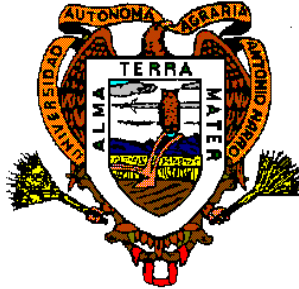


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Efecto de Entomopatógenos en Laboratorio con *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* contra el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp), de Arteaga, Coahuila.

Por :

CELERINO CASTELÁN HIDEROA

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

Ingeniero Agrónomo en Parasitología

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 1999

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

Efecto de Entomopatógenos en Laboratorio con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* contra el picudo de la yema del manzano *A. latifrons* (Sharp). Arteaga, Coahuila.

Presentada Por :

CELERINO CASTELÁN HIDEROA

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de :

INGENIERO AGRÓNOMO EN PARASITOLOGIA

**Aprobada
Presidente del Jurado**

Dor. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor Externo

M.C. Ausencio Gonzáles Rangel

Asesor interno

Ing. Marisela García Martínez

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

M. C. Mariano Flores Dávila.

Buanavista, Saltillo, Coahuila, México. Marzo de 1999.

INDICE GENERAL

	Páginas
INDICE DE CUADROS-----	v
INDICE DE FIGURAS-----	vi
INTRODUCCION-----	1
REVISION DE LITERATURA-----	3
El manzano-----	3
Origen del manzano-----	3
Principales estados productores del manzano en México-----	4
-	4
Importancia del cultivo-----	5
Plagas del manzano-----	7
Picudos de la yema-----	7
Clasificación taxonómica del picudo de la yema-----	8
-	
Daños del picudo de la yema-----	8
Hongos entomopatógenos del picudo de la yema del	9
manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila-----	9
Estrategias de control-----	10
Control biológico clásico-----	11
Control biológico aumentativo-----	12
Manejo integrado de plagas (MIP)-----	15
Antecedentes históricos del control microbial-----	15
Taxonomía-----	16
Posición taxonómica-----	16
Características biológicas de hongos-----	17

<i>Beauveria bassiana</i> -----	
<i>Metarhizium anisopliae</i> -----	17
iii	18
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> -----	18
-	19
Parasitismo de Deuteromycetes-----	22
-	22
Mecanismo de infección-----	22
-	23
Susceptibilidad y resistencia de insectos a infecciones-----	24
-	26
Factores que limitan el parasitismo-----	26
Abióticos-----	26
A) Temperatura-----	27
B) Luz solar-----	28
De manejo; cultivo y almacenaje-----	29
MATERIALES Y METODOS-----	36
Descripción del área de colecta-----	37
Colecta de adultos-----	43
Trabajo de laboratorio-----	
Análisis estadístico-----	
RESULTADOS Y DISCUSION-----	
-	
CONCLUSIONES-----	
BIBLIOGRAFIA-----	
APENDICE-----	

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Páginas
1.- Concentración letal 50 y 95, coeficiente de correlación y Chi cuadrada de las líneas de regresión concentración-mortalidad de los productos Bea-sin y Meta-sin con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en el picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> . UAAAN-INIFAP. 1998.-----	34
-	
2.- Concentración de datos de mortalidad observada y corregida del picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> con el producto Bea-sin a base de <i>Beauveria bassiana</i> . UAAAN-INIFAP. 1998.-----	44
-	
3.- Concentración de datos de mortalidad observada y corregida del picud de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> con el producto Meta-sin a base de <i>Metarhizium</i>	45

anisopliae.

46

UAAAN-INIFAP. 1998.-----

-

4.- Concentración de datos de mortalidad observada del picudo

de la yema del manzano *Amphidees latifrons* con el producto

Pae-sin a base de *Paecilomyces fumosoroseus*.

UAAAN-

INIFAP. 1998.-----

v

INDICE DE FIGURAS

Figuras	Páginas
1.- Mortalidad observada en el picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Bea-sin con el hongo <i>Beauveria bassiana</i> . UAAAN-INIFAP. 1998.-----	30
2.- Mortalidad observada en el picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Meta-sin con el hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> .	

UAAAN-	31
INIFAP. 1998.-----	
3.- Mortalidad observada en el picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Pae-sin con el hongo <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> . UAAAN-	32
INIFAP. 1998.-----	
4.- Líneas de respuesta concentración mortalidad en los productos comerciales Bea-sin y Meta-sin con los hongos <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en el picudo de la yema del manzano <i>Amphidees latifrons</i> . UAAAN-INIFAP. 1998.-----	35

-

vi

INTRODUCCION

En el estado de Coahuila, específicamente en la Sierra del municipio de Arteaga, Coahuila, uno de los insectos plaga que cada año adquiere más importancia es el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons*, ya que debido a su gran voracidad alimenticia y, a la alta población de adultos que se

localizan en algunos árboles, ha provocado alarma entre los productores de manzana en la región. Debido a lo anterior, la aplicación de insecticidas y mezclas de estos para el control de los picudos se está generalizando en los productores de manzana preocupados por el futuro de sus producciones de manzana.

Afortunadamente existen otras opciones para el control de insectos plaga, como es la utilización de microorganismos patógenos, estrategia conocida como control microbial. En nuestro país este combate de insectos es relativamente reciente; sin embargo, estudios realizados en otros estados y con otros insectos indican que los hongos tienen mayor futuro dentro del control microbial, ya que, por contacto, infectan al insecto y penetra a través de la epidermis, por lo que el insecto muere días después. Aunque lo anterior resulta ventajoso, se tiene el inconveniente de que la humedad relativa ambiental y la luz ultravioleta del sol, son los factores que se consideran de mayor relevancia para la persistencia de los patógenos en campo, sobre todo para el caso de los hongos.

Actualmente en México se están realizando estudios para evaluar la virulencia de los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, *P. javanicus*, *Nomuraea rileyi*, *Hirsutella thompsonii* y *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas, para seleccionar la especie y cepa del hongo más sobresaliente para una plaga determinada, con estudios de laboratorio y apoyados con

experimentos en campo que permitan conocer su eficiencia (Lezama, 1991 Citado por Alfaro, 1995).

Por lo anterior se plantea el siguiente **objetivo**: evaluar el efecto a nivel de laboratorio de tres hongos entomopatógenos comerciales sobre el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons*.

REVISION DE LITERATURA

El manzano

Origen del manzano

Ramírez (1993), mencionó que el manzano, se originó en el Sudeste de Asia. Se dice en informes recientes, que ni los Romanos, ni los Griegos fueron pueblos que hayan desarrollado dicho fruto. Se piensa que ambos grupos adquirieron, por herencia, los conocimientos sobre el manzano de otros pobladores desconocidos hasta ahora. Los primeros pasos en la proliferación de ese frutal pudieron iniciarse en el medio Este o Sudeste de Europa con la tecnología utilizada por los Griegos y Romanos.

Se ha publicado en otras obras que el origen del manzano *Malus pumila* L. Es Transcaucasia Central, mientras que en Asia Central se originó el *Malus silvestris* L. Este frutal fue traído por primera vez a América, a principios de 1600, por pobladores europeos. La propagación de esta especie durante esas épocas fue por semilla, dada su facilidad de transporte. Actualmente los cultivares más populares son: Red delicious, Golden delicious y McIntosh, aunque se sigue trabajando con el mejoramiento e introducción de nuevos cultivares particularmente los de origen Asiático. (Velázquez, 1998).

Principales estados productores de manzano en México

A México fue introducido por los españoles durante la conquista propagándose primeramente a los campos de Huejotzingo en el estado de Puebla y posteriormente al Sudeste del Estado de Coahuila por los indios Tlaxcaltecas. (Cepeda, 1988).

(Castilla 1984 citado por Jiménez, 1996) mencionó que en nuestro país éste cultivo se ha propagado principalmente en las regiones de clima templado de Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla y Zacatecas.

Coahuila es uno de los principales productores de manzana ocupando el tercer lugar a nivel nacional en cuanto a superficie sembrada y el octavo en rendimiento, destacándose la región de la Sierra de Arteaga Coahuila. Sin embargo, en estos últimos años la producción de manzana ha sido fuertemente dañada por ataque de diversas plagas notándose incrementos en la población, principalmente en huertos donde el control es poco eficiente.

Importancia del cultivo

(Moreno 1981 citado por Quechulpa, 1998) señala, que la región Sudeste de Coahuila, es la principal productora de manzana.

