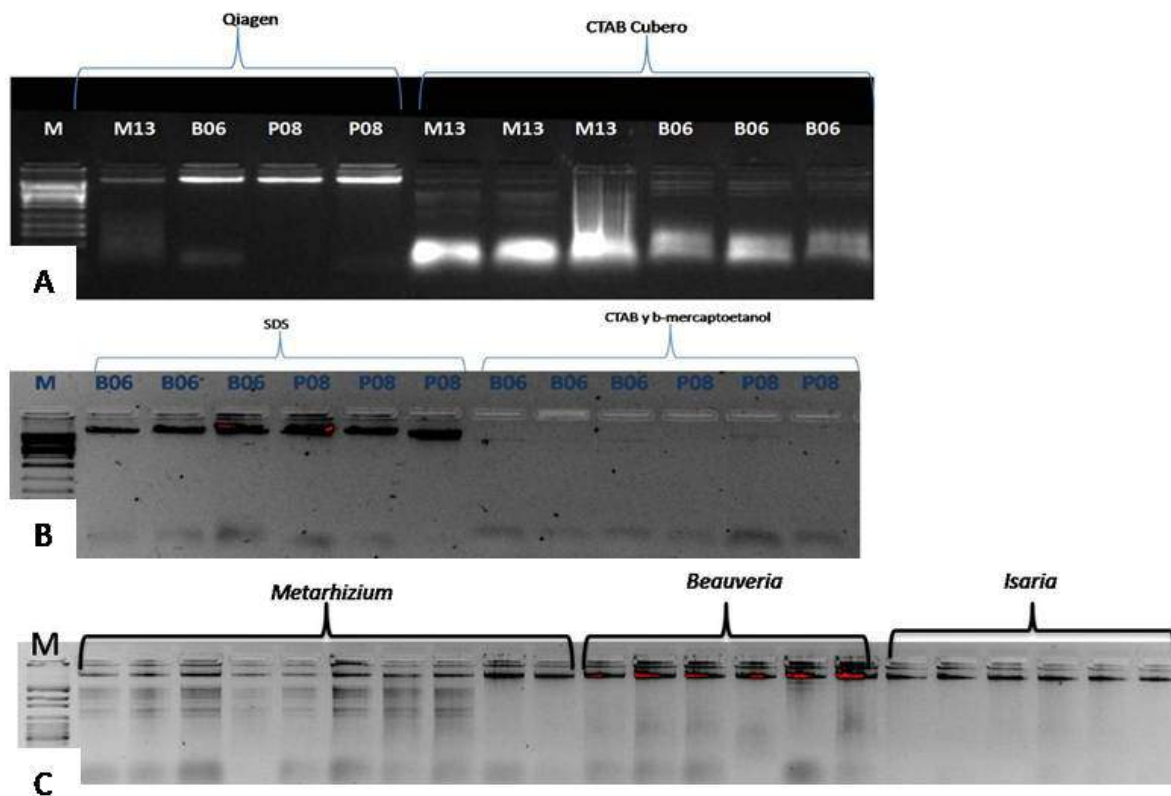
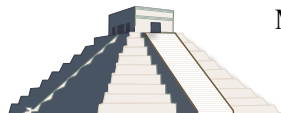
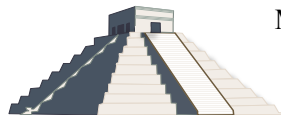


Figura 1. A) Muestras de ADN genómico de *Metarhizium* (M13), *Beauveria* (B06) e *Isaria* (P08) extraídas con el kit Qiagen, muestra de M13, dos repeticiones y B06, dos repeticiones extraídas de acuerdo al protocolo convencional CTAB+PVPP, Cubero *et al.*(1999). B) ADN genómico de B06 y P08 aislado con el protocolo SDS de Osama *et al.* (2011); en seguida B06 y P08 con CTAB+β-mercaptoetanol de Verbylaité *et al.* (2010). C) ADN genómico de *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria* (protocolo Promega).

Cuadro 3. Rendimiento de los protocolos de extracción.

Método de extracción	Tiempo requerido	Número de pasos de lavado	Calidad del ADN	Costo
DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®)	1.5h	2 con buffer de lavado	buna	alto
Axyprep™ Multisource Genomic DNAMiniprep (Axygen®)	1.5h	3 con buffer de lavado	baja	bajo
Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega®)	3h	1 con etanol al 70%	baja	alto
SDS (Osama <i>et al.</i> , 2011)	2h	2 con etanol: al 100% y al 70% respectivamente	buna	bajo
CTAB y β-mercaptoetanol (Verbylaité <i>et al.</i> , 2010)	3.5h	1 con buffer de lavado (76% etanol y 10mM acetato de amonio)	baja	bajo
CTAB y PVPP (Cubero <i>et al.</i> ,1999)	3.5h	1 con etanol al 70%	baja	bajo



Conclusión

Hasta este momento del estudio, se observa que el mejor kit comercial para la extracción de ADN de HE (*Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria*) es el de Qiagen permitiendo la obtención de una calidad (bajo estándares de concentración/pureza/integridad) del ADN mayor en comparación a los otros dos kits.

De los protocolos convencionales, el mejor para *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* fue el SDS debido a que los estándares de concentración/pureza/integridad del ADN, fueron los mejores, además de resultar más corto en tiempo permitir el uso de reactivos de menor toxicidad (Cuadro 3).

Estos resultados preliminares serán confirmados por medio de un análisis minucioso a través de electroforesis capilar en un Fragment Analyzer™ System (Advanced Analytical Technologies, Inc.), pruebas con PCR y AFLPs; además de lo antes mencionado, se incluirá las extracciones y análisis correspondientes para el género *Hirsutella*.

