

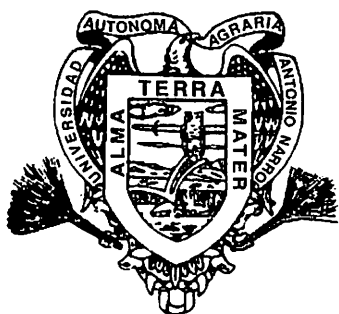
EVALUACIÓN DE AISLADOS NATIVOS DE
Beauveria bassiana (VUILL.) PARA EL CONTROL
DEL COMPLEJO DE PICUDOS DE MANZANO
Amphidees spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)
DE LA SIERRA DE ARTEAGA, COAHUILA.

RENÉ PORFIRIO OLAYO PAREDES

TESIS

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

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

"ANTONIO NARRO"

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Mayo de 2003



13783

BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE AISLADOS NATIVOS DE *Beauveria bassiana* (VUILL.)
PARA EL CONTROL DEL COMPLEJO DE PICUDOS DEL MANZANO
Amphidees spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) DE LA SIERRA DE
ARTEAGA, COAHUILA.

TESIS

POR

RENÉ PORFIRIO OLAYO PAREDES

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y
aprobada como requisito parcial, para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Asesor:

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor:

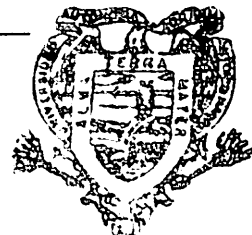
M.C Víctor M. Sánchez Valdez

Asesor:

M. C. Félix de J. Sánchez Pérez

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Mayo de 2003



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REDONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.N.

13783

II

EL HOMBRE DE VIDRIO

*Cuando obtienes lo que quieres en tu lucha por el bienestar
y el mundo te hace rey por un día,
sólo se ve al espejo y mírate a ti mismo
y observa qué es lo que el hombre tiene que decir.*

*Pero en esta ocasión no es tu padre o madre o cónyuge
por cuyos juicios sueles pasar,
el compañero que tiene el veredicto que más cuente en ti vida
es aquel que mira en el vidrio.*

*Algunas gentes pueden pensar que eres admirable
y decirte que eres un ser maravilloso,
pero el hombre de vidrio dice que sólo eres un fanfarrón
si ni puedes verlo directo a los ojos.*

*Él es la persona a quien hay que agradar, no importan todos los
demás,
él estará contigo claramente hasta el final,
y tú habrás aprobado los exámenes más difíciles y peligrosos
si el hombre del vidrio es tu amigo.*

*Tú podrás engañar a todo el mundo durante años
y recibir palmadas en el hombro mientras pasas
pero tu premio al final serán lágrimas y un corazón dolido
si tú le has hecho trampa al hombre de vidrio.*

Anónimo

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Gracias por haberme dado la vida, por permitirme lograr un anhelo y la virtud de ser mejor cada día de mi vida, por darme la energía y la fé para lograrlo.

A MI ALMA MATER

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que a través del Departamento de Parasitología Agrícola me educó para retos futuros.

Al Comité Asesor, que a través de mi formación profesional han sido un ejemplo a seguir, especialmente a;

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

M. C. Víctor M. Sánchez Valdez

M. C. Félix de J. Sánchez Pérez

Gracias a ellos por contribuir en la conducción, revisión y sugerencias para llevar a cabo el presente trabajo

A mis amigos, Amigas y Compañeros de la Maestría. Por compartir todos esos momentos de alegría, tristezas y todos aquellos momentos compartidos que quedaran para siempre y nunca olvidaré. Por compartir conmigo su amistad les doy gracias.

DEDICATORIA

Con cariño a mis padres: Bardomiano Olayo Pineda y María Paredes Ramos
Por darme esta familia, enseñarme a luchar para lograr objetivos en la vida y quienes siempre tuvieron confianza en mí y quienes me alentaron a seguir.

Por darme su cariño, apoyo incondicional y enseñarme que en la vida siempre se lucha constantemente para lograr metas ***Gracias de todo Corazón.***

A mis Hermanos:

Yolanda

José Luis

José Juan

Gracias por la gran confianza que depositaron en mí, por el apoyo moral, por creer en mis ideas y por todo el esfuerzo incondicional que me brindaron para terminar mis estudios de postgrado.

A mi Tía; Filomena Olayo Pineda

A mi novia, **Gaby** por su amor, apoyo y aliento para seguir adelante, con todo cariño, ***Gracias.***

Por su apoyo, consejos y comentarios durante mis estudios, por haber creído en mi, ***Gracias.***

A la Familia Yáñez Gonzáles

Familia Magallanes Monreal

Familia Zamora Corvera

A la Sra. Lupita

A todos ellos mil gracias por su desinteresado apoyo en todos aquellos momentos difíciles y que gracias a sus comentarios y consejos me dieron fuerzas para seguir adelante, ***Gracias.***

COMPENDIO

Evaluación de Aislados Nativos de *Beauveria bassiana* (Vuill.) Para el Control del Complejo de Picudos del Manzano *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) de La Sierra de Arteaga, Coahuila.

POR

RENÉ PORFIRIO OLAYO PAREDES

MAESTRÍA EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAYO 2003

Dr. Gabriel Gallegos Morales -Asesor-

Palabras clave: Entomopatógeno, Cepas nativas, Bioinsecticida.

Dentro de la presente investigación, el objetivo fue aislar, identificar y evaluar la actividad micoinsecticida de cepas nativas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones en laboratorio y formulaciones en campo sobre el complejo de picudos del manzano *Amphidees* spp. de la Sierra de Arteaga, Coahuila.

Los muestreos se realizaron al azar en huertas de manzano de San Antonio de la Alazanas, Arteaga, Coahuila, donde se encontraron picudos adultos con presencia de micosis blanca algodonosa "muscardina blanca", la que se identificó como *Beauveria bassiana* ampliamente distribuida en huertas muestreadas. Las muestras se colectaron y se llevaron al Laboratorio de Fitopatología, del Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

De 24 muestras colectadas en campo, se aislaron 21 cepas de *Beauveria* de adultos de *Amphidees* spp, de las cuales se seleccionaron cuatro cepas, pertenecientes a la especie *Beauveria bassiana*, de acuerdo a las características morfológicas de Barnett y Hunter (1998). Además estas cepas fueron las que presentaron mejor crecimiento en Papa Dextrosa Agar y con mayor cantidad de conidias producidas. Para efecto de manipulación de estos aislados se les asignó la clave: SAA-1, HCA-2, SAN-3 y SAA₂-4.

La producción de conidias de las cepas seleccionadas de *B. bassiana* se realizó bajo el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas: a) producción de micelio en Caldo Dextrosa Agar y b) producción de conidias de *B. bassiana* en arroz como sustrato sólido. De aquí se obtuvieron las masas de conidias para preparar las concentraciones de los bioensayos, además de realizar las pruebas de viabilidad.

En los bioensayos de laboratorio, se obtuvo que de las cuatro cepas de *B. bassiana* evaluadas sobre adultos de *Amphidees* spp., dos fueron las que presentaron mayor patogenicidad: SAA-1y HCA-2, a los 7 y 13 días después

de la aplicación, obteniendo mortalidades en adultos de 77–99 y 68–97 por ciento respectivamente. Con los datos obtenidos se observó que la cepa de *B. bassiana* HCA-2 mostró un CL_{50} de 1.6×10^6 conidias/ml y la cepa SAA-1 mostró un CL_{50} de 7.8×10^7 conidias/ml a 13 días. Y la CL_{95} para las cepas SAA-1, HCA-2 SAN-3 y SAA₂-4 fueron de 5.2×10^{10} , 6.2×10^{11} , 1.0×10^{12} , y 3.0×10^{11} conidias/ml respectivamente, todos a los 13 días del bioensayo.

Para los estudios de campo se evaluaron las cepas nativas de *B. bassiana* SAA-1 y HCA-2, que fueron las que presentaron mayor patogenicidad en laboratorio, para facilitar su efecto se realizaron tres mezclas (formulaciones); con citrolina, en polvo y en forma líquida a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml cada una, evaluándose en dos huertas de manzano. La cepa SAA-1 de *B. bassiana* con citrolina mostró 32.7 por ciento de control, seguido del formulado en polvo de la misma cepa con 22.1 por ciento de control, ambas a la concentración de 1×10^{13} conidias/ml en la huerta El Conejo. En la huerta Don Jesús los tratamientos con mejor respuesta de control fueron los de la cepa SAA-1 de *B. bassiana* con citrolina en las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml con 58.1 y 57.9 por ciento de control respectivamente, seguido del formulado líquido de la misma cepa (SAA-1) y concentraciones con 44.9 y 33.9 por ciento de eficiencia respectivamente, durante 36 días muestreados a partir de la aplicación de los tratamientos en las dos huertas.

ABSTRACT

Evaluation of Native Isolates of *Beauveria bassiana* (Vuill.) for the Control of the Apple Weevil Complex *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) on the Sierra de Arteaga, Coahuila.

BY

RENE PORFIRIO OLAYO PAREDES

MASTER OF SCIENCES
IN PLANT PARASITOLOGY
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAYO 2003

Dr. Gabriel Gallegos Morales -Advisor-

Key words: Entomopathogen, Native strains, Bioinsecticide.

The objective of the present investigation was to isolate, identify and asses the micoinsecticidal activity of native strains of the entomopathogen fungus *Beauveria bassiana* (Vuill.) at different concentrations in laboratory and under field conditions against the apple weevil complex *Amphidees* spp. if the Sierra de Arteaga, Coahuila.