INEGI (1993), reportó que en el Estado de Coahuila, para el año agrícola de 1990-1991 la superficie plantada de manzano fue de 10,436 ha y la superficie cosechada de 9,606 ha, con una producción de 17,273 ton y un valor de \$ 17,400 000 nuevos pesos; y para 1994 - 1995, en los municipios de Arteaga, General Cepeda, Parras y Saltillo, fue de 8,663 ha y la superficie cosechada fue de 8,513 ha, de las cuales se obtuvo una producción de 32,109 ton con ganancias aproximadas de \$ 73,389,000 pesos.

INEGI (1997), indica que la importancia del cultivo del manzano radica en el volumen de mano de obra que ocupa, así como los ingresos que de él se obtienen.

Plagas del Manzano

Metcalf y Flint (1981), señalaron la importancia de las plagas al considerarlas como un factor limitante para la producción de manzana en Estados Unidos y Canadá. Particularmente en México, se cuenta con estudios limitados que no permiten conocer la mayoría de insectos fitófagos asociados a éste cultivo, siendo que a la fecha solamente se han realizados trabajos que involucran a dos o tres factores de las principales plagas distribuidas en las regiones frutícolas del país. De acuerdo a los catálogos publicados por Sanidad Vegetal, se reportan para el cultivo del manzano las principales plagas de insectos (Sánchez, 1991; Hernández, 1997).

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO
Pulgón lanigero	<i>Erisoma lanigerum</i> (Hausmann)
Palomilla	<i>Cydia pomonella</i> (Linneo)
Frailecillo	<i>Macroductylus infuscatus</i> Bates
	<i>M. variipes</i> Bates

	<i>M. nigriipes</i> Bates
Mosca de la fruta	<i>Anastrepha ludens</i> (Loew)
	<i>A. serpentina</i> (Wied)
	<i>Rhagoletis pomonella</i> (Wlas)
Pulgón verde	<i>Aphis</i> sp
Trips	<i>Frankliniella insulari</i> (Franklin)
Pulgón del manzano	<i>Aphis pomi</i> De Geer
Chicharrita	<i>Empoasca maligana</i> (Walsh)
Barrenado	<i>Cyllene erythrope</i> (Cher)
Escama San José	<i>Quadraspidiotus perniciosus</i> Com
Araña roja	<i>Panonychus ulmi</i> (Koch)
*Picudos de la yema	<i>Amphidees latifrons</i> (Sharp) **
	<i>Paranametis</i>
	<i>Asynonychus</i>

* Estos insectos plaga citados por Sánchez (1991), Perales (1992), Domínguez (1995) y Calderón (1999).

Picudos de la yema

El picudo de la yema del manzano ha sido identificado por diferentes personas y fechas, así Sánchez en 1991, cita dos especies como *Amphidees macer* (Sharp) y *Amphidees major* (Sharp). Posteriormente Perales (1992), Domínguez (1995) y Mendoza en (1995), lo cita con el nombre de *Anametis*

granulatus (Say). Sin embargo Calderón (1999) en un estudio taxonómico sobre los picudos presentes en la Sierra de Arteaga reporta tres generos ya citados, señalando que el reporte para *Anametis* corresponde a *Amphidees* sin señalar especie.

Clasificación taxonómica del picudo de la yema

Blatchley & Leng (1996), Borror *et. al.* (1989); ubica al picudo del manzano dentro de la siguiente clasificación.

Orden -----Coleoptera

Suborden-----Polyphaga

Superfamilia-----Curculionoidea (Rhynchophora)

Familia-----Curculionidae

Subfamilia-----Otiorhynchinae

(Brachyrhininae)

Género-----*Amphidee*

Especie-----*latifrons*

Género-----*Paranametis sp.*

Subfamilia-----Brachyderinnae

(Thylacitimae)

Género----- *Asynonychus sp.*

** Comunicación escrita del M.C. Raúl Muñíz Vélez, especialista en Curculionidos.

Daños del picudo de la yema

Estos picudos de la yema del manzano afecta hasta un 70% de yemas florales durante la etapa de reposo invernal de éste cultivo, y el daño lo hace el adulto, que ocasiona un anillamiento de las yemas florales y vegetativas, evitando brotación de las yemas florales en la primavera y afectando el desarrollo futuro de bolsas y dardos, que causa la perdida de por lo menos un fruto por yema afectada, en caso de las yemas vegetativas afecta la formación de ramas terciarias cargadas de fruta e impide la correcta formación del árbol en sus etapas juveniles (Sánchez, 1992). Esto, citando a *Amphidees* como *Anametis granulatus*.

Hongos Entomopatógenos del Picudo de la Yema del Manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila.

Los picudos de la yema del manzano constituyen la plaga más importante en algunas zonas de la región manzanera de la Sierra de Arteaga; debido a la importancia de éstos insectos y a la poca efectividad de los tratamientos

químicos dirigidos a su control; por lo que se han emprendido desde 1995 una serie de trabajos dirigidos a la identificación y manejo de enemigos naturales de estos Curculionides, (Quechulpa y Sánchez, 1997).

Se han colectado picudos micosados de septiembre de 1995 a marzo de 1997, en dos huertas de San Antonio de las Alazanas, en la Sierra de Arteaga. En varias colectas se reunió un total de 82 picudos micosados, los hongos presentes se identificaron como *B. bassiana* (n=56), *Fusarium sp* (afin a *F. Coccophilum*, de la sección poinnotes que comprende especies entomopatógenas) (n=16), *M. anisopliae* var. *anisopliae*, (n=7) y *P. farinosus* (n=3). Se han aislado cuatro cepas de *B. bassiana*, una de *Fusarium* y una de *P. farinosus*. La cepa de *P. farinosus* causó 32% de mortalidad tras cuatro días de aplicarla tópicamente (inmersión en una suspensión de 10^8 conidias/ml) contra adultos de otros coléopteros (descortezador del cedro, *Phloeosinus tacubayae* Hopkins (Scolytidae) (Quechulpa y Sánchez, 1997).

Estrategias de Control

Control biológico clásico

Es la regulación de la población de una plaga mediante enemigos naturales exóticos (parasitoides, depredadores y/o patógenos) que son importados con éste fin. Usualmente, la plaga clave es una especie exótica que ha alcanzado una alta densidad poblacional en el nuevo ambiente debido a condiciones más

favorables que en su lugar de origen (Rosen, *et. al.* 1994). Por lo tanto, la introducción de enemigos naturales específicos, autorreproductivos, dependiente de la densidad, con alta capacidad de búsqueda y adaptado a la plaga exótica introducida, usualmente resulta en un control permanente (Caltagirone, 1981).

Desde el control biológico exitoso de la escama algodonosa de los cítricos *Icerya purchasi* (Homoptera: Margarodidae) en California con la cochinita *Rodalia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae) importada desde Australia en 1888, cientos de proyectos de control biológico se han llevado a cabo alrededor del mundo (Fitch, 1856 citado por Luck, 1981).

Control biológico aumentativo

Esta estrategia requiere de la propagación masiva y la periódica liberación de enemigos naturales exóticos o nativos (insectos, ácaros, hongos etc.) que puedan multiplicarse durante la estación de crecimiento del cultivo, pero que no se espera se convierta en una parte permanente del ecosistema (Batra, 1982). La liberación aumentativa puede realizarse con expectativas de corto a largo plazo, dependiendo de la especie plaga a tratar, las especies de enemigos naturales y el cultivo.

La cría masiva y la diseminación de los enemigos naturales fue un método muy popular en la Unión Soviética donde la estructura socioeconómica, incluyendo la colectivización de la agricultura, la integración de la investigación y la producción, además de la fuerza de trabajo numerosa y bien organizada, permitió exitosamente la cría masiva y la amplia liberación aumentativa de agentes de control.

Para finales de 1994, unos 222 Centros de Producción de Insectos Entomófagos y Entomopatógenos (CREES) han sido creados (Rosset y Benjamín, 1993). El control aumentativo puede ser muy efectivo a nivel de costos, muchas empresas corporacionales están comercializando un gran número de avispas parasitoides, el depredador de áfidos *Chrysopa carnea*, y entomopatógenos tales como *Bacillus thuringiensis*, *B. popillae*, *B. bassiana* y muchos virus como la poliedrosis nuclear. En la década de los 80's, los costos de tratamientos fueron aproximadamente entre US \$ 24.70 - US \$ 29.60 /ha en invernadero (Batra, 1982).