Literatura citada

- Borjes, D., Díaz, A.O., San Juan, A.N. y Gómez, E. 2010. Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. Revista del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. 44 (3): 49-55.
- Clark, D.P. 2005. Molecular Biology. Elsevier Academic Press Publications. 784 p.
- Cubero, O.F., Crespo, A., Fatehi, J. y Bridge, P.D. 1999. DNA extraction and PCR amplification method suitable for fresh, herbarium-stored, lichenized, and other fungi. Plant Systematics and Evolution 216: 243-249.
- Eguiarte, L., Souza, V. y Aguirre, X. Compiladores. 2007. Ecología Molecular. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México. 594 p.
- Gupta, V.K., Tuohy, M.G. y Gaur, R. 2013. Laboratory Protocols in Fungal Biology. Current Methods in Fungal Biology. Springer Science. 604 p.
- Osama, E.A., Mohamed, A.M., AbdEl-Rahim, M.A.E. y Shaban R.M.S. 2011. Non liquid nitrogen-based method for isolation of DNA from filamentous fungi. African Journal of Biotechnology 10(65): 14337-14341.
- Pontón, J. 2008. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. Revista Iberoamericana de Micología 25: 78-82.
- Verbylaitė, R., Beysis, P., Rimas, V. y Kussienė, S. 2010. Comparison of DNA Extraction Protocols from Wood of European Aspen (*Populus tremula* L.). Baltic Forestry 16 (1): 35-42.



ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES *2NP* DE *Metarhizium anisopliae* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) ANTE DIFERENTES FACTORES NUTRICIONALES

García-Tapia Adriana, Ramírez-Cuellar Angélica Julieta, Torres-Guzmán Juan Carlos, Padilla-Guerrero Israel Enrique, López-Andrade Araceli Guadalupe y Gonzalez-Hernández Gloria Angelica. Departamento de Biología. División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato Campus Guanajuato, , Noria Alta s/n CP 36050, Guanajuato, Gto., México. torguz@ugto.mx; gonzang@ugto.mx

Resumen. El éxito en el establecimiento de una relación entre un hongo entomopatógeno y su insecto hospedero, depende de la interacción coordinada de distintos elementos de patogenicidad del hongo y los mecanismos de defensa del insecto. En el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* se han descrito distintos factores de patogenicidad entre los que se encuentran, las proteasas, quitinasas, adhesinas y toxinas, así como otros aun no estudiados. En la búsqueda de nuevos factores de patogenicidad en nuestro laboratorio, aislamos y estudiamos 2 genes que codifican para enzimas con similitud a nitropropano-dioxigenasas: los genes **2np1** y **2np2**. Tras la liberación del genoma de *M. anisopliae* en 2011, y mediante análisis bioinformático encontramos que *Metarhizium* tiene otros 4 genes similares a **2np**, denominados: **2np3**, **2np4**, **2np5** y **2np6**. El análisis de los promotores muestra un arreglo diferente en cada uno de ellos en cuanto a cajas regulatorias, encontrando sitios de unión para distintos factores transcripcionales tales como CreA, FacB clase A y AreA, entre otros, que potencialmente regulan la expresión de los genes *2np* a estímulos como la fuente de carbono o nitrógeno; por lo que se sugiere una expresión diferencial entre los miembros de la familia, posiblemente para realizar funciones biológicas distintas. En el ambiente, el hongo puede enfrentarse a nitroalcanos cuando infecta al insecto blanco, en suelo y durante la interacción con plantas, lo que pudiera explicar por qué tiene 6 genes que codifican para proteínas con la misma actividad bioquímica de 2 nitro-propano dioxigenasa. En este trabajo se determinó la expresión de los seis genes **2np**, mediante ensayos de RT-PCR, cuando *M. anisopliae* es crecido en diferentes fuentes de carbono como; glicerol, glucosa, acetato, glucosa-acetato, nitroalcanos, y cutícula de insecto, observando una respuesta diferencial entre los miembros de la familia **2np**.

Palabras clave: *Metarhizium*, nitropropano dioxigenasas.

Este trabajo se realizó con apoyos de la Universidad de Guanajuato y del CONACYT, proyectos 232 y 220780, respectivamente.



EVALUACIÓN DE SUSTRATOS NATURALES PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPIACEAE) POR UNA ALTERNATIVA DE CULTIVO BIFÁSICO

Mirna Carolina Cantu-Beltran¹, **Luis Antonio Rodríguez-Gómez¹**, Isela Quintero-Zapata¹, María Guadalupe Maldonado-Blanco¹, Mónica Guadalupe Lozano-Contreras², Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹, Myriam Elías-Santos¹. ¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. C.P. 66450. San Nicolás de los Garza, N.L., México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias Km. 25 Carretera Mérida-Motul, Merida C.P. 97454, Mocochará, Yucatán, México.
myriam.eliassn@uanl.edu.mx

Resumen La búsqueda de nuevas y mejores alternativas para estimular la esporulación de los hongos entomopatógenos es básica para el desarrollo de producciones masivas de inóculo para el control de insectos plaga de importancia económica. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de conidios por una alternativa de cultivo bifásico de tres aislados nativos (HIB-13, HIB-14 y HIB-15) y una cepa de referencia (GHA) de *Beauveria bassiana* utilizando arroz (*Oryza sativa* L.), avena (*Avena sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.) quebrado y sorgo (*Sorghum vulgare* L.) como sustratos. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete de computo de diseños experimentales FA-UANL, versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994). La producción de conidios promedio entre los diferentes sustratos fue en orden de 10^7 y 10^8 conidios por gramo. El valor mínimo de conidios producidos fue de 3.7×10^7 conidios g^{-1} por el aislado HIB-13 en arroz y el máximo de 4.37×10^8 conidios g^{-1} por la cepa de referencia GHA en avena.