Samples were taken at random in apple orchards at San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. Where adults weevils were found infected with a white cottony mycosis "muscardina blanca" and identified as *Beauveria bassiana* widely distributed in the sampled orchards. The samples were taken to the Phytopatology Laboratory of the Parasitology Department of the Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro.

From the 24 samples collected in the field, 21 strains of the *Beauveria bassiana* were isolated from *Amphidees* spp. and four of the species *Beauveria bassiana* were selected according to the morphological characteristics of Barnett and Hunter (19989. Also these strains presented the best development on Papa Dextrose Agar (PDA) and produced the largest amount of conidia. In order to make the best handling of these isolates a special code was assigned: SAA-1, HCA-2, SAN-3 and SAA₂-4.

Production of conidia from the selected strains of *B. bassiana* was carried out using the two step biphasic procedures: a) production of the mycelium in Dextrose Agar Broth and b) production of conidia of *B. bassiana* in rice as a solid substrate. From here the mass of conidia were obtained to prepared the different concentrations for the bioassays and also to make the viability tests.

In the laboratory bioassays, from the four strains oh *Beauveria bassiana* that were evaluated against adults of *Amphidees* spp.: two presented the largest

pathogenic activity: SAA-1 and HCA-2 at 7 and 13 days after the application and adult mortalities of 77-99 % and 68.97 percent respectively. With these data it was seen that the strain HCA-2 of *B. bassiana* gave a LC_{50} of 1.6×10^6 conidios/ml and the strain SAA-1 showed a LC_{50} of 7.8×10^7 conidios/ml at 13 days of the bioassay.

Regarding the field studies, the native strains evaluated of *B. bassiana* were SAA-1 and HCA-2, which showed the largest pathogenic activity in the laboratory and made in three formulations; with citrolina, powder and in a liquid form at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidios/ml each one and evaluated en two apple orchards. The strain SAA-1 of *B. bassiana* with citrolina showed a 32.7 percent control, followed by the powder formulation of the same strain with 22.1 percent control, both at a 1×10^{13} concentration of conidios/ml at the El Conejo orchard. At the Don Jesus orchard the treatments with the best control were the strains SAA-1 of *B. bassiana* with citroline at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidios/ml with 58.1 and 57.9 percent control respectively, followed by the liquid formulation of the same strain SAA-1 and the same concentrations with 44.9 and 33.9 percent of efficiency respectively, during the 36 days of sampling from the beginning of the application of the treatments at the two orchards.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Generalidades del Manzano	4
Importancia alimenticia	4
Ubicación del área manzanera	5
Características botánicas	5
Fenología	6
Ubicación taxonómica del manzano	7
Insectos asociados al cultivo del manzano	8
Picudos de la yema del manzano	9
Clasificación taxonómica de los picudos de la yema del manzano	10
Características de la familia Curculionidae	10
Hábitos y daños del complejo de picudos	11
Tipos de Control en el Complejo de Picudos	12
Control químico	13
Control biológico natural	14
Control microbial	15
Características Generales de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.)	16
Ubicación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.)	16
Características morfológicas	17
Modo de acción y etapas de infección	18
Aspectos Generales para los Entomopatógenos.....	21
Medios de crecimiento para entomopatógenos	21
Determinación de eficiencia de los entomopatógenos en campo	21

Factores que determinan la eficiencia de los hongos entomopatógenos	24
Ventaja de los entomopatógenos	25
Parámetros de calidad	25
El impacto de los entomopatógenos en el ambiente	26
Formulaciones	26
ARTÍCULOS CIENTÍFICOS.....	29
EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) SOBRE <i>Amphidees</i> spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) DE ARTEAGA, COAHUILA.	29
EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) EN CAMPO SOBRE <i>Amphidees</i> spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN ARTEAGA, COAHUILA	46
CONCLUSIONES	67
RESUMEN	69
LITERATURA CITADA.....	73
APÉNDICE	80
CONSULTAS PAGINAS WEB	81
INDICE DE CUADROS	82
APÉNDICE A: Bioensayos.....	86
APÉNDICE B: Pruebas de campo	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Página
2.1 Desarrollo fenológico del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila.....	7
2.2 Características morfológicas de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.), tomada de Barnett y Hunter.....	18
2.3 Ciclo de infección de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.), Casamayor, 1998..	20

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la manzana es una de las frutas con mucha aceptación en la industria y consumo en fresco. Este frutal se encuentra ampliamente distribuido, en todas las regiones templadas del mundo y en la actualidad gracias al avance de la tecnología, se le encuentra también en regiones subtropicales y a nivel del mar, como en la costa de Hermosillo en México y países como Venezuela , Israel, Filipinas y Tailandia (Ramírez y Cepeda 1993). El cultivo del manzano *Pyrus malus* L. en México en los últimos años se ha observado poco crecimiento en la producción nacional, en comparación a la producción mundial, pasando del décimo lugar en la producción mundial de manzana con 283,000 ton (FAO, 1993) a ocupar el vigésimo segundo lugar, a pesar de tener una producción de manzana de 457, 889 ton (FAO, 2001).

Las regiones templadas de México son las de mayor importancia donde se explota el manzano como Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla y Zacatecas. Específicamente Coahuila ocupa el tercer lugar a nivel nacional con 8,282 ha y octavo en rendimiento con 9 ton/ha, ocupando la Sierra de Arteaga, Coahuila el 14 por ciento del área total de manzano en México (INEGI, 2001).

En los últimos años en la región manzanera de la Sierra de Arteaga, se tienen fuertes problemas con una nueva plaga constituida por un complejo de picudos de la yema del manzano que son; *Amphidees latifrons*, *A. macer* y *Amphidees* sp., los que se encuentran ampliamente distribuidos en la región y constituyen un fuerte problema de importancia económica. Los picudos se alimentan en las hojas causando mordeduras en forma de "U" durante el período de abril a octubre sin causar daño económico (Quechulpa, 1998; Lezcano, 2000). Pero su actividad de noviembre a febrero ocasiona anillamientos en yemas vegetativas y florales, provocando la muerte de hasta un 70 por ciento de yemas florales (Sánchez *et al.*, 1992). Durante la última década el complejo de *Amphidees* ha provocado que los productores de manzano tomen decisiones drásticas, como aplicaciones inmoderadas, altas dosis y mezclas de insecticidas (Jiménez, 1996), no logrando un control adecuado del mismo, causando además un daño directo sobre fauna benéfica, contaminación e incremento de costos de control (Lezcano, 2000).

Lo anterior ha motivado que se realicen estudios con microorganismos presentes en la Sierra de Arteaga para determinar el impacto del control biológico, como parte de una estrategia de manejo integrado de plagas, sobre el complejo de picudos *Amphidees* spp. El control biológico es una herramienta de combate barata, no contamina, no causa disturbios ecológicos y no daña la fauna benéfica e incluye además de microorganismos a varios enemigos naturales primordialmente parasitoides como *Oestrophasia* sp. (Diptera: Tachinidae), (Velázquez, 2002) y hongos entomopatógenos como, *Metarhizium*

anisopliae, *Paecilomyces farinosus* y con mas frecuencia *Beauveria bassiana* (Sánchez, 2000; Sánchez *et al.*, 2001).

Existe el interés de la UAAAN de evaluar hongos entomopatógenos presentes en forma natural en la región, como agentes de control biológico para lograr una reducción de la plaga. El uso de cepas nativas y comerciales no ha logrado los resultados deseados debido al manejo o selección de cepas, formulaciones y/o dosis no adecuados. Por tal razón es necesario desarrollar una formulación tipo, que proteja las conidias de los hongos de la desecación, luz solar, aireación, etc., antes y después de la aplicación. Por lo que se plantean los siguientes objetivos; Evaluar la virulencia de cepas nativas de *Beauveria bassiana* en laboratorio sobre picudos de *Amphidees* spp. y Evaluar la eficiencia de tres mezclas (formulaciones) de *B. bassiana* (citrolina, polvo y en líquido) para el control de picudos de la yema del manzano *Amphidees* spp.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del Manzano.

Es un frutal caducifolio de clima templado, de los más antiguos originario de las partes templadas de Europa, principalmente de las regiones del Cáucaso y Asia central. En la actualidad se le localiza en la mayoría de las regiones templadas del mundo. Cabe mencionar que el avance en la ciencia ha permitido en los últimos años, que el manzano se cultive en regiones subtropicales y a nivel del mar, como en la costa de Hermosillo en México y en países como Tailandia, Filipinas, Israel y Venezuela. México tiene varias regiones templadas donde se cultiva entre, los que se encuentran en Chihuahua, Coahuila, Durango, Puebla y Zacatecas (Ramírez y Cepeda, 1993).

Importancia alimenticia.

La FAO (1993) reporta que México ocupa el décimo lugar en la producción mundial de manzano con 283,000 ton. En México tiene aceptación para la industria y consumo en fresco, a nivel nacional ocupa una superficie de 66,738 ha de las que se tiene en producción 54,724 ha de las cuales el 83 por

ciento de la producción es aportada por Chihuahua, Durango, Coahuila y Puebla (INEGI, 1998), aportando siete millones de jornales por ciclo de cultivo. Coahuila ocupa el octavo lugar a nivel nacional con un rendimiento de 9 ton/ha (INEGI, 2001).

Ubicación del área manzanera.