Manejo Integrado de Plagas (MIP)

La Academia Nacional de Ciencias (1989), afirma que el sistema de control integrado debe estar basado en principios ecológicos directos, combinados y armonizando las diferentes técnicas adecuadas para solucionar problemas de plagas, obteniendo además, la máxima eficacia de agentes de control natural en un sistema ecológico y cuando sea necesario hacer uso de plaguicidas. En

un sistema de manejo de plagas, se utilizan todos los métodos y técnicas de control de una manera tan compatible como sea posible, para mantener una población de plagas bajo el umbral económico (U.E.), (Metcalf y Luckman, 1990).

El MIP es un sistema que requiere criterios ecológicos, ventajas económicas y mínimo riesgo, basado en ocho ideas centrales (Andrews, 1989):

- 1.- El agroecosistema
- 2.- Control natural
- 3.- La biología y ecología de los microorganismos
- 4.- El cultivo como enfoque central
- 5.- El muestro y uso de niveles críticos
- 6.- El uso de tácticas compatibles
- 7.- La integración de disciplinas y
- 8.- Efectos secundarios de fitoprotección.

Antecedentes históricos del control microbiano

Los primeros trabajos experimentales reportados como hongos entomopatógenos se remontan al año de 1835 cuando Agostino Bassi demostró por vez primera que una enfermedad de insecto era ocasionada por un hongo, *B. bassiana* al confirmar en forma experimental que la enfermedad muscardina blanca del gusano de seda, *Bombix mori*, era ocasionado por un Parásito Vegetal. Posteriormente el potencial entomopatógeno de los hongos

producidos masivamente para el control de plagas se inició con los estudios de Metchnikoff (1879) y Krassiltschick (1888) para el control del escarabajo *Anisoplia austriaca* y el picudo *Cleonus punctiventris*, respectivamente. Entre 1888 y 1896, en Kansas E. U. A., se estableció una estación experimental con el objetivo de producir *B. bassiana* y distribuirlo para el control de la chinche *Blissus leucopterus*, los primeros reportes fueron favorables; sin embargo, posteriormente la incidencia natural de la enfermedad fue frecuente y efectiva reduciendo la población del insecto, se concluyó que la distribución artificial del hongo tuvo poco valor por la presencia natural de *B. bassiana*. Otra acción importante en el control microbial se desarrollo de 1921 a 1924 en Florida E. U. A., con la nueva liberación de *Aschersonia aleyrodies* contra la mosca blanca de los cítricos *Dialeurodes citrifolii*, considerandose está acción como un éxito (Berlangua y Hernández, 1997).

Posteriormente con la aparición de los insecticidas sintéticos, encabezados por el DDT, se presenta una disminución por otros agentes de control, los hongos entomopatógenos entre ellos. A finales de los 50's y a principios de los 60's, con los reportes de resistencia de insectos a insecticidas, contaminación ambiental y daños a la salud de dichos productos, cobra un nuevo impulso el control biológico incluyendo el uso de hongos entomopatógenos. A partir de los 70's se reconoce la necesidad de un mayor entendimiento ecológico, particularmente por el renovado interés en el control microbial y las fallas para producir epizootias usando patógenos reproducidos en laboratorio, ya que hasta esa época, en general, se tendía a ignorar la dinámica natural de los patógenos

en campo. En la actualidad los trabajos a nivel mundial se enfocan hacia la interacción de factores climáticos que inducen la formación de epizootias en campo producidas masivamente en medios líquidos de unidades infectivas de alta calidad y mejoramiento genéticos de hongos entomopatógenos (Berlanga y Hernández, 1996).

B. bassiana se ha usado en forma comercial en diferentes partes del mundo. En Rusia, se ha empleado por más de 15 años para el control de *Leptinotarsa decemlineata* (Stal), en combinación con insecticidas. Actualmente, se está tratando de emplearlo sin insecticida, utilizando dosis más altas de conidias/ha, esta muscardina blanca también se usa en Europa para el control de *Laspeyresia pomonella*, plaga del manzano (Ferron, 1978), en Brasil se estudia para el control de *Cerotoma sp. Diabrotica speciosa* (Germar) y *Chalcodermus aenus* (Boheman), plaga del frijol (Daoust y Pereira, 1986).

M. anisopliae ataca una gran cantidad de insectos plaga de cultivos de importancia comercial. Este hongo se ha encontrado en más de 200 especies de insectos, pertenecientes a siete órdenes, de las cuales los Colepteros son los más atacados (Veen, 1968). En Colombia, su presencia se ha comprobado en 22 especies de insectos, especialmente en individuos de la familia Scarabidae (Bustillo, 1995); se cita que *M. anisopliae* presenta gran afinidad por insectos del suelo (Zimmerman, 1992).

En los últimos años se han obtenidos resultados óptimos con el uso de hongos entomopatógenos como factores de regulación de plagas agrícolas, al respecto se puede señalar como ejemplo a Brasil que emplea *M. anisopliae*

para el combate de la mosca pinta *Manarva posticala* en caña de azúcar, en Inglaterra y Holanda *V. lecanii* es aplicado en cultivos de invernadero contra mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Florida , E. U. A., *H. thompsonii* es aplicado contra ácaros de los cítricos *Phyllocoptruta oleivora*. En Africa la formulación de conidias de *Metarhizum sp* con aceites contra *Schistocerca gregaria*. Con aislamiento de *B. bassiana* de picudo del algodón, en E. U. A. se ha comprobado que el hongo presenta altas virulencias contra mosca blanca de las hortalizas *Bemisia tabacia*, (Berlanga y Hernández,1997).

Taxonomía

Posición taxonómica

Según Alexopoulos y Mims (1979).

Reino----- Mycetae
División----- Amastigomicotina
Subdivisión----- Deuteromycotina
Clase----- Deuteromycetes
Subclase----- Hypomycetes
Orden----- Moniliales
Familia----- Moniliaceae
Géneros-----*Beauveria*

Metarhizium

Paecilomyces

Especies-----*bassiana*

anisopliae

fumosoroseus

Los hongos que atacan insectos pertenecen en su mayor parte a las clases Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes y Deuteromycetes (Mc Coy, 1990).

Dentro de los Deuteromycetes en la subdivisión Deuteromycotina se encuentra una gran cantidad de géneros y especies, que parasitan insectos los cuales únicamente se conoce su estado asexual, algunos de ellos se les ha establecido conexiones con estados perfectos (Roberts y Humbert, 1981). El intercambio genético puede presentarse a través del fenómeno de heterocareosis y parasexualidad. Más de 40 géneros han sido identificados, pero el conocimiento de su potencialidad está limitado hacia algunos de ellos como: *Aschersonia* (Sphaeropsidaceae), *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium* y *Verticillium* (Hyphomycetes: Moniliales). Varios autores sugieren que los estados conidiales de varios *Cordyceps* podrían ser *Paecilomyces* o *Verticillium* (Hussey y Tinsley, 1981).

Durante los últimos 20 años, los hongos que han sido objeto de fuente de investigación pertenecen a la clase Deuteromycetes, al grado de que los

hongos *B. bassiana*, *H. thomsonii*, *M. anisopliae* y *V. lecani* han sido producidos a gran escala y formulados como micoinsecticidas, (Maniana, 1991 citado por Lezama, 1993).

Características biológicas de algunos Deuteromycetes

***Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.-** Este hongo se caracteriza por presentar una estructura somática septada de sus hifas, se multiplica por conidios asexuales libres llamados conidiosporas o conidias, formadas a partir de conidióforos en forma de botella (fiálides). Las conidias son esféricas, miden 2.5μ de diámetro, de color blanco cremoso (Ferron, 1985).

***Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorok.-** Este hongo produce conidias cilíndricas de color verde, usualmente truncadas en ambos extremos. Tulloch (1976) propone tres variedades, *M. anisopliae* var. *anisopliae* y *minor*, que presentan conidias cortas (3.5 a 9.0μ de largo, normalmente $5.0-8.0 \mu$) y *M. anisopliae* var. *major*, presenta conidias con dimensiones de $9.0-18.0 \mu$ de largo, normalmente de 10 a 14μ .

***Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith.-** Las especies de este género presentan conidióforos agrupados en paquetes ramificados llamados sinemas. Los filiales son engrosados en la base y terminados en un

cuello largo en forma de botella. Las especies de *Paecilomyces* se agrupan en dos secciones: La sección *Paecilomyces* forma colonias de color amarillento a rosado pardusco, con un olor característico y presentan estado ascal. La sección *Isarioidea* forma colonias blancas o de colores brillantes, no poseen estado ascal y son especies mesófitas. La especie *P. fumosoroseus* forma colonias con tonalidades rosadas, conidias de fusiformes a cilíndricas de 3-4 X 1-2 μ (Zimmermann, 1980, citado por Lezama, 1993).