Palabras clave: Producción, conidios, cultivo bifásico, *Beauveria bassiana*.

Introducción

La mayoría de las especies de hongos son producidas en medios sólidos, donde el hongo crece como micelio superficial y produce conidios en hifas aéreas. Por otro lado, la producción de hongos en sustratos sólidos dificulta la automatización del proceso y carece de una economía, en la producción de conidios, a escala satisfactoria. Este problema puede ser parcialmente resuelto por un proceso de producción de dos fases (cultivo bifásico), en el que los cultivos sumergidos son utilizados para producir una gran cantidad de micelio y/o blastoesporas, el cual es colocado después sobre un sustrato sólido para obtener los conidios necesarios (Jenkins *et al.*, 1998; Wraight *et al.*, 2001). Los hongos se han reproducido para su uso como agentes biológicos de plagas desde hace casi un siglo, para lo cual se ha utilizado diferentes métodos de reproducción (Vélez *et al.*, 1997). Para considerar un sustrato como idóneo para la producción de conidios de una cepa o aislado de un hongo entomopatógeno debe tomarse en cuenta su bajo costo, fácil adquisición, producción de alta concentración de conidios y capacidad para mantener la virulencia de la cepa (Roberts y Yendol, 1971). El objetivo del presente estudio fue evaluar la producción de conidios por una alternativa de cultivo bifásico de tres aislados nativos (HIB-13, HIB-14 y HIB-15) y una cepa de referencia (GHA) de *Beauveria bassiana* utilizando arroz, avena, maíz quebrado y sorgo como sustratos.



Materiales y Métodos

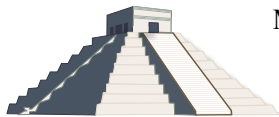
Los aislados nativos con clave HIB-13, HIB-14 y HIB-15 y la cepa de referencia GHA fueron obtenidos de la colección del laboratorio L6 del Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Autónoma de Nuevo León (FCB-UANL). Se prepararon suspensiones de 5×10^5 conidios mL^{-1} de la cepa y los aislados nativos de *B. bassiana* para inocular 10 mL de la suspensión en matraces Erlenmeyer bafleados de 500 mL conteniendo 90 mL de caldo papa dextrosa. Se incubaron por 72 h, a 28 °C y 250 rpm en un incubador con agitación orbital. Al final del tiempo de crecimiento mediante diluciones seriadas se ajustó la concentración a 1×10^6 blastoesporas mL^{-1} de cada uno de los hongos utilizados para inocular cada uno de los sustratos.

Se utilizó arroz (*Oryza sativa* L.), avena (*Avena sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.) quebrado y sorgo (*Sorghum vulgare* L.) como sustratos. Para eliminar la mayor cantidad de partículas ajenas al sustrato cada uno de éstos se lavó por separado durante dos minutos con agua corriente a presión y se dejó escurrir por 10 minutos sobre el mismo colador donde fue lavado. Posteriormente se colocaron 50 g (peso húmedo) del sustrato en bolsas de polietileno de alta densidad (HDPE) de 1 Kg de capacidad y 25 mL de agua bidestilada. Las bolsas fueron selladas con grapas metálicas además se les colocó una cruz de cinta masking, a la que se le denominó sitio de inoculación, en el centro de la bolsa. Todas las bolsas fueron esterilizadas en una autoclave automática a 121°C, 15 PSI por 15min. Una vez esterilizadas, las bolsas se dejaron enfriar durante 24 h para ser inoculadas. Para la inoculación de los diferentes hongos se utilizaron jeringas estériles con las que se inyectaron las bolsas en el sitio de inoculación; cada una de las bolsas fue inoculada con 5 mL de la suspensión de 1×10^6 blastoesporas mL^{-1} , asegurándose de esparcir sobre todo el sustrato la suspensión del hongo. Posteriormente se incubaron 14 días a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) y se expusieron a la luz blanca de las lámparas del laboratorio (12:12 h L:O). Las bolsas fueron agitadas cada tercer día para esparcir las esporas sobre el sustrato.

Pasados los 14 d de incubación se determinó la concentración de conidios por gramo de sustrato de cada una de las bolsas, tomando 1 g de cada uno de los sustratos agregándolos en tubos de ensayo conteniendo solución de Tween 80 al 0.1% en agua destilada estéril y se homogenizaron en un agitador vibratorio (vórtex) durante dos minutos para desprender los conidios, posteriormente, se realizaron diluciones seriadas y se contaron los conidios usando una cámara de Neubauer. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete de computo de diseños experimentales FA-UANL, versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994). Los experimentos se realizaron por triplicado y se repitieron en dos ocasiones.

Resultados y Discusión

La producción de conidios de la cepa de referencia GHA y los aislados nativos HIB-13, HIB-14 y HIB-15 de *B. bassiana* en los diferentes sustratos sólidos de tipo comercial fue en orden de 10^7 y 10^8 conidios g^{-1} . El valor mínimo de conidios producidos fue de 3.7×10^7 conidios g^{-1} por el aislado HIB-13 en arroz y el máximo de 4.37×10^8 conidios g^{-1} por la cepa de referencia GHA en avena. La avena fue el sustrato que presentó la mayor producción conidial en GHA (4.37×10^8



conidios g^{-1}) y en HIB-14 (1.22×10^8 conidios g^{-1}) al compararse con el resto de los sustratos, mostraron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$); el sorgo fue el sustrato de mayor producción en HIB-13 con 1.58×10^8 conidios g^{-1} mostrando diferencias altamente significativas al ser comparado con el resto de los sustratos, mientras que el maíz quebrado con 1.47×10^8 conidios g^{-1} fue el sustrato en el cual mejor se desarrolló HIB-15 mostrando diferencias significativas al compararse con el arroz y el sorgo, mientras que al compararse con la avena no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de conidios de *Beauveria bassiana* en diferentes sustratos. Condiciones de incubación: 14 días, $25 \pm 2^\circ C$ y fotoperiodo 12:12 horas L:O.