En Coahuila, el manzano se cultiva en el municipio de Arteaga, conocido como Sierra de Arteaga, la cual se ubica al suroeste del estado de Coahuila en el macizo montañoso que forma parte de la Sierra Madre Oriental, colindando al Norte con el municipio de Ramos Arizpe y el Estado de Nuevo León, al sur con el mismo estado y con el municipio de Saltillo, al oriente con Nuevo León y al poniente con Saltillo. La región posee una superficie bajo riego de bombeo de 5,049 ha, así como 708 ha bajo riego de gravedad (Ramírez y Cepeda, 1993). La superficie total dedicada al cultivo de manzano es de 8,282 ha (INEGI, 2001).

Características botánicas.

Porte: Alcanza como máximo 10 m de altura y presenta una copa globosa, tronco derecho que normalmente alcanza 2 a 2.5 m de altura, con corteza cubierta de lenticelas, lisas, de color verdoso sobre ramos y escamas de color gris parda sobre partes viejas del árbol. Tiene una vida de 60-80 años.

Las ramas se insertan en ángulo abierto sobre el tallo, son de color verde oscuro, a veces un color negruzco o violáceo. Los brotes jóvenes terminan con frecuencia en una espina.

Sistema Radicular: Raíz superficial, con menos ramificaciones que en el peral.

Hojas: Ovals, acuminadas, aserradas, con dientes obtusos, blandos, con el haz verde claro y tomentosas de doble longitud que el pecíolo, con 4-8 nervios alternados y bien desarrollados.

Flores: Grandes y cortamente pedunculadas que se abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas de color rosa pálido a veces blancas y en número de 6-8 unidades en corimbo.

Fruto: Pertenece al tipo pomo, con pedúnculo corto, semillas color pardo brillante (Ramírez y Cepeda, 1993; Agroalimentación, 2001)

Fenología

El ciclo del manzano inicia con la caída de hojas a mediados de octubre, hasta 15 de noviembre (Figura 2.1), que es cuando el árbol entra al reposo invernal, período que permanece hasta febrero. En marzo continua con el desborre de las yemas y el inicio de la actividad vegetativa a principios de abril, la floración, brotación de las primeras hojas y finalmente el amarre del fruto a finales del mismo mes. De mayo a septiembre es el tiempo donde se expresa el desarrollo máximo de vegetación, además del desarrollo del fruto y acumulación

de nutrientes para el ciclo siguiente, teniendo la cosecha de agosto a septiembre. Después el árbol inicia con la caída de hojas y prepararse para el ciclo siguiente (Cepeda y Hernández, 1983).

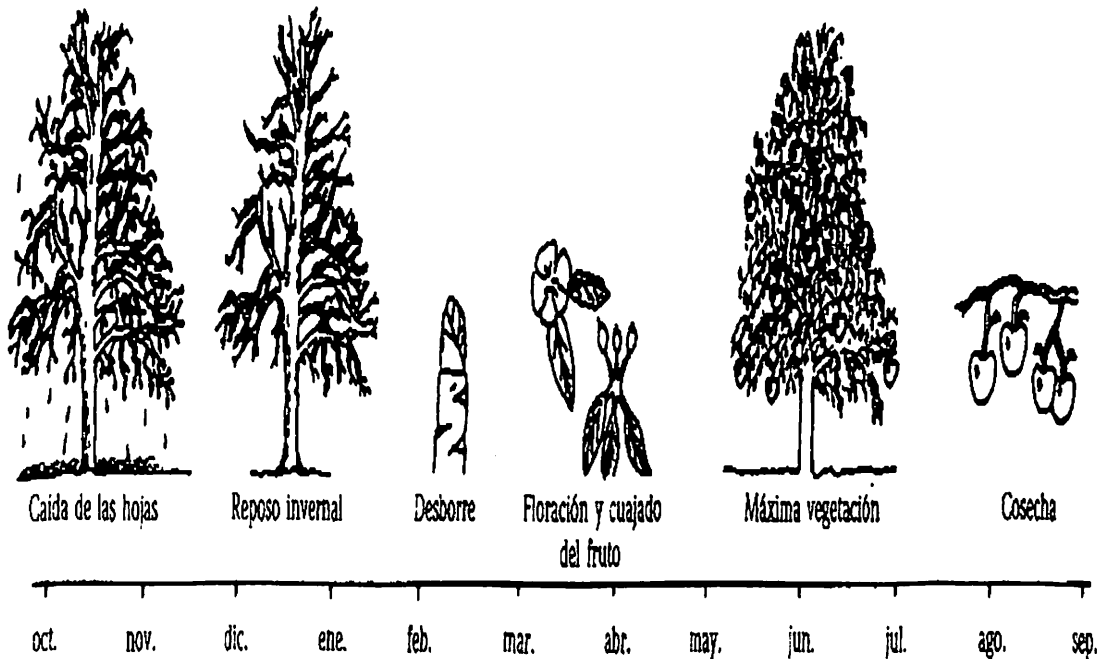


Figura 2.1.- Desarrollo fenológico del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila (Cepeda y Hernández, 1983).

Ubicación taxonómica del manzano.

De acuerdo a Sinnott y Wilson (1975), la posición taxonómica de este frutal es:

Reino Vegetal

División..... Traqueofitas

Subdivisión.....Pterosidas

ClaseAngiospermas

Subclase.....Dicotiledóneas

OrdenRosales

Familia.....Rosaceae

Género.....*Pyrus*

Especie.....*malus*

Insectos asociados al cultivo del manzano.

En los manzanos hay una diversidad de insectos, aunque no todos son de importancia económica como; el frailecillo *Macroductylus infuscatus* (Bates), escama de San José *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock), ácaros *Bryobia rubriculus* (Sheuten), chicharritas *Empoasca maligna* (Walsh). Dentro de los insectos de mayor importancia económica para los productores se tiene a; la palomilla de manzano *Cydia pomonella* L., pulgón lanífero, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann), trips *Frankiniella helianthi* (Moulton), araña roja *Eotetranychus lewisi* (McGregor) y los picudos de la yema del manzano *Amphidees latifrons*, *Amphidees macer* y *Amphidees* sp. Estos picudos se encuentran en las huertas ubicadas a lo largo de los cañones como; la Carbonera , el Tunal, los Lirios, Derramadero, Jamé y San Antonio de las Alazanas (Sánchez 1981; Ramírez y Cepeda 1993; Sancén 1999).

Picudos de la Yema del Manzano.

Los picudos del manzano han tenido un proceso de identificación variable desde la primera vez que fueron reportados por Sánchez en 1981, el cual dio a conocer dos especies presentes en el manzano, como *Amphidees macer* y *Amphidees major*. En los noventas la plaga tomó mayor importancia, pasando de una plaga de interés secundario a una plaga de importancia económica, donde Perales (1992), Mendoza (1995) y Domínguez (1995) lo citan con el nombre de *Anametis granulatus* (Say). No obstante Calderón (1999), continuando con los estudios de identificación taxonómica sobre picudos de la yema del manzano de la Sierra de Arteaga, reportó a tres géneros, mencionando que los insectos citados como *Anametis* corresponden al género *Amphidees*, encontrando además a otros dos géneros que son: *Asynonychus* sp. y *Paranametis* sp.

En el 2000, Lezcano, menciona que los picudos con mayor incidencia, son los del género *Amphidees*, siendo estos los de mayor importancia de la región manzanera, pero encontrando que el género *Amphidees* es un complejo con tres especies que son *A. latifrons*, *A. macer* y *Amphidees* sp.

Clasificación Taxonómica de los Picudos de la Yema del Manzano.

Esta ubicación de acuerdo a (Blatchley y Leng, 1916; Borror *et al.*, 1989) es;

Reino.....Animal

Phylum..... Arthropoda

Clase.....Hexapoda

OrdenColeoptera

Suborden.....Polyphaga

Familia.....Curculionidae

Subfamilia.....Otiorhynchinae

Género.....*Amphidees*

Especie.*latifrons* (Sharp)

macer (Sharp)

y sp.

Características de la familia Curculionidae.

Son de tamaño variable de 1-35 mm, se reconocen fácilmente por tener un pico bien desarrollado, con antenas capitadas y acodadas, palpos pequeños, rígidos que generalmente están dentro de la cavidad bucal. Dentro del Orden Coleoptera es la familia más grande con alrededor de 2,500 especies en Norteamérica y 50,000 en el mundo, con una variación en tamaño, forma y

desarrollo del pico. La mayoría son fitófagos, destacando algunos como plagas agrícolas. Atacan casi a cualquier parte de la planta, desde flores, hojas, raíces, frutos y otras estructuras. (Borrór *et al.*, 1989; Metcalf y Luckman, 1990).