La especie *P. javanicus* forma colonias de color blanca a cremosas, conidias fusiformes y a veces cilíndricas de 4.6 X 1.5 μ (Zimmermann, 1980 citado por Lezama, 1993).

Parasitismo de Deuteromycetes

Mecanismos de infección

Los hongos Hyphomycetes entomopatógenos como *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. rileyi*, *P. fumosoroseus* y *P. javanicus* presentan un ciclo biológico de dos etapas: parasitaria y no parasitaria. Las conidias germinan en la superficie de la cutícula del insecto hospedero emitiendo un tubo germinativo el cual penetra al insecto mediante dos mecanismos, uno físico y otro enzimático. Se han descrito formas del tipo apresorial que facilitan el proceso de

penetración en *M. anisoplia*, *B. bassiana*, *N. rileyi* y *Paecilomyces* (Ignoffo, 1981).

Los hongos que se caracterizan por producir un complejo de enzimas estructurales, que les permite degradar la cutícula de los insectos, forman lipasas, proteasas, quitinasas y amilasas, (Facchino y Monterio de Barros, 1991; Bidochka y Khachatourians, 1992 citados por Torres y Cárdenas, 1996).

Una vez que el hongo mediante el tubo germinativo logra penetrar al insecto y llegar a la hemolinfa, se alimenta de esta e invade los tejidos del insecto y puede producir productos tóxicos que matan al mismo, los cadáveres se momifican, eventualmente se colorean por una pigmentación antibacteriana secretada por el hongo, como la oosporina, bassianina o tenellinas, por ejemplo en caso de *Beauveria*. Finalmente, el micelio emerge del tegumento y si la humedad ambiental es suficiente, esporula en la superficie del cadáver, si no, el hongo puede permanecer en forma dura y cesante hasta que se presenten las condiciones adecuadas para su esporulación y completar su ciclo de infección e iniciar otro (Ferron, 1981).

Una fuerte crítica acerca del uso de entomopatógenos en el control microbial, es el intervalo que ocurre entre el contacto con la conidia infectiva y la muerte del insecto, ya que durante el período de incubación en la plaga, esta continúa comiendo y causando cierto nivel de daño en el cultivo (Fargues *et. al.* 1994).

Susceptibilidad y resistencia de los insectos a las infecciones

La susceptibilidad de un insecto a infecciones fúngicas varía con respecto a la edad, y a los estados biológicos como huevo, larvas, pupas y adultos, los que pueden ser susceptibles a micosis (Riba *et. al.* 1983 citado por Lezama, 1993 y Ferron; 1978).

Se presume la existencia de un sistema de reconocimiento por parte de los hongos para poder causar infecciones en los insectos, es posible que éste fenómeno sea determinante en la capacidad de infección en los distintos estados biológicos e incluso entre estadios larvales. Se reporta la existencia de un sistema de reconocimiento químico entre la conidia y el tegumento de los insectos, en donde el equipamiento enzimático de los hongos es importante (Fargues *et. al.* 1994). También, se menciona que la configuración morfológica del integumento es determinante para que se lleve a cabo el proceso de infección, la presencia de puntos de discontinuidad eléctrica, la capacidad de producir estructuras apresoriales y la producción de sustancias mucilaginosas, (Magalhaes *et. al.* 1991; Lecuona *et. al.* 1991 citados por Lezama, 1993).

Lo anterior permite comprender, que los verdaderos hongos patógenos contienen información genética que les permite desarrollar infección, y el porque existen diferencias en patogenicidad por parte de los hongos entre estados biológicos de los insectos. También se puede observar, que estas propiedades de reconocimiento, por parte de los hongos, recae en la

constitución morfológica, estructural y química del tegumento de los insectos, la cual varía cuantitativamente con respecto a la edad de los insectos, los principales componentes cuticulares de los insectos son: lípidos, proteínas y quitinas. De la misma forma, se ha demostrado que la constitución cuticular de los insectos varía entre especies y familias del mismo orden de insectos.

El rápido desarrollo de resistencia de los insectos a los diferentes tipos de insecticidas químicos, ha causado la inquietud de que los problemas similares de resistencia a los patógenos pueden presentarse tan pronto como el control microbial sea usado a gran escala. Es difícil de acuerdo con los conocimientos actuales anticipar las posibilidades de desarrollo de resistencia a los patógenos dado que las observaciones de campo y las pruebas realizadas han sido de un alcance muy limitado y se conoce poco de la naturaleza de resistencia natural o adquirida de los insectos a las enfermedades (Hall, 1961 citado por De Bach, 1992). A la fecha no existe una evidencia positiva de que los insectos hayan desarrollado resistencia a infecciones de patógenos aplicados a de sus subproductos. Sin embargo, se sabe que la resistencia es difícil de evaluar y aún es más difícil de reconocer en sus estados iniciales de desarrollo si esta aparece en cualquier lugar donde solo se estén realizando pruebas en pequeñas escalas con productos microbiales.

Algunas formas de defensa de los insectos al ataque de los hongos se precisan a continuación. El general los insecto reacciona de manera no específica al ataque en la cutícula por el proceso de melanización por una actividad fenoloxidásica. Se tiene conocimiento que diversas sustancias de los

hongos parásitos de insectos, tales como glúcidos y glicoproteínas, pueden activar la fenoloxidasa del insecto (Soderhall, 1982 citado por Lezama, 1993). Si la cepa del hongo vence éste mecanismo de defensa del insecto y logra llegar al hemocele se divide en cuerpos hifales (blastosporas); sin embargo, se ve atacado por otro mecanismo de defensa por parte del insecto, del tipo hemocítico; así, los granulocitos se encuentran y envuelven a los cuerpos hifales formando un pseudo tejido llamado granuloma, (Vey, 1971, citado por Lezama, 1993).

Por parte de los hongos, se desarrolla un mecanismo que tiende a frenar la reacción hemocítica, este consiste en la producción de sustancias tóxicas o micotoxinas de diferente peso molecular, que ocasiona inclusive la muerte al insecto antes de que este haya sido literalmente colonizado por el hongo, (Roberts, 1981, citado por Lezama, 1993).

Factores que limitan el parasitismo

Abióticos; A) Temperatura.- La sensibilidad ambiental de algunos estados fungales pueden limitar el desarrollo de estrategias de control a pocos agroecosistemas (Hajek y Leger, 1994). En muchos agroecosistemas las temperaturas que prevalecen son de (10 y 40 °C) generalmente no afectan adversamente a los entomopatógenos. Los efectos de las temperaturas extremas, sin embargo, pueden afectar cuando los entomopatógenos han sido afectados por otros factores (luz, agua y químicos).

Al respecto Lezama (1991) menciona que la mayor parte de los entomopatógenos tienen óptimo término entre 20 y 30 °C, pero su crecimiento es todavía posible entre 0-4 y 32-35 °C, solo que es muy lento. La mayoría de los hongos son más sensibles a las temperaturas elevadas que a las bajas, al grado que pueden resultar latentes.

Ferron (1981) hizo notar que la germinación de una espora en la superficie de la cutícula de un insecto tiene que ser considerada estrechamente sujeta a los factores macroclimáticos, especialmente temperatura y humedad (según referencias de datos *in vitro*) por ejemplo para *Beauveria* mencionó que un crecimiento óptimo se da a una temperatura de 23-25 °C, además que la conidia requiere de una humedad relativa de 92% para germinar. Sin embargo, (Ramoska, 1984 citado por Alfaro, 1995) mencionó que el hongo *B. bassiana* se desarrolla entre los 15-35 °C, siendo su óptimo para su germinación, crecimiento y esporulación entre 25-30 °C. Steinhaus 1960 (citado por Rosas, 1994) encontró que la conidia de *B. bassiana* almacenados a 8 y 4 °C permanecen viables de uno a tres años, en tanto que si se almacenan a 21 °C disminuye su viabilidad a pocos meses.

A nivel de condiciones de laboratorio entre 27 y 30 °C a 100% de H.R., 10 aislamientos de *Paecilomyces spp*, causaron una mortalidad del 70 a 90% para ninfas y en adultos de 60 a 70% de mosquita blanca (Hernández *et. al.* 1995 citados por Ortíz y Alatorre, 1996).