	Conidios g^{-1} (10^7)			
	GHA	HIB-13	HIB-14	HIB-15
Arroz	18.35Ca	3.70Cc	8.70ABb	5.75Cbc
Avena	43.75Aa	5.80Cc	12.27Ab	12.87ABb
Maíz quebrado	30.00Ba	10.90Bbc	8.21ABc	14.73Ab
Sorgo	18.80Ca	15.85Aa	5.58Bb	9.98BCb

Tratamientos con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) *Letras mayúsculas comparación de medias en columna *Letras minúsculas- comparación de medias en hilera.

Para la producción masiva de hongos entomopatógenos comúnmente se usa como sustrato sólido arroz por mantener las condiciones físicas con una adecuada superficie efectiva para el crecimiento micelial, un adecuado balance nutricional y condiciones específicas acordes a los requerimientos del aislamiento en aireación y humedad (Bhanu *et al.*, 2008; Sahayaraj y Namasivayam, 2008), en ninguno de los hongos empleados este sustrato presento la mayor producción al ser comparado, incluso, fue el sustrato que presentó la menor producción en este ensayo.

Existen diferentes estudios en los que se ha buscado otras opciones como sustratos con el objetivo de reducir costos de producción y/o mejorar los rendimientos en la producción de conidios como los reportados por diversos autores en años recientes. Entre los sustratos evaluados se encuentran cebada, avena, frijol, sorgo, trigo, soya, mijo, cacahuate, garbanzo, lenteja, chícharo, caupí (frijol africano), estiércol de vaca, por mencionar algunos (Figuroa *et al.*, 2007; Sahayaraj y Namasivayam, 2008; Gangwar, 2013). En el presente trabajo se utilizaron arroz, avena, maíz quebrado y sorgo considerando su bajo costo, fácil adquisición y los trabajos previos a ésta investigación.

Los resultados en esta investigación son similares a los mostrados por Bhadauria *et al.*, (2012) donde al evaluar quince sustratos diferentes entre ellos arroz, maíz y sorgo encontraron la mayor producción de 9.06×10^7 conidios g^{-1} en caupí (frijol africano, frijol de cabecilla negra), seguido por el chícharo y frijol en los cuales obtuvieron 8×10^7 conidios g^{-1} . Otros trabajos de producción conidial son los de Posada-Flores (2008) y Gandarilla-Pacheco *et al.*, (2013) quienes reportan valores menores a 1×10^{10} conidios g^{-1} en medio de cultivo bifásico utilizando arroz como sustrato para *B. bassiana* y la investigación de Rodríguez-Gámez *et al.*, (2013) donde obtienen valores menores a 1×10^9 conidios g^{-1} en medio de cultivo bifásico donde evaluaron la producción conidial en cuatro métodos de hidratación en los diferentes sustratos que emplearon (avena,



cebada, maíz quebrado y sorgo). La variabilidad en la producción de conidios entre los diferentes sustratos evaluados en el presente trabajo y anteriores puede deberse en parte, a que el rendimiento de esporas por gramo de sustrato también se ve influenciado por la cepa y por el estado de la misma y puede variar desde 5×10^3 hasta 2.5×10^{11} conidias g^{-1} de sustrato (Monzón, 2001).

Para considerar un sustrato como idóneo para la producción de conidios de una cepa o aislado de un hongo entomopatógeno debe tomarse en cuenta su bajo costo, fácil adquisición, producción de alta concentración de conidios y capacidad para mantener la virulencia de la cepa (Roberts y Yendol, 1971). Sin embargo, el rendimiento de la esporulación sobre un sustrato también puede ser influenciado por factores como la técnica de cultivo, concentración del inoculo inicial, condiciones de temperatura, humedad, aireación, y tiempo de incubación (Figuroa *et al.*, 2007) así como las diferencias nutricionales entre los sustratos.

Literatura citada

- Bhadauria, B.P., S. Puri, and P. K. Singh. 2012. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products. *The Bioscan* 7: 229-232.
- Bhanu-Prakasha, G.V.S., V. Padmaja, R. R. Siva-Kiran. 2008. Statistical optimization of process variables for the large-scale production of *Metarhizium anisopliae* conidiospores in solid-state fermentation. *Bioresource Technol.* 99: 1530-1537.
- Figuroa, L. M., A. Varela, y D. Corredor. 2007. Evaluación de sustratos naturales para la propagación masiva del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Revista de Inves.* 7: 127-131.
- Gandarilla-Pacheco F.L., L.J. Galán-Wong, K. Arévalo-Niño, M. Elías- Santos, I. Quintero-Zapata. 2013. Evaluación de aislados nativos mexicanos de *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) provenientes de zonas citrícolas para su producción masiva en cultivo sumergido y bifásico. *Agrociencia* 47: 255-266.
- Gangwar, G.P. 2013. Evaluation of different substrates for mass multiplication of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Agric. Sci. Digest.* 33: 321- 323.
- Jenkins, N.E., G. Heviefo, J. Langewald, A. Cherry, C. J. Lomer. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News and Information.* 19:21-31.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo integrado de plagas.* 63: 95-103.
- Olivares-Saénz, E. 1994. Paquetes de diseños experimentales FAUANL. Programa de Software Estadístico, Version 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, Nuevo León, México.
- Posada-Flórez, F. J. 2008. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* in Colombia. *J. Insect Sci.* 8: 1-13.
- Roberts, D.W and W. G. Yendol. 1971. Use of fungi for microbial control of insects. *In: Burgues H., and N Hussey* (eds.) *Microbial control of insects and mites.* Academic Press, London. pp: 125-149.
- Rodríguez-Gámez, L. A., M. Jiménez-Moreno, J. H. Alfaro-Álvarez, M. G. Lozano-Contreras, M. G. Maldonado-Blanco, I. Quintero-Zapata, C. F. Sandoval-Coronado, M. Elías Santos. 2013. Evaluación de sustratos sólidos para la producción de conidios de *Beauveria bassiana* cepa GHA. *In: Vasquez- López A., Pérez-Pacheco R.* (eds). *Memorias XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico.* Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México. CIIDIR-IPN. pp:158-162.
- Sahayaraj, K., and S.K.R. Namasivayam. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and byproducts. *Afr. J. Biotechnol.* 7: 1907-1910.