Son fácilmente reconocibles por su pico que termina en prolongación de la cabeza, en la parte terminal cuenta con un juego completo de partes bucales masticadores, antenas acodadas y clavadas. El pico es generalmente delgado, en algunos casos muy largo y curvado, el cual utiliza para alimentarse debajo de la epidermis de las plantas y algunas hembras también la utilizan para hacer una cavidad donde colocan los huevecillos. Cuando son adultos son de cuerpo duro, con alas anteriores modificadas llamadas elitros, y pueden tener o carecer de alas membranosas posteriores, son de color oscuro generalmente y fingen estar muertos cuando se les molesta, (Davinson y Lyon, 1992)

Hábitos y daños del complejo de picudos *Amphidees spp.*

Hábitos.- Se ha observado que su comportamiento activo es por las noches, que es cuando se alimentan y se distribuyen por las huertas, con el fin de protegerse de los rayos del sol y a primeras horas del día estos comienzan a descender, ocupando las ranuras de los árboles, bandas de cartón y el suelo, ocultándose bajo la hojarasca, terrones, malezas, etc. Cuando hay exceso de agua en el suelo los picudos se mantienen en el envés de las hojas y grietas o bandas de cartón donde no llegan los rayos del sol (Perales, 1992; Mendoza, 1995 y Ávila, 1998),

Daños.- Perales (1992), menciona que el daño de picudos es un anillamiento de yemas florales y vegetativas, causando con esto pérdida de dardos y a su vez los frutos esperados en la temporada. A su vez Sánchez *et al.* (1992) da a conocer que los picudos afectan hasta un 70 por ciento de las yemas florales durante la etapa de reposo invernal, evitando su brotación en la primavera y afectando el desarrollo de frutos. El daño a una yema floral causa por lo menos la pérdida de un fruto en las cosechas de dicho año, además al dañar las yemas vegetativas afecta la formación de ramas terciarias que son las cargadoras de la fruta para el año siguiente y daña en su etapa juvenil la formación correcta del árbol (Jiménez, 1996; Ocaña, 1996).

Cuando los árboles tienen follaje menciona que los picudos se alimentan de las hojas, observándose mordeduras en forma de "U" (Quechulpa, 1998). Las larvas se han observado causando daño en las raicillas del manzano localizadas en el suelo suelto y con poca humedad la que facilita su poco movimiento (Conde, 1998).

Tipos de Control en el Complejo de Picudos.

Los agricultores que se dedican al cultivo del manzano han logrado adelantos en manejo y control de las plagas que los afectan. Pero no siempre los métodos son eficaces para combatir las plagas ni para exterminar otras. En ocasiones solo un método proporciona el control adecuado, pero en general los mejores resultados se han dado con la combinación de métodos (NAS, 1992).

Control químico.

En la década de los noventas, los picudos de la yema del manzano comenzaron a tomar importancia tal, que de ser una plaga secundaria que no causaba pérdidas a los agricultores, pasa a ser una plaga de importancia económica. Lo anterior provocó la alerta entre los agricultores en utilizando insecticidas químicos con aplicaciones inmoderadas y en altas dosis sin lograr un control adecuado de los picudos e incrementó de costo del control (Jiménez, 1996).

Debido a esta situación se han realizado estudios para evaluar insecticidas de diferentes grupos toxicológicos, para determinar los mejores productos de control. Rodríguez en 1995, realizó pruebas de susceptibilidad de insecticidas en adultos, donde encontró que los insecticidas más eficientes en ese año fueron; permetrina, deltametrina y paratión metílico. Posteriormente Domínguez (1995), trabajó con mezclas de insecticidas para ver efectos de potenciación, mientras Jiménez, (1996) menciona que en campo la mezcla con mejor resultado fue azinfos metílico + permetrina. Por otro lado se han realizado estudios toxicológicos en larvas de picudos del manzano, al respecto Lezcano (2000) menciona que se tiene que utilizar altas dosis de tóxicos similares a las usadas para combatir adultos.

Control biológico natural.

En la Sierra de Arteaga se presentan parasitoides sobre los picudos de las yemas del manzano; así Perales (1992) menciona una especie no identificada de la familia Pteromalidae emergiendo de adultos. Además reportó el parasitismo en los meses de marzo-junio es menor al 10 por ciento y éste se incrementa en la segunda quincena de julio hasta octubre con 39.9 por ciento de parasitismo.

Otros estudios reportan tres parasitoides para los picudos de la yema del manzano, que emergen de adultos; citando que son del orden Hymenoptera dos especies que corresponden a la familia Pteromalidae y Braconidae, y uno del orden Diptera de la familia Tachinidae (Quechulpa y Sánchez, 1997). Con respecto a los parasitoides presentes González *et al.*, (1998) reportaron la presencia de dos parasitoides mas sobre los picudos del manzano registrando la mayor densidad poblacional un díptero de la familia Tachinidae y un segundo de la familia Scelionidae. Lezcano (2000), con los estudios realizados menciona al tachinido como al parasitoide más importante sobre los picudos, manifestando encontrar hasta un 92.8 por ciento de parasitismo. Velázquez (2002), menciona que el tachinido encontrado en los diferentes cañones de la Sierra de Arteaga, pertenece al género *Oestrophasia*, sin determinar aun la especie.

Control microbial.

Quechulpa y Sánchez (1997) mencionan de la presencia en forma natural de picudos micozados por cuatro especies de hongos entomopatógenos que son *Beauveria bassiana* (Vuill), *Fusarium coccophilum*, *Metarhizium anisopliae* (Sor.) y *Paecilomyces farinosus* (Brow y Smith), presentes en la Sierra de Arteaga. Así mismo González *et al.* (1998) ratifica la presencia de *B. bassiana* y *Metarhizium* sp., al igual que Ramírez (1998).

Por su parte, Ávila (1998) menciona que el hongo entomopatógeno con más incidencia y con mayor importancia en la regulación de los picudos de la yema del manzano es *B. bassiana*. Aunado a lo anterior Quechulpa (1998) cita la presencia de tres especies de hongos entomopatógenos, que afectan a los picudos que son: *B. bassiana*, *F. coccophilum* y *P. farinosus*, y en pruebas de patogenicidad obtuvo mejor actividad con *B. bassiana*, con una CL₅₀ de 2.4×10^6 conidias/ml y un CL₉₀ de 7.8×10^8 conidias/ml.

En pruebas de campo García *et al.* (1998) mencionan que la actividad de cepas nativas de *B. bassiana*, tanto en laboratorio como en campo es mejor que las cepas comerciales. Por otro lado Castelán (1999) en pruebas de cepas comerciales de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. farinosus* sobre picudos, se menciona que la cepa de *B. bassiana* fue la más eficiente con un CL₅₀ de 5.9×10^8 conidias/ml y un CL₉₅ de 1.08×10^4 conidias/ml.

El interés por los hongos nativos, ha crecido bastante por su buena actividad patogénica. García (1999) evaluó la actividad insecticida de cepas

nativas de *B. bassiana* en dos formulaciones, en polvo y líquida, tanto en laboratorio como en campo, con cepas nativas., donde se observó que en campo las cepas más patogénicas fueron la B2 y ARSEF-2485 de *B. bassiana* con 46 y 48 por ciento de control respectivamente.

Características Generales de *Beauveria bassiana* (Vuill.).

Dentro de los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, fue de los primeros en ser descritos desde 1935, denominándosele “muscardina blanca” afectando los gusanos de seda. Desde entonces es uno de los agentes de control microbiológico de insectos más importantes. Bálsamo, en honor de Agostino Bassi de Lodi nombra a el hongo *Botyitis bassiana*, pero en 1912 Vuillemin, crea el género *Beauveria* y *bassiana* como especie tipo. En 1972 Hoog, menciona a dos especies, *B. bassiana* y *B. brongniartii* (=Tenella) que afectan a diferentes grupos de insectos (Rosas, 2002). Las conidias de *B. bassiana* son, hialinas, de forma globosa a oval, los conidióforos solos o agrupados en masas irregulares. Las conidias de *B. brongniartii* son elípticas (Fargues *et al.*, 1974). La temperatura para su desarrollo es de 23-25 °C.

Ubicación taxonómica de *Beauveria bassiana* (Vuill.).

La clasificación de la muscardina blanca de acuerdo a Alexopoulos y Mims (1979), McCoy *et al.* (1988) y Samson (1988) es la siguiente.

ReinoMycetae

DivisiónAmastigomicotina

Subdivisión ..Deuteromycotina

ClaseDeuteromycetes

SubclaseHyphomycetes

OrdenMoniliales

FamiliaMoniliaceae

Género*Beauveria*

Especie*bassiana*

Características morfológicas.

B. bassiana es un hongo imperfecto (Figura 2.2), con hifas septadas y estructuras reproductivas llamadas conidióforos, donde se encuentran las conidias (Tanada y Kaya, 1993), el micelio ramifica para formar los conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de racimos, con la base globosa en forma de botella y en un adelgazamiento en el área de inserción de las conidias las que miden de 2 a 3 μ , con esterigmas curvados irregulares o dispuestos en zig-zag de color blanco cremoso (Rosas, 1994; DGSV, 1999).

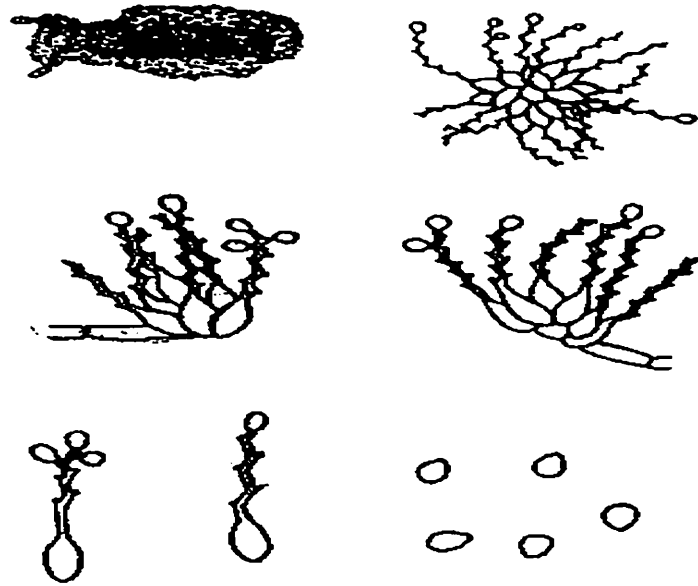


Figura 2.2.- Características morfológicas de *Beauveria bassiana* (Vuill.), tomada de Barnett y Hunter (1998).