En pruebas de infectividad que se realizaron con unidades infectivas (hifas y esporas) del hongo *P. farinosus*, lograron causar infección a larvas de primer

instar de *Spodoptera exigua* a 30 °C y humedad alta, lo mismo se obtuvo a 15 °C con 47% de H.R. (Agudelo y Falcon, 1983 citados por Ortíz y Alatorre, 1996).

En calabaza dentro del invernadero con temperaturas de 15.6 a 21.3 °C, 79 a 100% de H.R. y tres aplicaciones de *P. fumosoroseus* var. *beijingensis* a intervalos de 10-14 días, se controló de 71 a 100% en ninfas y 40% en adultos de *T. vaporariorum* (Fang *et. al.* 1986 citados por Ortíz y Alatorre, 1996).

B) Luz solar.- Las condiciones ambientales son muy importantes, especialmente la humedad y la radiación solar, esta última reduce la viabilidad de conidias de *B. bassiana* en el campo, en la medida que se incrementa el tiempo de exposición a la luz solar (Vélez y Montoya, 1993). El espectro activo de la luz que oscila entre 290 y 400 nm es más destructivo que otros factores ambientales que afectan la persistencia de entomopatógenos. La vida media de diferentes tipos de inóculo como conidias, esporas, viriones y toxinas expuestas a la luz natural se estima en alrededor de una hora en especies muy sensibles y en aproximadamente 96 horas en las que presentan alta resistencia (Ignoffo, 1992).

La luz solar es perjudicial para las conidias, cualquiera que sea el tiempo de exposición (Daust y Pereira 1986 citado por Mendoza, 1988), en general el tiempo letal medio es de uno a dos días; sin embargo, las conidias protegidas sobreviven mucho tiempo, ya que el hongo protegido en cadáveres de insectos permanecen viables hasta 10 semanas, con una leve disminución del poder germinativo después de 24 horas de exposición a la luz.

De manejo; cultivo y almacenaje.- Una consideración importante de el cultivo masivo de un hongo como agente de control microbial, es la selección de cepas que mantengan un alto grado de virulencia *in vitro* y presenten una abundancia esporulación. En este sentido el rendimiento de esporas se ve influenciado por el tipo de medio utilizado para su cultivo (Gustafsson, 1967; Gutiérrez, 1976 citados por Alfaro, 1995). La producción industrial de hongos requiere de metodologías estandarizadas que utilizan medios líquidos, tales son *B. bassiana* *H. thompsonii*, y especies como *Metarhizium spp*, *P. farinosus* y *V. lecanii* en estos medios producen altos rendimientos de blastosporas (Garza, 1992). *P. fumosoroseus* también puede producirse en medios líquidos, obteniéndose blastosporas o conidiosporas, dependiendo de las condiciones del cultivo (Cárdenas y De la Torres, 1996).

Lezama (1991) señala que algunas características importantes en las formulaciones a base de hongos son aquellas que ayudan a conservar su alto potencial patogénico, que proporcionen suficiente residualidad en campo, por lo que la conservación en almacenamiento hasta la aplicación, son importantes para que la producción de estos sean económicamente rentables.

MATERIALES Y METODOS

Descripción del Area

La Sierra de Arteaga, está ubicada en la porción Sudeste del estado de Coahuila; enclavado en el macizo montañoso que forma parte de la Sierra Madre Oriental y conocido como la Sierra de Arteaga; colinda al Norte con el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila y el estado de Nuevo León, al Sur con el mismo estado y el municipio de Saltillo, al Oriente con los municipios de Santa

Catarina, Villa de Santiago y Galeana del estado de Nuevo León y al Poniente con el municipio de Saltillo (Cepeda, 1988). Siendo las coordenadas de 25° 27' 45" Latitud y 101° 27' 43" Longitud y Altitud de 2,200 msnm (Mendoza, 1995).

Colecta de Adultos

El presente trabajo se realizó en el municipio de Arteaga, a partir del mes de agosto de 1998. Para ello se colectaron adultos del picudo de la yema del manzano de la huerta ubicada en el cañón del tunal, los que se capturaron con ayuda de bandas de cartón corrugado de 15 cm de ancho que se colocaron a una altura del suelo de 20-25 cm en el tronco del árbol sujetadas con una piola, ubicando estos cartones en 40 árboles de la huerta, los insectos capturados se colocaron en recipientes de plástico de 1 litro de capacidad; donde se les proporciono hojas de manzano como alimento. Los insectos se mantuvieron de 3 a 4 días en los recipientes de colecta antes de correr los tratamientos en laboratorio, lo cual se hizo con el fin de eliminar aquellos insectos viejos o débiles por el manejo en las colectas y utilizar los insectos más vigorosos.

En virtud de los trabajos de Calderón (1999), que reporta la presencia de tres géneros de picudos en los manzanos de la región de Arteaga, Coahuila, en el mes de febrero de 1999 se realiza otra colecta de picudos para determinar con que individuos se trabajó, determinándose que los picudos fueron del género *Amphidees latifrons*. Es de mencionar que durante el proceso de colecta de los picudos en 1998 se desecharon aquellos que tuvieran forma notoriamente diferente a la mayoría de la población.

Trabajo de Laboratorio

Una vez colectado el material biológico se llevó al laboratorio de la UAAAN en el cual se realizaron los bioensayos. Los insectos se colocaron en cajas petri en un número de 10 individuos por caja, siguiendo un diseño completamente al

azar con 4 tratamientos, 4 repeticiones, cada uno con sus testigos. En este trabajo se evaluaron tres productos comerciales de hongos que fueron: *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, sobre el picudo *Amphidees latifrons*; el nombre comercial de estos productos son, Bea-sin, Meta-sin y Pae-sin respectivamente.

Para determinar las concentraciones de los productos se siguió un procedimiento armonizado. Primeramente se peso 1 gr de insecticida microbial que se mezcló en 18 ml de agua destilada, después se procedió a hacer el conteo de esporas con ayuda del microscopio y el hemacitómetro para determinar la concentración madre que fue de 1×10^9 a partir de esta se hicieron las demás diluciones para establecer las concentraciones de 1×10^8 , 1×10^7 , y 1×10^6 de cada producto y para el testigo solo se utilizó agua destilada.

Una vez preparadas las concentraciones se colocaron en recipientes de plástico de 100 ml en donde se sumergieron los insectos por un tiempo de 1 a 2 segundos, con ayuda de una malla de tela y apoyado con pinzas entomológicas, los que posteriormente se juntaron en sus cajas petri, estas se acomodaron en un caja de cristal a la que se le puso en la base papel estraza humedecido y dentro de esta se colocaron las cajas petri con los insectos tratados, donde además se confinó un aparato para medir la temperatura y humedad, las cuales oscilaron entre 25-27 °C y 90-100% de H.R, durante el tiempo del estudio.

Se tomaron como insectos muertos a causa de los hongos, aquellos picudos con presencia de esporas o conidias.

Análisis Estadístico

Para el análisis de los bioensayos se utilizó un programa Probit computarizado del cual se obtuvo la CL 50 y CL 95 para *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Así como datos para graficar los resultados en papel Logaritmo-Probit.

También se calculó el Coeficiente de determinación (r^2) por medio del análisis estadístico (SAS), la Chi cuadrada (χ^2) o bondad de ajuste, para lo cual se tomaron mortalidades observadas y las proyecciones de intersección como las mortalidades esperadas, utilizando la siguiente fórmula:

$$d = \sum d \frac{(\% \text{ de mortalidad observada} - \% \text{ de mortalidad esperada})^2}{\% \text{ de mortalidad esperada} (100 - \% \text{ de mortalidad esperada})}$$

se estimó a su vez la probabilidad de ocurrencia del evento (P), para la mortalidad corregida; tomando de base la mortalidad presente en el testigo se utilizó la fórmula de ABBOTT.

$$\%MC = \frac{\% \text{ de mortalidad del tratam.} - \text{mortalidad en el testigo}}{\text{mortalidad en el testigo} - 100} (100)$$

RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se discutirán los resultados obtenidos de los bioensayos realizadas en el laboratorio del Departamento de Parasitología de la UAAAN.