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014



- Vélez, P.A., F.J Posada, P. Marín, M.T. González, E. Osorio, A.E. Bustillo. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Investigaciones del café. Boletín Técnico No. 17 37 p.
- Wraight, S., M. Jackson, and S. Kock. 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. *In*: Butt, T. M., C. Jackson, and N. Magan (eds). *Fungi as Biological Control Agent: Progress, Problems and Potencial*. CABI Publishing Series. Wallingford, U.K. pp: 253-280.



EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS LÍQUIDOS PARA LA PRODUCCIÓN DE ESPORAS DE LA CEPA GHA DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPTACEAE)

Jairo Hernan Alfaro-Alvarez¹, Luis Antonio Rodríguez-Gómez¹, Myriam Elías-Santos¹, Isela Quintero-Zapata¹, María Guadalupe Maldonado-Blanco¹, Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹. ¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. C.P. 66450. San Nicolás de los Garza, N.L., México. myriam.eliassn@uanl.edu.mx

Resumen El objetivo del presente trabajo fue investigar los requerimientos nutricionales, las condiciones fisicoquímicas y biológicas para el desarrollo óptimo para la producción de esporas de la cepa de referencia GHA de *B. bassiana* a escala de matraz Erlenmeyer utilizando 10 medios de cultivo líquidos, los cuales una vez inoculados con 5ml de una suspensión del hongo a 5×10^5 conidios/ml fueron cultivados en condiciones de fermentación de 250 rpm a 28 ± 2 °C durante 7 días. Las cuentas de esporas producidas en los medios de cultivo líquido fueron sometidas a análisis de varianza, tras de la cual se encontró diferencia significativa entre los medios probados. El mejor medio de cultivo diseñado estuvo compuesto a base de: glucosa de maíz, extracto de levadura, peptona, NaCl_2 , CaCO_3 y las condiciones de producción fueron: pH a 5.6, temperatura de 28°C y agitación de 250 rpm, éste medio presentó mayor producción de esporas con un promedio final de 1.75×10^9 esporas/ml.

Introducción

La agricultura es la principal fuente provisional de la alimentación del hombre pero a lo largo del tiempo de esta práctica ha contado con grandes problemas para el mantenimiento estable de los cultivos esto ha abierto las puertas a la investigación de métodos de prevención y mantenimiento efectivo de los productos cultivados sin dañar la estabilidad del ambiente, de la salud humana e incluso de la misma planta. (Wright and Carruthers, 1999).

Una de las principales causas de deterioro de cultivos es debida a un gran número de insectos plaga que las dañan, provocando fuertes pérdidas económicas. Estos daños concientizaron a la comunidad científica a desarrollar nuevas formas de control biológico que sean amigables con el ambiente y evitar los daños ecológicos al introducir sustancias inadecuadas y nocivas. Gracias a esto, hace algunas décadas se exploró la posibilidad de la incorporación de microorganismos como bacterias, hongos, nematodos y virus que ayudaran al control de plagas y que no dañaran el ambiente, la salud humana, ni la de las cosechas.

B. bassiana es un hongo entomopatógeno el cual produce esporas que participan en los mecanismos de patogenicidad en los insectos. Uno de los factores más importantes involucrados en la virulencia de *B. bassiana* es la capacidad de penetrar la cutícula del insecto mediante la acción de enzimas secretadas por el hongo.



Material y métodos

Se utilizó la cepa de referencia GHA de *Beauveria bassiana* perteneciente a la colección del Laboratorio L6 del Instituto de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FCB-UANL). Se elaboró una suspensión a una concentración de 5×10^5 conidios/ml. Esta suspensión se utilizó como inóculo para la siembra de los distintos medios líquidos.

Se diseñaron diferentes medios de cultivo cuya formulación se describe a continuación: para todos los medios de cultivo se utilizó una fuente de carbono a base de glucosa al 18%, los medios de cultivo del 1 al 6 se realizaron con la incorporación de 20g/L de polvos finos de ajonjolí, alpiste, amaranto, avena, cascara de cacahuate y linaza para su posterior filtrado y utilización del extracto soluble, para el medio 7 y 8 se utilizaron NaCl (5g/L), CaCO₃ (1g/L), extracto de levadura (5g/L) y al medio 7 se le adiciono peptona (20g/L), para los medios 9 y 10 se usaron KH₂PO₄ (4g/L), MgSO₄ (0.6 g/L), extracto de levadura (5 g/L), CaCl₂ (0.8 g/L) y FeSO₄ (0.1 g/L), al medio 8 se le adiciono aparte ZnSO₄ (100ml), MnSO₄ (100ml) y CoCl₂ (100ml) (Jackson *et al.*, 1997).

Se tomaron 45ml de cada medio en matraces Erlenmeyer bafleados de 250ml de capacidad y se inocularon con 5ml de la suspensión del hongo, se ajustó el pH a 5.6 y se incubaron por 7 días a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ a 250 rpm. Al concluir la fermentación se realizó el conteo de las esporas producidas utilizando la cámara de Neubauer determinando los cálculos de acuerdo a las celdas C. Estos conteos fueron realizados a las 72 h, 120 h y 168 h, con el fin de determinar la producción de esporas.