Modo de acción y etapas de infección.

A diferencia de bacterias y virus, los hongos pueden infectar a los insectos por varias vías, como son; por ingestión, contacto (espiráculos y penetración directa), infectando a un número mayor de especies de insectos sin importar su hábito alimenticio (DGSV, 1999). La spora del hongo al estar en contacto con el cuerpo del insecto, emite un tubo germinativo, que penetra e invade los órganos. Al desarrollarse el hongo libera toxinas contra el insecto. El insecto muere por deficiencia de nutrientes, daño físico por invasión y liberación de las toxinas y en varios días el micelio del hongo brota a través de las

articulaciones, cubriéndolo con un aspecto blanco-algodonoso (Hernández y Berlanga, 1996; Basisav, 1997).

El desarrollo de la infección de los hongos entomopatógenos y en específico para Deuteromycetes, se divide en los siguientes etapas: I) Adición de la conidia al tegumento del insecto, II) Inicio de la germinación de las conidias sobre la cutícula. III) Comienza la penetración a través de la cutícula del insecto, IV) Invasión y multiplicación del hongo en la hemócele, V) Producción y liberación de toxinas, VI) Muerte del insecto, VII) Colonización total del hongo en el insecto, VIII) El micelio sale a través del cuerpo del insecto, pasando a través del tegumento, IX) Esporulación, X) Diseminación. Cada uno de los pasos dentro del ciclo se muestra en la (Figura 2.3). Con esto se puede afirmar que las tres primeras etapas, adhesión, germinación y penetración, son primordiales en el proceso patogénico influyendo sobre la especificidad entre patógeno-hospedante (De la Rosa y López, 1998; Hernández y Berlanga 1997 y Casamayor, 1998).

Los entomopatógenos pueden sobrevivir en condiciones ambientales adversas y en la ausencia de un insecto hospedero producen esporas de resistencia u otras estructuras como; micelio de reposo en insectos momificados. La mayoría de los Entomophthorales producen esporas de resistencia esféricas con pared gruesa en estado sexual de estos hongos. En condiciones adecuadas, las esporas continúan el proceso de micosis sobre el hospedero. Los Ascomycetes y Deuteromycetes producen masas de tejido duro

llamados esclerocios o estromas, e hifas modificadas llamadas clamidosporas como en *Metarhizium* y *Beauveria* (Alatorre, 1999).

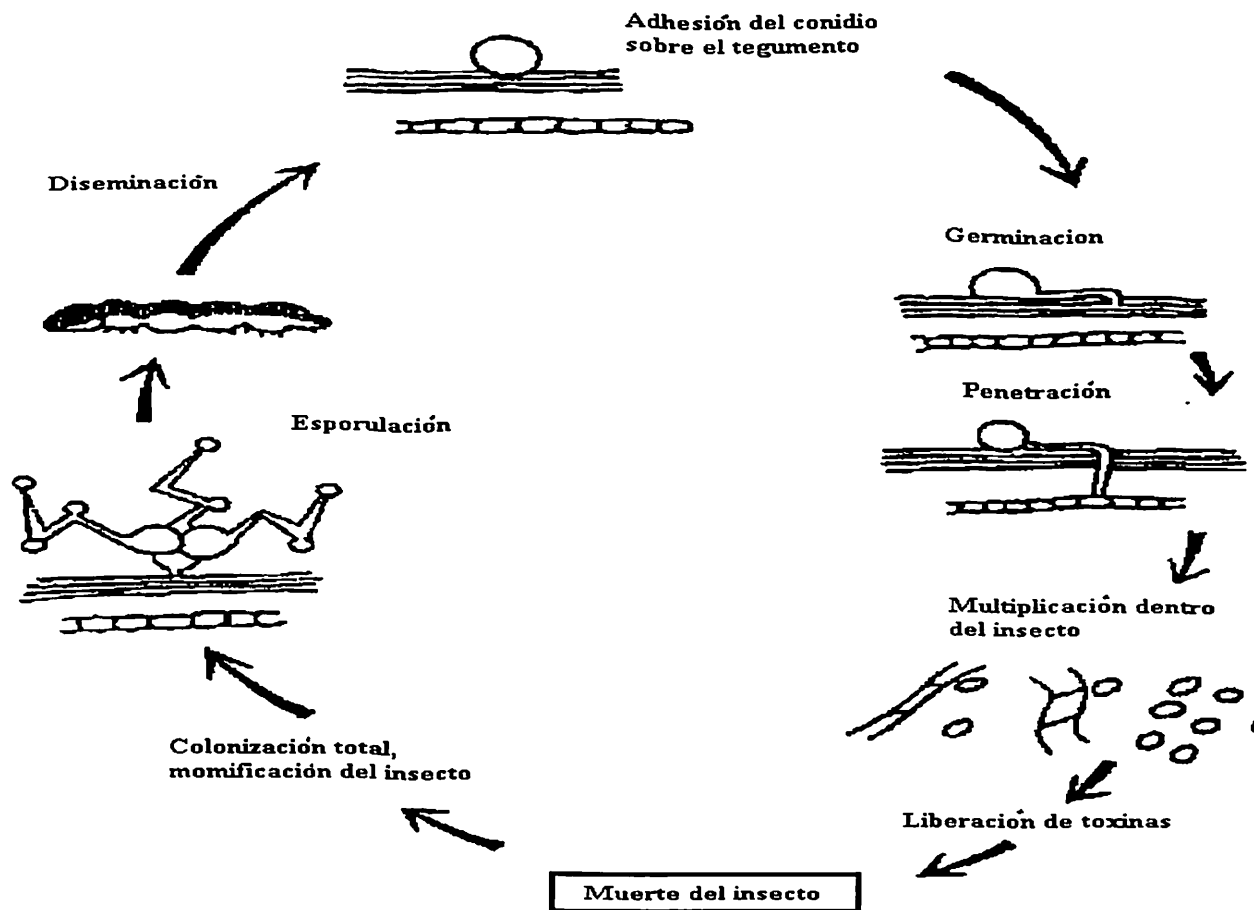


Figura 2.3.- Ciclo de infección de *Beauveria bassiana* (Vuill.), Casamayor, (1998).

Aspectos Generales para los Entomopatógenos

Medios de crecimiento.

Estos hongos se desarrollan fácilmente en medios de cultivo como; Papa Dextrosa Agar (PDA), Caldo Dextrosa Sabouraud (CDS). Los Deuteromycetes son los menos exigentes nutricionalmente; ya que la adición de glucosa y nitrógeno inorgánico son suficientes para su desarrollo. Los Oomycetos y Entomophthorales necesitan nitrógeno orgánico y a menudo vitaminas y oligominerales, seleccionando los medios de acuerdo a su disponibilidad, precio y calidad fungal obtenida. *B. bassiana* se produce en medios sólidos como PDA y CDS, arroz, trigo y medios líquidos ricos en carbono y nitrógeno. Para la producción a escala semi-comercial, los medios son mixtos, líquidos y un sustrato de arroz, (De la Rosa y López, 1998).

Determinación de eficiencia de los entomopatógenos en campo.

Para el control de insectos plaga de coleópteros, existen prácticas usuales con la aplicación de hongos entomopatógenos, dentro de los más conocidos está *B. bassiana*. Hoy en día el hongo más explotado en todo el mundo, incluyendo México, con eficiencias de control que varía de 5 a casi 100 por ciento (García *et al.*, 1997). Los hongos entomopatógenos frecuentemente se reportan como efectivos en laboratorio y poco efectivos en campo (Milner,

2001). Esto se debe a la gran cantidad de factores que se presentan en campo y afectan la efectividad del hongo, siendo estos difíciles de controlar y diferentes a los de laboratorio. Entre los que se tienen:

Especificidad y virulencia.- Los hongos son muy específicos aunque puede haber algunos más generalistas, donde incluso infectan a diferentes estadios de los insectos, de acuerdo a su ciclo biológico. Dentro de las cuales tenemos especies que han sido clasificados como generalistas (*B. bassiana*, *M. anisopliae*) y específicos (*Aschersonia aleyrodis*, *Hirsutella thompsonii*, *Entomophthora* sp.). En los generalistas se ha observado que existen diferencias patogénicas y comúnmente se encuentran patotipos que presentan una morfología similar, pero con diferente rango de hospedero. Esta diferencia en los patotipos causa que en diversas especies de insectos maten hasta el 100 por ciento de hospederos y no presenten actividad patogénica en otra especies (Alatorre, 2000). Lo anterior hace necesario seleccionar la especie y aislado con más virulencia hacia el insecto plaga a controlar (McCoy, 1990).

Producción masiva y formulaciones.- Se deben considerar los efectos de la producción masiva y formulación para mantener al virulencia de los hongos. Algunos son muy exigentes a lo que nutrientes se refiere. En los repetidos sub-cultivos en laboratorio se pierde la patogenicidad, viabilidad, crecimiento, esporulación y la penetración en insectos. Por lo que se debe cuidar que durante la producción masiva y formulación no se pierda la virulencia

de las cepas manipuladas. Lo conveniente es agregar a las formulaciones ingredientes que mejoren su eficiencia en campo: a través de una mayor protección a los rayos ultravioleta, a la deshidratación y al arrastre del viento, etc. (McCoy, 1990).