En la (Figura 1), se observa que el hongo *B. bassiana*, (Bae-sin) a una concentración de 1×10^9 conidias/ml, a los siete días después de la aplicación causó una mortalidad de 50%, y a los 14 días la mortalidad real llegó a ser de 90%, siendo esta la más alta; para el caso de la concentración 1×10^8 , el 50% de mortalidad se presentó hasta los 10 días después de la aplicación, alcanzando su máxima mortalidad en un 85% a los 13 días, en las concentraciones de 1×10^7 la máxima mortalidad fue de 50% a los 14 días y para la concentración

1×10^6 y el testigo presentaron mortalidades entre 42.5 y 45%. En este aspecto influyeron factores como el parasitismo que provenía de campo; sin embargo este factor no se considera de importancia relevante dado que el porcentaje de adultos de los que emergieran avispas parásitas no llegó a ser nunca del 1%. Manejo del insecto en el laboratorio, esto debido a que en términos generales a las 14 días se encontró en promedio un adulto y en ocasiones dos con presencia de *B. bassiana*, lo que ocasionó una contaminación por abrir cajas durante los conteos para observar mortalidad y podría ser el haber incluido insectos más viejos que terminaron su periodo de vida durante el desarrollo del bioensayo.

Lo anterior implica que la confianza de los resultados del bioensayo debe enfatizarse con los datos tomados a los ocho días, considerando que la mortalidad en el testigo como limite aceptable es de 20% permitiendo tener mayor confianza en que el efecto en la mortalidad es a causa del hongo, esto indica claramente que en realidad el producto Bea-sin no manifiesta mas que un 59.3% de eficiencia en *A. latifrons* a los ocho días (Cuadro 2 del apéndice); aunque en este mismo cuadro se señala que la mortalidad corregida llegó a ser del 81.8%, pero considerando un 45% de mortalidad real del testigo, lo que vuelve muy inconfiable estos datos.

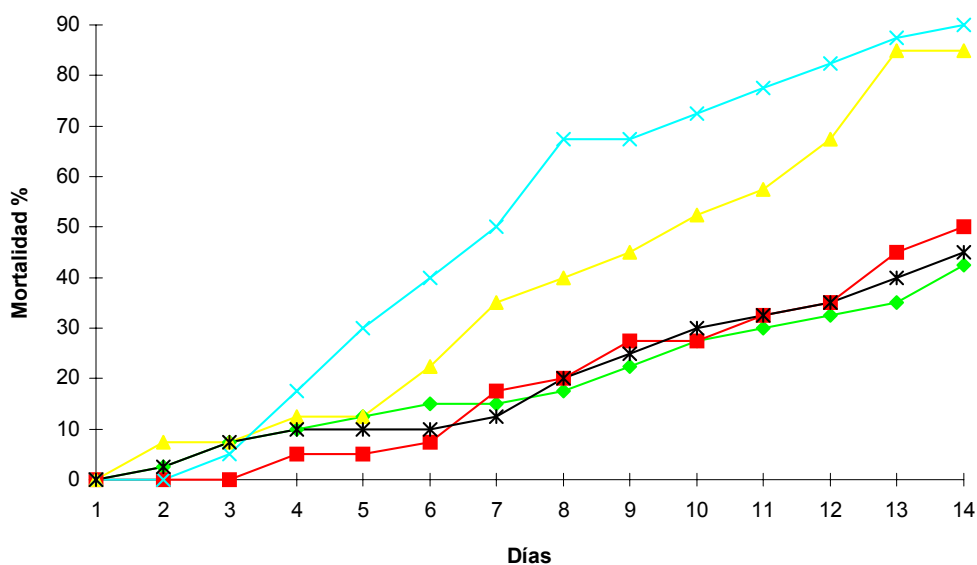


Figura 1. Mortalidad observada en el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Bea-sin con el hongo *Beauveria bassiana*. UAAAN-INIFAP. 1998.

En la figura 2, se puede apreciar que la mortalidad causada por el producto comercial Mata-sin a base de *M. anisopliea* en la concentración de conidias 1×10^9 se obtuvo un 87.5 % de mortalidad hasta los 14 días, alcanzando el 50% en el días 8 después de la aplicación, mientras que para las concentraciones 1×10^8 y 1×10^7 , el 50% de mortalidad se obtuvo entre los días 11 y 12 después de la aplicación, siendo ésta última concentración la que causó una mortalidad superior de 72.5% en comparación con la concentración de 1×10^8 que tuvo una máxima mortalidad del 62.5% a los 14 días, y para la concentración 1×10^6 fue de 65% de mortalidad; para el caso del testigo, se mantuvo abajo de las concentraciones probadas con una mortalidad del 45%. De acuerdo a lo descrito para el anterior producto (Bea-sin) las causas de mortalidad que pueden enmascarar resultados son los mismos que explican el comportamiento de la respuesta en mortalidad (parasitismo, manejo en laboratorio, edad del adulto); así, para este producto el porcentaje de muerte a los ocho días del estudio en la concentración 1×10^9 fue del 42.5% para *A. latifrons*, presentando el testigo una mortalidad del 17.5% (Cuadro 3 del apéndice), por lo que estos datos nos dan una idea clara del trabajo del hongo y nos permite reducir el rango de error a causa de los factores de muerte ya señalados; sin embargo, la mortalidad corregida a los 14 días como se indica en el mismo cuadro 3 llega a ser de 77.2% pero recordando que de nuevo el testigo llega a presentar un 45% de muerte.

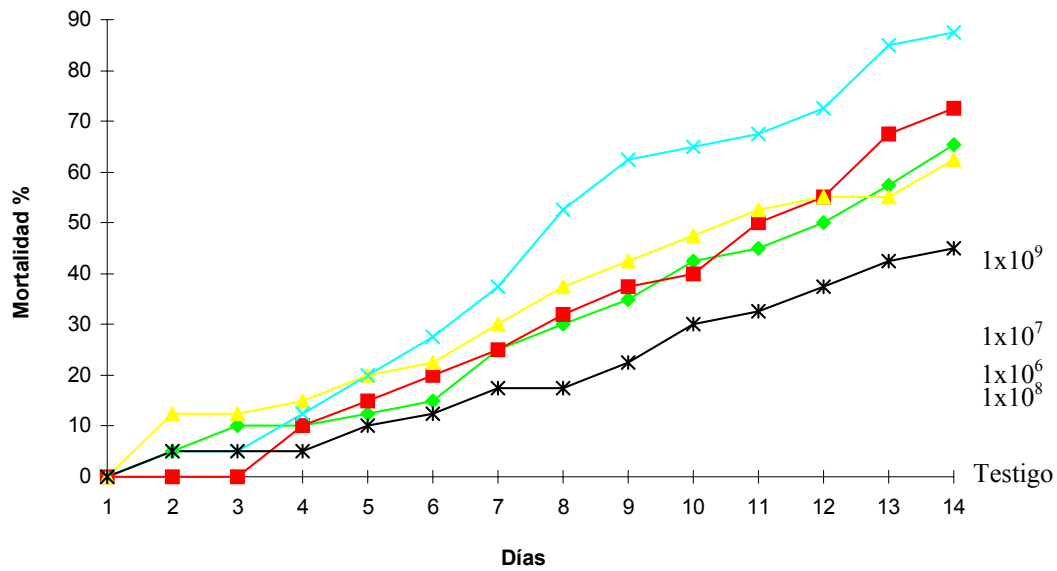


Figura 2. Mortalidad observada en el picudo de la yema del manzano *Amphidees*

latifrons por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Meta-sin con el hongo *Metarhizium anisopliae*. UAAAN-INIFAP. 1998.

Por lo que corresponde al producto Pae-sin en la (figura 3), se muestran las mortalidades causadas por el hongo *P. fumosoroseus*, no fueron tan eficientes como se esperaba, ya que se observa que en las concentraciones de conidias de 1×10^9 y 1×10^6 , el 50% de mortalidad se obtuvo hasta los 13 días después de la aplicación siendo, su máxima mortalidad de 57.3 y 57.5% respectivamente a los 14 días, para el caso de las concentraciones 1×10^8 y 1×10^7 causaron mortalidades de 50 y 40% a los 14 días, en tanto que el testigo, presentó una máxima mortalidad de 67.5%, mayor que en todas las concentraciones probadas. Esto indica que la poca mortalidad en los tratamientos se debió en su mayor parte a otros factores más que al efecto del hongo, como el parasitismo de campo, manejo del insecto en el laboratorio y edad del insecto.