Los datos de producción de esporas se analizaron con paquete de computo de diseños experimentales FA-UANL, versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994) mediante un diseño de bloques al azar donde se compararon los diferentes tratamientos (medios de cultivo). El experimento fue realizado por triplicado y en 4 ocasiones.

Resultados y discusión

Los resultados de la producción (Tabla 1) de esporas de la cepa GHA obtenidas en los diferentes medios líquidos se muestran a continuación en las siguientes tablas. Las cuentas en general variaron de 2.5×10^7 a 1.98×10^9 esporas/ml en 7 días de incubación a 28°C .

Los datos de producción de esporas de las 4 corridas se sometieron a Análisis de Varianza Unifactorial para determinar diferencias entre ellos y cuyos resultados se muestran a continuación en la Tabla 2.

El análisis de varianza indicó que hay diferencia significativa entre los tratamientos (medios de cultivo) probados ($P > F = 0.0001$). En la tabla 3 se muestra la comparación de medias mediante el método DMS (Diferencia Mínima Significativa) a niveles del 0.5 de significancia.

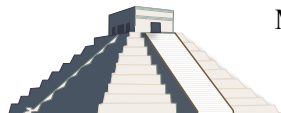


Tabla 1. Promedio final del número de esporas producidas por *B. bassiana* GHA en todos los medios líquidos cultivado a 28 ± 2 °C y 250rpm.

Medios		Repeticiones			
		1	2	3	4
M1	Promedio	1.1×10^8	1.02×10^8	1.47×10^8	1.4×10^8
M2	Promedio	1.62×10^8	1.05×10^8	1.28×10^8	1.29×10^8
M3	Promedio	2.55×10^8	2.56×10^8	1.83×10^8	2.2×10^8
M4	Promedio	1.4×10^8	1.47×10^8	2.42×10^8	2.32×10^8
M5	Promedio	6.16×10^7	6.33×10^7	3.5×10^7	4.83×10^7
M6	Promedio	1.24×10^8	1.23×10^8	2.3×10^8	2.23×10^8
M7	Promedio	1.61×10^9	1.98×10^9	1.35×10^9	1.66×10^9
M8	Promedio	5.33×10^8	5.66×10^8	4.83×10^8	6.33×10^8
M9	Promedio	2.33×10^8	3.66×10^8	1.48×10^8	1.31×10^8
M10	Promedio	6.25×10^8	3.33×10^8	2×10^8	2.5×10^8

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza del número de esporas producidos por la cepa de *B. bassiana* GHA en todos los medios utilizados (uniformizados a número $\times 10^8$ esporas/ml).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATA	9	801.521118	89.057899	71.2373	0.000
BLOQUES	3	4.459839	1.486613	1.1891	0.333
ERROR	27	33.754272	1.250158		
TOTAL	39	839.735229			
C.V	30.41%				

Tabla 3. Comparación de medias de las cuentas de esporas producidas por la cepa GHA de *Beauveria bassiana* en los medios utilizados, de acuerdo al metodo DMS.

Nivel de significancia = 0.05		
DMS = 1.5487		
MEDIOS	MEDIAS	
M7	16.5000	A
M8	5.5375	B
M10	3.5200	C
M3	2.2850	CD
M9	2.1950	CD
M4	1.9025	CDE
M6	1.7500	DE
M2	1.3100	DE
M1	1.2475	DE
M5	0.5205	E

En la figura 1 se observa la producción de esporas de *B. bassiana* GHA en el medio M7 compuesto por Glucosa, NaCl (5g/L), CaCO₃ (1g/L), Extracto de levadura (5g/l) y Peptona (20g/L), donde se muestra que en los primeros 2 días se observó poco crecimiento de 8.64×10^7 esporas/ml, después aumento a 9.37×10^8 esporas/ml a los 4 días y posteriormente a los 6 días mostró 2.65×10^9 esporas/ml, después la producción se detiene un poco a los 8 días y aumenta



nuevamente a 2.87×10^9 esporas/ml cantidad máxima producida en 10 días, después de este periodo comenzó un descenso lento en la producción de esporas.

En un estudio realizado en la unidad de Biotecnología del Instituto Tecnológico de Durango se elaboraron medios de cultivo líquidos a base de sales minerales, fuente de carbono de etanol y fuente de nitrógeno de sulfato de amonio, las condiciones fisicoquímicas para este proyecto fueron de 30°C , una agitación de 200 a 300 rpm y un pH inicial de 5.4, con una duración de 6 días, se obtuvo una producción de 6.26×10^8 esporas/ml (Aviña-Martínez *et al.*, 2012) mientras que nuestros resultados en el medio 4 fue de 1.65×10^9 lo que nos indica que se tiene un mejor medio de cultivo.