La dosis que se aplica del patógeno, la humedad, la temperatura, el nivel de radiación ultravioleta, el comportamiento de la plaga, infección secundaria al alimentarse de follaje tratado, densidad de cubierta vegetal, etc., son factores que interactúan en la actividad óptima y frecuentemente limitan la eficiencia de los mico-insecticidas. Si las condiciones en campo son extremas, con temperaturas menores a 15 °C y mayores de 35 °C, aún dosis adecuadas por ejemp. en caso de *M. anisopliae* var. *acridium*, muestran resultados pobres o necesitan más tiempo para dar un buen control (Milner, 2001). En China se producen alrededor de 10 mil ton/año, de una formulación en polvo de *B. bassiana* para proteger 1.3 millones de ha de varios cultivos, utilizando dosis de 125 gr/ha con concentraciones de 1.2×10^{11} conidias/g con resultados de 72-90 por ciento de mortalidad. En los Estados Unidos recomiendan dosis de 5.4×10^{11} conidias/ha contra la catarinita de la papa, en las primeras oviposturas, esto incrementa la producción hasta 24 veces en comparación al testigo (Feng et al., 1994).

Contra la mosquita blanca, *Bemisia tabaci*, en Holanda y la Ex Unión Soviética se aplica el mico-insecticida a base de *A. aleyrodis* a dosis de 2×10^8 conidias/planta, aplicando por ultra bajo volumen, obteniendo un 75 por ciento

de mortalidad en ninfas. Y recomiendan aplicaciones al follaje a dosis de 1×10^{11} hasta 1×10^{14} conidias/ha. (Ferron, 1981).

Factores que determinan la eficiencia de los hongos entomopatógenos.

Los factores ambientales como luz, temperatura y humedad influyen en la viabilidad y eficiencia de varias especies de entomopatógenos; bacterias, protozoarios, virus y hongos. La luz solo es uno de los más destructivos del medio ambiente en el establecimiento de un entomopatógeno. En la mayoría de los agroecosistemas prevalecen temperaturas entre 10-40°C, no afectándolos tan adversamente; sin embargo, cuando estos son muy extremas, pueden afectar los entomopatógenos cuando interactúan otros factores. Así la falta de humedad reduce virulencia, además de que es uno de los factores más importantes para su germinación (Ignoffo, 1992).

Las aplicaciones de hongos entomopatógenos al suelo, es regulada por factores del tipo físico-químico, textura, humedad, aireación, temperatura, pH, insecto blanco, hospederos alternantes y así como de la aplicación de químicos (Storey y McCoy, 1992; Berlanga, 2001). Por lo que Fargues *et al.* en 1992 mencionan que las temperaturas que requieren diferentes aislados son: *M. anisopliae* entre 25-28°C y *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *P. fumosoroseus* y *N. rileyi* de 25°C, señalando que se deben seleccionar aislados que se adapten al lugar donde se van a aplicar.

Ventajas de los entomopatógenos.

Dentro del control microbial, en particular los hongos entomopatógenos, ofrecen ventajas en el control de plagas; un costo bajo para su producción, bajo impacto ambiental sin efectos secundarios en animales acuáticos y de sangre caliente, más selectivos que los químicos, se pueden utilizar en áreas de producción orgánica y donde no se desee aplicar químicos como; parques y áreas protegidas. Para la eliminación de excedentes o producto no deseado, es relativamente fácil, sólo requiere exponer el producto un par de días al sol para inactivar las conidias, por lo que no hay problemas de residuos (Milner, 2001; Jenkins *et al.*, 2001).

Parámetros de calidad.

El control de la calidad para la producción es importante para estándares predeterminados de seguridad. La información del proceso de producción y formulación es crucial, así mismo es básico la identificación del patógeno, mantenimiento del aislamiento y reconocimiento de contaminantes. La estandarización puede ser definida como la adopción de formas más apropiadas para determinar la patogenicidad (virulencia) de las preparaciones. En lo referente a la estandarización de los hongos entomopatógenos, existen pocos problemas, ya que la unidad de referencia para determinar la virulencia es la conidia. Al respecto se señala que se deben llevar a cabo pruebas de

concentración de conidias, viabilidad y pureza, además de determinar el contenido de humedad y tamaño de partículas del formulado (Berlanga y Hernández, 2001).

El impacto de los entomopatógenos en el ambiente.

Varios estudios sobre efectos secundarios han indicado que existe riesgo en organismos acuáticos, con poco o ningún daño a artrópodos terrestres y no afecta a vertebrados. En general *B. bassiana* no causa efectos a insectos voladores, sin embargo, las abejas cortadoras de alfalfa son muy susceptibles a *B. bassiana*. La FAO (1992) recomienda el uso de mico-insecticidas como: *M. anisopliae* var. *acridium* IMI 330 180- Green Muscle o *M. anisopliae* var. *acridium* FI-985, para áreas sensibles de agricultura orgánica y áreas protegidas (Milner, 2001; Barrientos, 2002).

Formulaciones.

El uso de formulaciones para lograr mantener su óptima actividad biológica es un aspecto relativamente nuevo. La naturaleza de la formulación varía entre compañías; sin embargo, cuando se habla de agentes microbiales, estos presentan muchas variaciones, ya que requiere una formulación adecuada que proporcione protección contra la desecación y radiación (UV) durante y después de la aplicación. Esto se logra con la adición de adherentes-

dispersantes de tipo aceitoso o aquellas que facilitan que el ingrediente activo queda encapsulado. Pruebas realizadas con *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* contra mosquita blanca y chapulín, *Sphenarium purpurascens*, han involucrado en las aplicaciones agua con glicerina con aspersoras motorizadas de boquilla Tx8, que pulveriza la mezcla, esta formulación ha sido utilizada en condiciones de clima caliente húmedo, siendo efectiva a su vez para el control de las diferentes estados ninfales de *B. tabaci*. Por lo que en condiciones ambientales secas de altas temperaturas, se recomiendan formulaciones aceitosas, las que han demostrado ser más eficientes que las formulaciones acuosas (Alatorre, 2000; Bateman *et al.*, 1993).

El desarrollo de la formulación de un bioinsecticida microbial es semejante a un insecticida químico. Lo que ayuda para mejorar las propiedades de almacenamiento, manipulación, aplicación, eficiencia, persistencia y seguridad. Las formulaciones básicas de entomopatógenos comprenden; líquidos en suspensión acuosa o emulsionables, polvos humectables, polvos, cebos y granulados (Hernández, 2001). Las formulaciones actuales de los hongos entomopatógenos pueden mejorarse, mediante el uso de coadyuvantes, surfactantes, aceites, emulsificantes, etc., para facilitar su aplicación de partículas con protectores hacia luz ultravioleta, que ayuden a mejora la eficiencia de los entomopatógenos (Barrientos, 2002).

Los entomopatógenos a diferencia de los químicos producen micelio, conidias, blastosporas, zoosporas o esporangios, que son propágulos vivos. Por

lo que la formulación y selección de ingredientes son importantes para su estabilidad, eficiencia y maximizar la unidad infectiva en el insecto blanco después de aplicar (McCoy *et al.*, 1988). Por lo que un bioinsecticida debe ser un producto formulado y estable para que bajo condiciones normales de almacén no afecte sus propiedades insecticidas (Hernández, 2001).

EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *BEAUVERIA BASSIANA*¹ (Vuill.) SOBRE *AMPHIDEES* SPP.² DE ARTEAGA, COAHUILA.

R. P. OLAYO³, G. GALLEGOS³, E. GUERRERO³, V. M. SÁNCHEZ³, Y.
GRANT⁴, H. QUIROZ⁴

Palabras clave: Entomopatógeno, bioinsecticida, picudo de la yema del manzano.

RESUMEN

En México en el estado de Coahuila el cultivo del manzano en la Sierra de Arteaga, se ve afectado por el complejo de picudos de la yema del manzano, plaga nueva de difícil combate por medios convencionales. Se recurrió al estudio de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (*Bb*) detectadas en estos adultos, como alternativa de control. De 21 cepas de *Bb* aisladas de adultos de *Amphidees* spp., cuatro fueron las que mejor respuesta manifestaron, denominándoseles con las claves: SAA-1, HCA-2, SAN-3 y SAA₂-4. Las cepas con mayor patogenicidad, fueron la cepa SAA-1, a 7- 13 días después de la aplicación, con porcentajes de mortalidad en adultos de 77-99 y para la cepa HCA-2 con 68-97 % respectivamente. La cepa HCA-2 muestra la mejor CL₅₀ con 1.6×10^6 conidias/ml alcanzando a los 13 días un 97.4 % de mortalidad. El aislamiento SAA-1 mostró una CL₉₅ de 5.2×10^{10} conidias/ml mientras que a los 13 días presenta un 99 % de mortalidad.

¹Moliniales: Moliniaceae

²Coleoptera: Curculionidae

³Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. C. P. 25315, Buenavista Saltillo, Coahuila, México.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. A. postal 391 6650, San Nicolás de los Garza Nuevo León, México.