En este aspecto en el (cuadro 4) del apéndice se observa claramente que a los 8 días la mortalidad en el testigo es mayor a los mostrados por cualquiera de las concentraciones evaluadas; resultados similares se tienen a los 14 días, esto indica; que el efecto del hongo sobre *A. latifrons* es demasiado pobre por lo que para trabajos futuros de laboratorio o campo no es recomendable seguir trabajando con esta especie.

Por los resultados anteriores de este producto no se corrieron análisis para establecer su CL₅₀, aspecto que si se realizó para los anteriores productos y cuyos resultados se discuten a continuación.

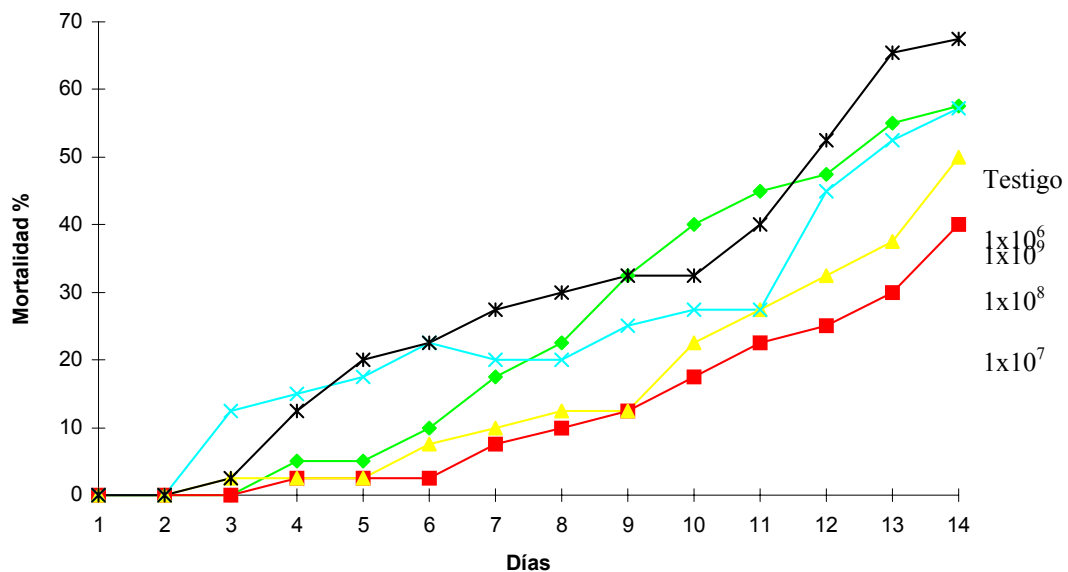


Figura 3. Mortalidad observada en el Picudo de la yema del Manzano *Amphidees latifrons* por distintas concentraciones de conidias/ml del producto comercial Pae-sin con el hongo *Paecilomyces fumosoroseus*. UAAAN-INIFAP. 1998.

Por lo que respecta a la estimación del CL₅₀ para los productos Bea-sin y Meta-sin, estos se muestran en el cuadro 1 donde se observa claramente que

se requiere para el caso de Bea-sin una concentración de 5.9×10^8 conidias/ml para matar el 50% de la población de *A. latifrons*, en tanto que para el Meta-sin se necesita una concentración de 1.09×10^{10} conidias/ml. Por lo que respecta a las líneas de respuesta concentración-mortalidad estos se presentan en la figura 4 en las que se aprecia la mayor eficiencia del producto Bea-sin sobre *A. latifrons* que el Meta-sin ya que las líneas del Bea-sin se acerca más al origen y tiene una posición que alcanza menos ciclos, lo indica que se pueden tener mayores mortalidades al incrementar concentraciones que en el caso de Meta-sin; al respecto se puede señalar que para poder tener 95% de mortalidad (CL_{95}) se estima requerir de una concentración de 1.08×10^{11} en caso de Bea-sin, en tanto que 7.48×10^{15} para Meta-sin. Por lo que para trabajos futuros de laboratorio y campo se muestra más prometedor continuar trabajando con el Bea-sin, producto a base de *B. bassiana*.

El (cuadro 1), muestra los coeficientes de determinación (r^2) donde se observa que los valores estimados son altos de 0.8956 a 0.9497, para Bea-sin y Meta-sin respectivamente, lo que indica que los resultados de los bioensayos muestran excelentes ajustes y hay una confiabilidad en los estudios realizados en laboratorio.

En cuanto a Chi cuadrada (χ^2) o bondad de ajuste para las poblaciones de picudo de la yema del manzano, los valores obtenidos, que se muestran son muy bajos lo que es indicativo que las mortalidades observadas muestran buen ajuste en cuanto a las mortalidades esperadas por lo que alcanzan altos niveles de probabilidad siendo de 99.5%, en el segundo bioensayo lo cual nos dan una alta confiabilidad, significando con esto que de cada 100 veces que repitamos el bioensayo vamos a tener un 99.5 de probabilidad de obtener los mismos resultado. En cuanto al primer bioensayo el resultado de (P) es menor (90%) debido a que solo cuenta con un grado de libertad.

Cuadro 1. Concentración letal 50 y 95, coeficiente de determinación y Chi cuadrada de las líneas de regresión concentración - mortalidad de los productos Bea-sin y Meta-sin con *Beauveria bassiana* y *Metarrizhium anisopliae* en el picudo de la yema del manzano *Amphidees sp.* UAAAN - INIFAP. 1998.

PRODUCTOS	Concentración conidias / ml.		r ²	x ²	G.L	P
	CL ₅₀	CL ₉₅				
Bea-sin	5.9X10 ⁸	1.08X10 ¹¹	0.8956	0.0115	1	90%
Meta-sin	1.09X10 ¹⁰	7.48X10 ¹⁵	0.9497	0.0182	2	99.5%

CONCLUSIONES

Las lecturas de mortalidad más confiables en los biensayos con los entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* son a los ocho días.

La CL₅₀ estimada para *A. latifrons* para el producto Bea-sin fue de 5.9×10^8 conidias/ml y para Meta-sin fue de 1.09×10^{10} conidias/ml.

Para el producto Pae-sin en *A. latifrons* no se determinaron resultados satisfactorios.

Se considera que con *B. bassiana* se pueden tener más probabilidades de éxito en futuros estudios para controlar *A. latifrons* dado que el CL₉₅ para Bea-sin fue de 1.08×10^{11} y para el Meta-sin de 7.48×10^{15} .

BIBLIOGRAFIA

Alexopoulos, C.j. and Mims, c.w. 1979. Introductory Mycology 3^a Ed. John

Wiley and Sons, Nueva York. p.632.

Alfaro, A.M. 1995. Efecto de aplicación de *Beauveria bassiana* (Vuill). sobre plagas del maiz, gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) y gusano elotero *Helicoverpa zea* (Boddie). Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. pp.11-12.

- Andrews, K.L. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro. Depto. de protección vegetal, Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Honduras. pp. 56,59.
- Batra, S.W.T. 1982. Biological control in agroecosystems. *Science* 215: 134-139
- Berlanga, P.A.M. Y V.V.M. Hernández . 1996. Control microbiano con hongos entomopatógenos. Memoria. II Curso de Actualización en Control Biológico. Tecomán, Colima, México. p. 94
- Blatchley, W. S. & C. W. Leng. 1916. Rhynchophora or weevils of north eastern America. The Nature Publishing Company. Indianapolis, U.S.A. p. 754.
- Borror, D.J; C.A. Triplehorn & N.F. Johnson. 1989. An introduction to the study of insects. Sixth Edition. Saunder College Publishing. U.S.A. 827 p.
- Bustillo, A.E. 1995. El uso del hongo *Beauveria bassiana* como un componente en un programa de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. Memoria. XXII Congeso de Socolen. Santafé de Bogotá. pp. 79,85.
- Calderón, B.J. 1999. Descripción de los principales géneros de picudos (Coleoptera: Curculionidae) asociados al manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila, Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coah. México. p. 30.
- Cárdenas, H. Y M. de la Torre. 1996. Production of *Paecilomyces fumosoroseus* conidia in submerged culture. In: Silvy, C. (Edit). " Teccnology transfer in biological control: From research to practice". IOBC Wprs Bulletin. 19(8): 111.
- Cepeda, M. A. 1998. Control químico de la roña del manzano, *Venturia inaequalis* (Cke) Wint en el cañón de los Lirios, Arteaga, Coah. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coah; México. p.58.
- Cepeda, S.M; H. Ramírez Y B.C. Mojica. 1988. El manzano. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah; México. pp.28,29.
- Caltagirone, C.E. 1981. Landmark examples in classical biological control. *Ann. R.ev. Entomology* 26: 213-232
- Daoust, R.A; R.M. Pereira. 1986. Survival of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliales) conidia on cadavers of cowpae pests stored outdoors and in laboratory in Brazil. *Enviromental Entomology*. 15(3): 642-647.