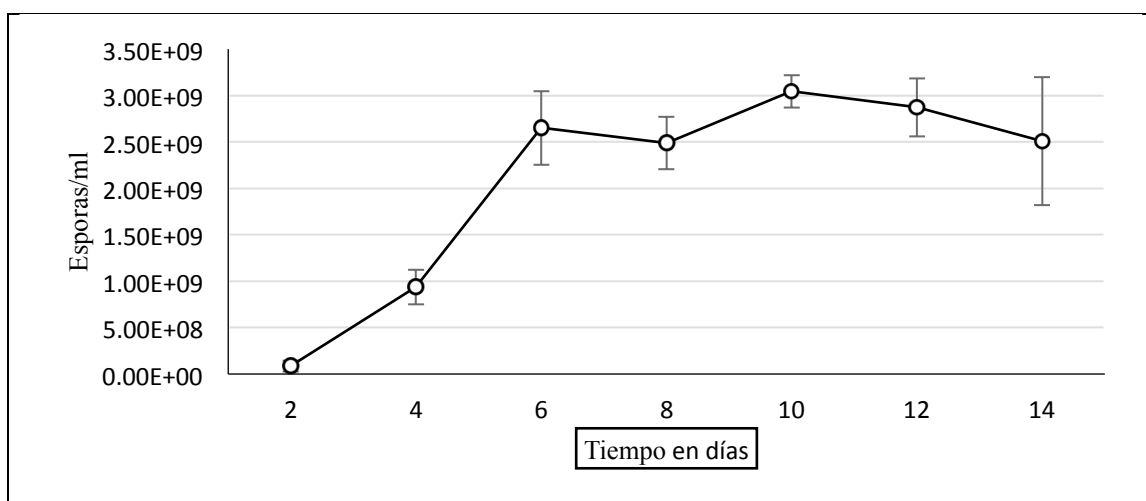


Figura 1. Producción de esporas de la cepa GHA de *B. bassiana* en el medio de cultivo M7. Promedio de 4 repeticiones. Las barras representa el error estándar.

En un protocolo realizado por el Jardín Botánico José Celestino Mutis y el Gobierno de Bogotá, Colombia, se realiza la producción de *Beauveria bassiana* en medio de cultivo a base de tioglicolato al 10% y glucosa 10%, en donde se obtuvo un rendimiento de 1.48×10^9 blastosporas/ml con una concentración inicial de 1×10^7 esporas/ml y condiciones de 25°C , por 10 días, agitados en zaranda, aunque esta producción supera a la concentración final de nuestro el inóculo inicial es mayor al nuestro y tiene una mayor duración q la nuestra por 3 días de diferencia (Buitrago-Pabón y Caicedo Ramirez, 2002).

En otro estudio realizado en el Instituto de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, se evaluó la producción de *Beauveria bassiana* cepa GHA a los 3 días de incubación, a condiciones de 28°C , 300 rpm y un inóculo inicial de 5×10^5 en el medio de cultivo descrito por Mark Jackson *et al.* (1997) la producción final al tercer día fue de 2.20×10^8 blastosporas/ml mientras que nuestra producción al tercer día en el medio de cultivo M7 fue de 2.19×10^8 generándonos una producción similar al obtenido por ellos (Gandarilla-Pacheco, 2012).



En otro de los estudios realizados en el Instituto de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas, nos muestra un medio realizado a base de sacarosa y líquido de remojo de maíz los cuales fueron incubados a 25°C y 300 rpm con un inóculo inicial de 1×10^8 blastosporas/ml durante 3 días obtuvieron una concentración final de 7.2×10^9 blastosporas/ml, en otro de los medios de cultivo analizados fue el M1 el cual estaba constituido por glucosa y casamino ácidos en el cual se obtuvo una producción final de 2.2×10^9 blastosporas/ml estos resultados en comparación con el medio M7 realizado en el presente trabajo nos dio una producción al tercer día de 2.19×10^8 esporas/ml, sin embargo, el inóculo inicial que utilizamos fue de 5×10^5 esporas/ml (Chong-Rodríguez, 2003).

Sin embargo, en la producción de otros hongos entomopatógenos como: *Isaria fumosorosea* en un medio conteniendo una proporción de C:N de 10:1, agitación de 300 rpm a 28°C por 3 días, e inóculo de 1×10^6 la producción final fue 8.8×10^8 esporas/ml (Jackson *et al.*, 1997). En nuestro estudio los valores más altos fueron para el medio M7 con agitación de 250 rpm a 28 ± 2 °C por 7 días, e inóculo de 5×10^5 , con todo esto logramos obtener una producción final de 1.65×10^9 esporas/ml. Los valores obtenidos son más altos que los mencionados anteriormente, también debemos considerar factores como la temperatura y la aeración. En nuestro trabajo la temperatura era un poco mayor y la proporción es un poco menor que la utilizada en los estudios anteriores (Feng, 1994).

Literatura citada

- Aviña-Martínez, G.N., Medrano-Roldán, H., Solís-Soto, A., García-Gutiérrez, C. and García Pereyra, J. 2012. Obtención de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en cultivo líquido y su aplicación en *Epilachna varivestis*. Unidad de Biotecnología del Instituto Tecnológico de Durango.
- Buitrago-Pabón, L.C. y Caicedo Ramírez, G. 2002. Protocolo para el escalamiento por fermentación sólida de *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii*. Jardín Botánico José Celestino Mutis. Bogotá, Colombia.
- Chong-Rodríguez, M.J. 2003. Utilización de medios de cultivos líquidos para la obtención de blastosporas y conidias de *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) resistentes a condiciones ambientales. Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.
- Feng, M.G., Poprawski, J.T. and Khachatourians, G.G. 1994. Production, formulation and application of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*. 4: 3-34.
- Gandarilla-Pacheco, F.L., Galán-Wong, L.J., Arévalo-Niño, K., Elías-Santos, M., Quintero-Zapata, I. 2012. Evaluación de aislados nativos mexicanos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) provenientes de zonas citricolas para su producción masiva en cultivo sumergido y bifásico. *Agrociencia*, vol. 47, núm. 3, 2013, pp. 255-266
- Jackson, M.A., McGuire, M., Lacey, L.A. and Wraight, S.P. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastosporas of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycology. Res.* 10:35-41.
- Olivares-Saénz, E. 1994. Paquetes de diseños experimentales FA-UANL. Programa de Software Estadístico, Versión 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, Nuevo León, México.