ABSTRACT

In the state of Coahuila, Mexico, apples are grown in the mountains of Arteaga, which are affected by the complex of apple core weevils. This is a new pest difficult to control by conventional means, for this reason the study of the native strains of *Beauveria bassiana* (*Bb*) found on the adults weevils was begun as an alternative method of control. Of the 21 *Bb* strains isolated from *Amphidees* spp., four gave better results. These were given key names: SAA-1, HCA-2, SAN-3 and SAA₂-4. The strains with higher pathogenicity were SAA-1 and HCA-2 at 7 and 13 days after the application, giving 77-99% and 68-97% mortality respectively, in adult *Amphidees* spp. The *Bb* strain HCA showed the highest CL₅₀ with 1.6×10^6 conidium/ml and at 13 days mortality reached 97.4%. The isolate *Bb* SAA showed the highest pathological activity, with a CL₉₅ of 5.2×10^{10} conidium/ml, giving 99% mortality at 13 days.

Key words: Entomopathogens, bioinsecticide, bud apple weevil.

INTRODUCCIÓN

En México el manzano tiene aceptación para la industria y consumo en fresco, en Coahuila se tiene una superficie sembrada de 8,282 ha de este frutal en la Sierra de Arteaga, situándose en el octavo lugar nacional con un promedio de 9 ton/ha (INEGI, 2001). En esta región en los últimos años una nueva plaga constituida por un complejo de picudos de la yema del manzano que son *Amphidees latifrons*, *A. macer* y *A. sp.*, se han convertido en un fuerte problema para la región de Arteaga, Coahuila (Lezcano, 2000).

La Sierra de Arteaga, es el único lugar donde se tienen problemas con este complejo de picudos; los que se encuentran ampliamente distribuidos en las huertas de manzano, ocasionando daños consistentes en mordeduras a hojas en forma de "U" de primavera a otoño, pero de noviembre a febrero, en ausencia de hojas atacan yemas vegetativas y florales, causándole anillamientos y muerte, afectando en ocasiones hasta un 70% de las yemas (Sánchez *et al.*, 1992). Actualmente para el combate de este insecto los productores se han visto en la necesidad de utilizar altas dosis y mezclas de insecticidas sin lograr un control adecuado, teniendo con esto muchas desventajas, como son; incremento de resistencia, efecto directo sobre la fauna benéfica de la región y contaminación e incremento de costos, (Lezcano, 2000).

Por otro lado se han hecho estudios para determinar el impacto del control biológico natural como parte del manejo integrado de plagas, que es una buena alternativa, ya que cuando se tiene éxito, es más barato, no contamina y no causa disturbios ecológicos. Dentro de esta estrategia se proyecta el estudio de varios enemigos naturales primordialmente parasitoides como *Oestrophasia* sp. Tachinidae (Velázquez *et al.*, 2002) y con los entomopatógenos naturales *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp. presentes en la Sierra de Arteaga, (Lezcano, 2000; Sánchez, 2000; Sánchez *et al.*, 2001).

El hongo que se presentan con mayor frecuencia en *Amphidees* spp. es *Beauveria bassiana* (Vuill.) tal como lo cita (Castelán, 1999; García, 1999). El uso de hongos para lograr una reducción de la población de la plaga y el empleo de cepas nativas son estrategias frecuentes del control biológico, al

respecto los resultados de los estudios citados indican que no se han logrado los resultados deseados pudiendo deberse a la selección de cepas, formulaciones y/o concentraciones evaluadas. Por lo anterior se planteó evaluar diversas cepas nativas de *Bb* de la Sierra de Arteaga para el combate del complejo de picudos de la yema del manzano.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento e identificación de cepas de *Bb*

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. El material biológico, tanto de *Bb* como adultos de *Amphidees* spp. se colectaron en huertos de manzano de la Sierra de Arteaga, Coahuila.

Para el aislamiento de cepas nativas, se colectaron adultos de picudos con crecimiento superficial algodonoso (micosis superficial visible) en diferentes huertas de manzano de la Sierra de Arteaga como se observa en la Fig. 1, durante los meses de marzo a octubre del 2001, las que se llevaron al laboratorio, donde se aislaron y purificaron en placas de Papa Dextrosa Agar (PDA). La identificación de *Bb* se realizó de acuerdo a las características morfológicas de crecimiento, formación de conidióforos en forma de botella y conidias características de esta especie Fig. 2, de acuerdo a las claves de (Barnett y Hunter, 1998).

De acuerdo al lugar de colecta las cepas aisladas se les denominó como; SAA (San Antonio de las Alazanas), HCA (Huerta el Conejo de las Alazanas), SAN (Sierra de Arteaga, Narro), SAA₂ (San Antonio de las Alazanas huerta 2).

Producción de conidios de *Bb*

La propagación de los aislados obtenidos de *Bb* de picudos micozados, se realizó bajo el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas, (Tafoya *et al.*, 1999).

a) Producción de micelio en Caldo Dextrosa Sabouraud (CDS) (Fase 1).

Para ello un explante de cada cepa de *Bb* cultivada inicialmente en PDA fue tomada y colocada como semilla (inóculo) en un matraz de 500 ml conteniendo 200 ml de CDS, el cual se propagó en agitación rotatoria a 150 rpm durante 5 días a temperatura de laboratorio (25 ± 3 °C). Posteriormente el micelio se diluyó con 200 ml de extracto de malta usando (6 g en 1000 ml de agua destilada) más 2 g de tetraciclina (Deltamicin^{MR}), previamente esterilizado. El crecimiento de *Bb* así diluido se usó para inocular la segunda fase de producción de conidios.

b) Producción de conidios de *Bb* en arroz como sustrato sólido (Fase 2).

El medio sólido de arroz se desinfectó con hipoclorito de sodio al 94 % agregando 100ml/1000ml de agua por 30 min, se percoló y lavó con agua corriente para quitar el exceso de cloro, se pesó en cantidades de 250 g, depositando el arroz en bolsas de polipapel para esterilizarlo por 20 min a 15 libras de presión, dejándolo reposar por 5 h. Una vez listo el inóculo (Fase 1), y el medio sólido (Fase 2), se realizó la inoculación del medio sólido de

crecimiento de arroz, depositando a cada bolsa 20 ml de inóculo de CDS incubándolas a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ por 15 días, oxigenando las bolsas con movimiento cada tres días. De aquí se obtuvieron las concentraciones de conidias para los bioensayos correspondientes. De la obtención de conidias de cada una de las cepas propagadas en arroz, se realizó una prueba de viabilidad (Hernández, 2001).

Evaluación de cepas en laboratorio sobre el picudo del manzano

Se utilizó como insecto blanco, picudos del complejo de la yema del manzano colectados con bandas de cartón corrugado de 15 cm de ancho, colocados en el tronco de los árboles de manzano a 30 cm del suelo, los adultos se llevaron al laboratorio y se mantuvieron por 13 días durante los bioensayos con yemas de manzano frescas.

Para la evaluación de las cepas nativas de *Bb* en adultos de *Amphidees* spp., se trabajó con 5 concentraciones de cada una (10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} y 10^{11} conidias/ml, y un testigo con agua estéril). Teniendo un total de 60 individuos observados por concentración / cepa, se colocó 10 adultos por caja petri. Para realizar este ensayo se prepararon soluciones de 50 ml para cada una de las concentraciones, en las que fueron sumergidos los adultos con ayuda de una tela de tul por 3 seg, los que se colocaron en cajas petri con papel filtro húmedo para mantener una humedad adecuada. Las observaciones de mortalidad se realizaron cada 3 días, por un período de 20 días, tomando como criterio de muerte los picudos sin movimiento y micozados. Es de señalar que en cada caja petri se incluyeron yemas como alimento de los picudos.

‡En el análisis de los datos obtenidos se realizó la corrección del porcentaje de mortalidad cuando en el testigo se presentaron individuos muertos acorde a la fórmula de Abbott, (1925), con estos datos corregidos se estimó la CL_{50} y CL_{95} , con el programa estadístico Polo PC (LeOra, 1987), además de obtener las líneas de respuesta concentración-mortalidad se graficaron en papel logaritmo Probit.‡

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cepas nativas

De 24 muestras de picudos colectados en campo con presencia de micosis blanca sobre el dorso del insecto, en la región de San Antonio de las Alazanas, Municipio de Arteaga, se obtuvieron 21 aislamientos con muscardina blanca típicos de *Beauveria* (cepas). Las que en atención a su crecimiento en placas de PDA y tomando en cuenta la cantidad aparente de esporas producidas, fueron seleccionados cuatro aislados, a estos se les asignó la clave: SAA-1, HCA-2, SAN-3 y SAA₂-4. Identificadas a especie cuatro cepas nativas que corresponden a la especie de *B. bassiana*, según las claves de Barnett y Hunter, (1998), Las características morfológicas de crecimiento en los aislados fueron micelio algodonoso superficial blanco en medio sólido y de color amarillo en el envés de la placa. La morfología microscópica fue de micelio septado con conidióforos que dan origen a esterigmas en forma de

roseta, este esterigma se encuentra en zig-zag y en cada vértice dan origen a conidios globosos típicos de la especie (Samsom, 1988).

Las conidias difieren en su crecimiento en el mismo medio PDA, mientras que en su tonalidad de color son similares. De igual manera se mantiene el crecimiento en líquido (CDS), dado que al esporular cambia la tonalidad del medio de un color claro, a uno blanco y finalmente un color rojo claro o rojo ladrillo. Lo que concuerda con lo citado por Tafoya *et al.*, (1999).