- De Bach, P. 1992. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. 14ª Reimpresión. México. PP. 647, 724.
- Domínguez, G.R. 1995. Efecto de mezclas de insecticidas de diferentes grupos toxicológicos sobre el picudo de la manzano *Anametis granulatus* de la Sierra de Arteaga, Coah. Tesis de Licenciatura. Buenavista, Saltillo, Coah; México. pp. 35,36.
- Fargues, J.J; C. Delmas and R.A. Lebrun. 1994. Leaf consumption by larvae of the colorado potato (Coleoptera: Chrysomelidae) infested with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. J.Eco. Entomol. Francia. 87(1): 67-71.
- Ferron, P. 1985. Occurrence and pathogenicity of *Beauveria bassiana* infesting larval *Sitona discoideus* (Col: Curculionidae) in the Mediterranean region. En tomophaga. Florida. 30(1): 73-82.
- Ferron, P. 1981. Pest control by the fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* In: Burgues, H.D. Ed. Microbial control of pests and plant diseases. 1970-1980. Academic press, New York, pp. 465,482.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insect pest by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23: 409-442.
- Garza, G.E. 1992. Control microbiológico de mosquita blanca. Métodos de control de mosquita blanca en hortalizas. S.A.R.H. Dirección General de Sanidad Vegetal. C.N.R.C.B. Univers. Autónoma de California, Mexicali, B.C. pp. 99,110.
- Hajeck, A.E. and J. St. Leger. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Ann. Rev. Entomol. 34: 17,52.
- Hernández, M.J.L. 1997. Control biológico de plagas del manzano. VII Conferencia Internacional de Plagas del Manzano. Asociación de Productores de Manzana de Arteaga, Coah; México. p.36
- Hussey, N.W; T.W. Tinsley. 1981. Impressions of insect pathology in the people's Republic of China. In: Burgues, H.D. ed. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Academic press. N.Y. pp. 785,795.
- Ignoffo, C.M. 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. Biological control of insects Research Laboratory U.S.A. Departament of Agriculture. Florida Entomologist 75(4): 516-521

- Ignoffo, C.M. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: Burgues, H.D. ed. Microbial control of pest and plant Diseases. 1970-1980. Academic Press. U.S.A. - London. Chapter. 27: 513,538.
- INEGI. 1993. Datos por ejido y comunidad agraria. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática, Coahuila, México. p. 232.
- INEGI. 1997. Cuaderno Estadístico Municipal. Ramos, Arizpe, Coahuila. Ed. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. México. p. 113.
- Jiménez, M.J.A. 1996. Evaluación de campo de mezclas de insecticidas para el control del picudo de la yema del manzano (Say.), San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coah. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coah; México. p.52.
- Lezama, G.R. 1993. Patogenicidad de hongos (Hyphomycetes) y del Nematodo Entomopatógeno *Heterorhitis bacteriophora* Poinar, sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). Tesis de (Doctorado) Universidad de Cóloma, Facultad de Ciencias Biológicas y Agronómicas. pp. 31,36.
- LezamA, G. R. y R. M. Medellin. 1991. Efecto de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre gusano del melón *Diaphania byalinata* en condiciones de laboratorio. Congreso Nacional de Control Biológico. Saltillo, Coahuila. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Pp. 261-269
- Luck, R.F. 1981. Parasitic insects introduced as biological control agents for arthropod pest, In: Pimentel, D. (ed.). Hand book of pest management in agriculture. Vol. II. Boca Raton, Florida. CRC. Press.
- Mendoza, M. A. 1995. Determinación de efecto sinergista del ácido fúlmico en insecticidas de diferentes grupos toxicológicos sobre el picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* Say. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. p. 54.
- Mendoza, A. F. 1988. Innovación tecnológica en producción de *Metarhizium anisopliae* utilizando bolsas plásticas. Segunda Reunión Internacional de Control Biológico, en Cultivo de Caña de Azúcar. La Habana Cuba.
- Metcalf, R. L. y W. H. Luckman. 1990. Introducción al manejo de plagas e insectos. Primera Edición. Editorial LIMUSA, México. p. 710.

- Metcalf, R. L. y W. P. Flint. 1981. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y su control. 11 Edición. Editorial Continental, México. p. 1208.
- Mc Coy, C. W. 1990. Potential for controlling the sweetpotato Whitefly *B. tabaci* White the Fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. IV. Coll. Of Invertebr. pathol and Microbial Control Sip. 23 (2) 386-390.
- NAS. 1989. Control microbiano de insectos. Control de plantas y animales. Vol. III. 5ª Edición . Editorial Ciencias y Técnicas. México. p. 187.
- Ortiz C. M. Y R. R. Alatorre. 1996. Factores que influyen sobre el impacto de los hongos entomopatógenos en el control de Mosquita Blanca. XIX Congreso Nacional de Control Biológico. Simposium Control Biológico de Mosquita Blanca. Culiacan, Sinaloa, México. p. 34
- Perales, G. M. A. 1992. Parasitismo de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) y el picudo de la yema del manzano *Anametis* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestria en Ciencias, UAAAN. Pp. 23,25.
- Quechulpa, M.F; Sánchez, P.S. 1997. Algunos patógenos y parasitoides del picudo de la yema del manzano (Coleoptera: Curculionidae: Otiorhynchinae) en la Sierra de Arteaga, Coahuila, México. XX Congreso Nacional de Control Biológico, Guadal. Jalisco, México. pp. 82,83.
- Quechulpa, M.F. 1988. Actividad de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano, *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae), plaga del manzano en la Sierra de Arteaga, Coah. Tesis de Licenciatura. UAAAN. 4 p.
- Ramirez, H. R. 1993. El manzano. Editorial Trillas. 2 Edición, México. p. 208.
- Roberts, D. W; R. A. Humbert. 1981. Entomogenous fungi. In: Colo GT, and Kendrick B (eds). Biology of Conidial Fungi. New York: Academic Press.
- Rosas, A. J. L. 1994. Hongos entomopatógenos contra las plagas insectiles. Memoria. V Congreso de Control Biológico. Oaxaca, México. pp. 85,99.
- Rosen. D.F.D; Bennett y T.L. Capinera. 1994. Pest managment in the tropics: Biological control a Florida Perspective. Intercep. Andover. P. 737.
- Rosset, P. and M. Benjamin. 1993. two steps backward, one step forward: Cuba's nationwide experiment, with organic agriculture. Global Exchange, San Francisco. p. 56.

- Sánchez, V. V. 1992. Ecuaciones predictivas de daño en base a la densidad y tiempo de exposición de *Anametis* sp. (Coleoptera:Curculionidae) en manzano. XXVII Congreso Nacional de Entomología, San Luis Potosí, México. p. 266.
- Sánchez, V. V. M. 1991. Estudio ecológico preliminar de la entomofauna asociada al cultivo del manzano (*Pyrus malus* L.) en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila, México. pp. 46,50.
- Torres, S. E. y C. H. Cárdenas. 1996. *Paecilomyces fumosoroseus* (wize) Brown y Smith en el control microbiano de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii* Bellows y Perring (Homoptera:Aleyrodidae). Memoria XIX Congreso de control biológico de mosquita blanca. Culiacán, Sinaloa. p. 40.
- Tulloch, M. 1976. The Genus *Metarhizium*. Trans. Bol Mycol Soc. Vol. 66: 407-411.
- Veen, K. H. 1968. Rechercher sur la Maladie, dua *Metarhizium anisopliae* chezle criquet pelerin. Med. Landbouwhogeschool Wageningen 68: 51-77.
- Velázquez, C. I. 1998. Fertirrigación en el cultivo del manzano (*Malus pumilla* L.) de alta densidad con sistema de riego por goteo. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila, México. p. 4.
- Vélez, P. E; E. C. Montoya. 1993. Supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* bajo radiación solar en condiciones de laboratorio y campo. Revista Cenicafé 44 (3): 111-122.
- Zimmermann, G. 1992. *Metarhizium anisopliae* an Entomopathogenic Fungus. In: Symposium 24. Biological Crop Protection. Pflanzenschutz NachrichtenBayer, 45(63): 113-128.