POTENCIAL DEL DEPREDADOR *Zelus renardii* (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS

Juan F. Barrera. El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Antigua Aeropuerto km 2.5, Tapachula, Chiapas, México

Resumen. En México, *Zelus renardii* Kolenati (Hemiptera: Reduviidae) es un enemigo natural de *Diaphorina citri* Kuwayama, el psílido asiático de los cítricos, en condiciones de campo. A fin de conocer el potencial depredador de esta chinche sobre el psílido, se llevaron a cabo varios estudios sobre su biología y comportamiento en laboratorio. El ciclo de vida y los parámetros poblacionales de *Z. renardii* se determinaron con individuos alimentados principalmente con adultos de *Drosophila* spp. criados en una dieta de plátano. A 27.16 ± 0.10 °C, el ciclo de huevo a adulto duró 38.77 ± 0.29 días. La cópula tuvo una duración de 34.58 ± 1.57 min. Una hembra reproductora ovipositó en promedio 2.12 masas de huevos. El promedio de huevos por masa fue de 44.93 ± 2.52 con fertilidad de 8.54 ± 1.68 (min= 1, max= 29). Los parámetros poblacionales de *Z. renardii* fueron: tasa neta de reproducción $R_0 = 28.277$, tiempo medio de generación $T = 20.07$ días y tasa intrínseca de incremento $r = 0.4295$. Observaciones del comportamiento depredador de *Z. renardii* en jaulas de laboratorio con plantas de *Murraya paniculata* infestadas con *D. citri*, indicaron que todos los estados de desarrollo del depredador se alimentaron de ninfas y adultos de *D. citri*, pero no de los huevos. Se concluye que la relativa facilidad de cría de *Z. renardii* en laboratorio y sus características biológicas y agresivo comportamiento depredador, hacen que esta chinche tenga un potencial interesante como agente de control biológico de *D. citri* que debe ser explorado a nivel de campo.

Palabras claves: *Diaphorina citri*, depredador, *Murraya paniculata* parámetros poblacionales.



POBLACIONES DE INSECTOS DEPREDAADORES DE LA ESCAMA BLANCA DEL MANGO (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) EN NAYARIT, MEXICO

Mario A. Urías-López¹, Jesús A. González-Carrillo¹, J. Isabel López-Arroyo². ¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Apartado Postal 100. 63300, Santiago Ixcuintla, Nayarit. ²INIFAP, Campo Experimental General Terán. General Terán, N.L., Méx. urias.marioalfonso@inifap.gob.mx

Resumen. El mango es el frutal más importantes del estado de Nayarit, México; sin embargo, está condición ha estado en riesgo desde 1999 por problemas asociados a la introducción de la escama blanca del mango, *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera:Diaspididae). En estudios de poblaciones realizados durante dos años con dos cultivares de mango en tres localidades de Nayarit, se ha detectado principalmente un complejo de seis especies de larvas “cargabasura” (Neuroptera: Chrysopidae), adultos de *Chilocorus cacti*, *Pentilia* sp. y el complejo de *Stethorus* spp. y *Scymnus* spp. (Coleoptera: Coccinelidae). La población del complejo de larvas de Chrysopidae se registra con patrones similares durante el año en las tres localidades, con valores inferiores a una larva/rama. Solo en Miramar, Nay., durante Marzo-Abril, la población se elevó hasta 2.5 larvas/rama. La densidad anual de larvas del cargabasura, fue estadísticamente similar entre los dos cultivares de mango. En cambio, respecto a localidades, fue significativamente más abundante en Miramar (0.31 larvas/rama) que en Jalcocotán o Atonalisco, Nay. En el caso de *Chilocorus cacti*, en Jalcocotán y Atonalisco las poblaciones fueron bajas durante el año (0.25 adultos/rama o menor); en Miramar alcanzó su población más alta en Noviembre con un promedio superior a 0.75 adultos/rama. La densidad relativa de *Chilocorus cacti* fue significativamente más alta en 'Ataulfo' que en 'Tommy Atkins', así como casi 20 veces más abundante en Miramar que en Jalcocotán o Atonalisco, Nay. Respecto a *Pentilia* sp., en Miramar de Octubre a Enero se mantuvo las poblaciones superiores a 0.25 adultos/rama. La población más alta (casi 1.0 adultos/rama) ocurrió en Jalcocotán en Agosto. Esta especie fue significativamente más abundante en 'Ataulfo' que en 'Tommy Atkins', así como más alta en Atonalisco (0.13 adultos/rama) que otras localidades. El complejo de *Stethorus* spp. y *Scymnus* spp. se registró en poblaciones inferiores a 0.25 adultos/rama. En Atonalisco en el mes de Enero, alcanzó el promedio más alto (cerca de 0.75 adultos/rama). Las densidad promedio anual de esta complejo fue similar entre cultivares y entre las tres localidades estudiadas. La mayor abundancia de los depredadores en 'Ataulfo' y/o en Miramar, Nay, podría estar asociada a las altas poblaciones de escama blanca, porque se determinó que éstas ocurren en mayor densidad en 'Ataulfo' que en 'Tommy Atkins', o más abundantes en Miramar que en el resto de las localidades.

Palabras Clave: *Aulacaspis tubercularis*, *Ceraeochrysa*, *Chilocorus cacti*, *Pentilia*



MEMORIAS XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico
Mérida, Yucatán, México, 6-7 de Noviembre de 2014





Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Centros Nacionales de Investigación Disciplinaria,
Centros de Investigación Regional
y Campos Experimentales



Sede de Centro de Investigación Regional



Centro Nacional de Investigación Disciplinaria



Campo Experimental

Código INIFAP

Esta publicación se terminó de imprimir en noviembre 2014, con un tiraje de 300 CD-ROM en el Centro de Investigaciones Regional Sureste Mérida, Calle 6 No. 389 X 13 Av. Correa Rachó, Col. Díaz Ordaz, C.P. 97130, Mérida, Yucatán, México.