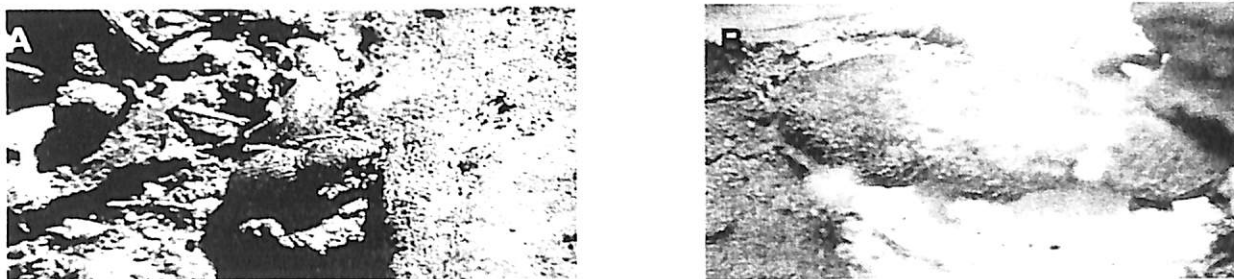


FIGURA 1.- Picudos de la yema del manzano *Amphidees* spp. micozados; A) En huertas de manzano, B) Con micosis avanzada.

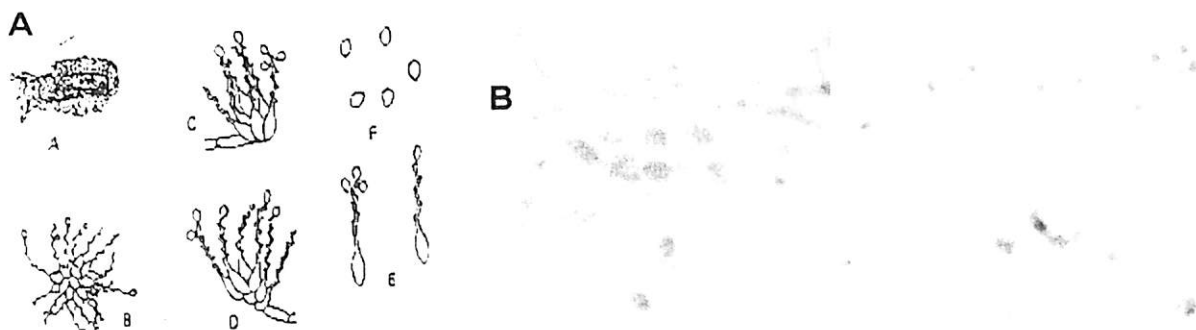


FIGURA 2.- Estructuras morfológicas de *Beauveria bassiana* (Vuill.); A) De acuerdo a Barnett y Hunter, (1998), B) De las cepas nativas. 2001.

Pruebas de actividad insecticida

La actividad bioinsecticida de las cuatro cepas nativas de *Bb* sobre *Amphidees* spp, se muestra en la Fig. 3, durante 20 días de observación a la concentración ajustada de 1×10^{11} conidias/ml del hongo. En esta figura se aprecia la mortalidad de adultos de *Amphidees* spp., con las cuatro cepas nativas de *Bb* la que es variable a los 4 días (10 –25 %de mortalidad). A los 7 días la patogenicidad se incrementa en las cepas, destacando la cepa SAA-1 con 70 – 77 % de mortalidad, seguida de la cepa HCA-2 con mortalidad entre 65-68 %. A los 10 días los aislados SAA-1 y HCA-2 se manifiestan como los de la mayor patogenicidad. A partir de los 13 días las cuatro cepas seleccionadas presentan mortalidades entre 95 – 100% estadísticamente semejantes. Con esta concentración 1×10^{11} en laboratorio se obtienen buenos resultados; sin embargo la DGSV (1999) utiliza concentraciones de 3×10^{13} para aplicaciones comerciales, por lo que las dosis del picudo del manzano empleadas en los bioensayos pudiesen ser aceptable comparativamente. No se discuten los resultados de la eficiencia de mortalidad después de 13 días ya que el testigo incrementa notablemente su mortalidad. Al respecto Jacobo y Ramírez, (1998), en una evaluación de *Bb* a una concentración de 1×10^{12} , obtuvo buenos resultados, contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). lo que corrobora Burgos *et al.*, (1998). En las cepas evaluadas donde se encontró diferencias entre concentraciones lo cual pudiese deberse al tamaño y la especie del insecto que se desea controlar.

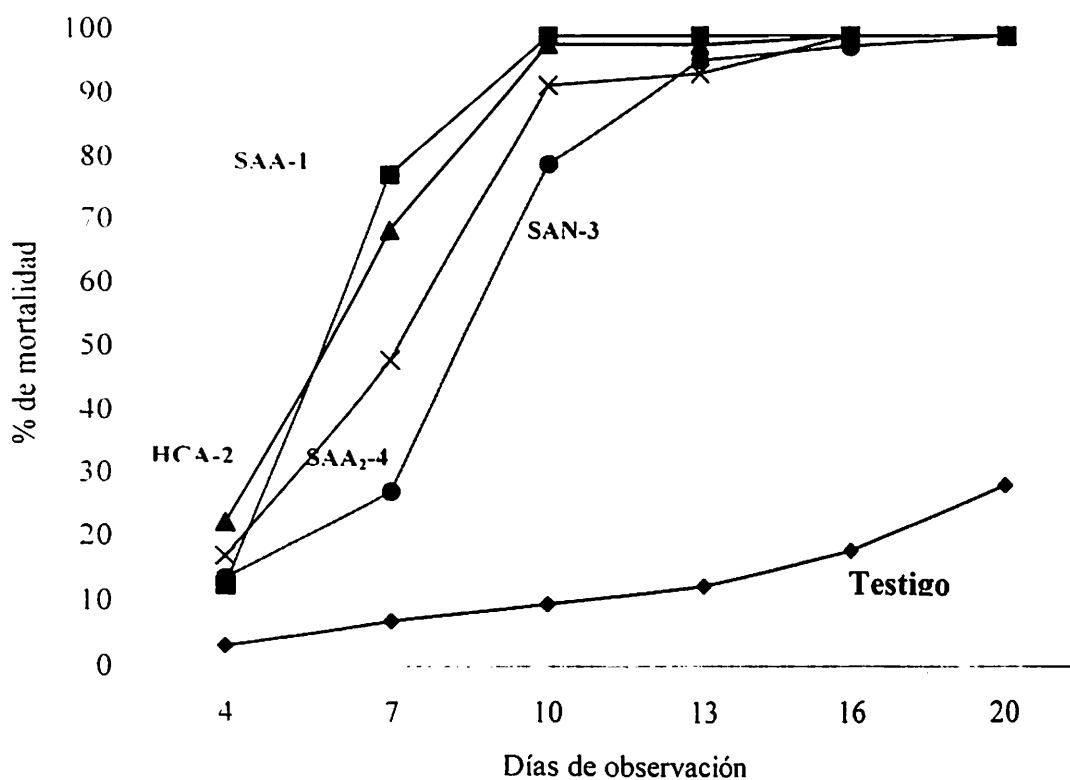


FIGURA 3. Mortalidad de *Amphidees* spp. infectados por inmersión en una solución de 1×10^{11} conidias/ml de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Vuill.). 2001.

El comportamiento de las cepas nativas de *Bb*, medido a través de su CL_{50} y CL_{95} % se muestran en la tabla 1, donde destaca la cepa HCA-2 con una CL_{50} del 1.6×10^6 conidias/ml, resultados que concuerdan con los obtenidos por otros autores (Quechulpa, 1998 y García, 1999). A nivel del CL_{95} la cepa SAA-1, fue la más eficiente en laboratorio para matar adultos de *Amphidees* spp. ya que sólo requiere 5.2×10^{10} conidias/ml. Estos datos son similares a los reportados por Castelán, (1999).

TABLA 1. Concentraciones letales y límites fiduciales de cepas de *Beauveria bassiana* (Vuill.), para el control de adultos de *Amphidees* spp. a 13 días de exposición. 2001.

Cepa	Conidias/ml				SE
	CL ₅₀	Límites Fiduciales (95%)		CL ₉₅	
		Inferior	Superior		
SAA-1	7.8×10^7	$(2.4 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8)$	5.2×10^{10}	0.0461
HCA-2	1.6×10^6	$(3.6 \times 10^3$	$1.8 \times 10^7)$	6.2×10^{11}	0.0362
SAN-3	1.7×10^7	$(8.9 \times 10^5$	$7.9 \times 10^7)$	1.0×10^{12}	0.0043
SAA ₂ -4	8.7×10^7	$(2.1 \times 10^7$	$2.1 \times 10^8)$	3.0×10^{11}	0.0045

En la Fig. 4, se muestran las líneas de respuesta concentración-mortalidad de picudos, las que presentaron una tendencia horizontal. Al respecto Alatorre, (1999), menciona que *Bb* es un organismo generalista que puede infectar diferentes ordenes de insectos y en las que se puede encontrar diferentes patotipos con morfología similar pero con diferentes rango de hospederos y diferencias de patogenicidad. Lo que se observó en el presente estudio, ya que existe variabilidad entre las cepas evaluadas de *Bb* sobre los picudos de *Amphidees* spp. Tal y como se observa en la Fig. 4, donde se aprecia que la cepa HCA-2 es la más eficiente al nivel del CL₅₀, pero la mejor en cuanto a CL₉₅ fue el aislado SAA-1 de *Bb*.

La CL₅₀ de la población y sus límites fiduciales Tabla 1, indican que se forman dos grupos de traslape dentro de estas cepas, un grupo para la SAA-1,

SAN-2 y SAA₂-4, que muestra que son iguales y el grupo dos lo forman las cepas HCA-2 y SAN-3.

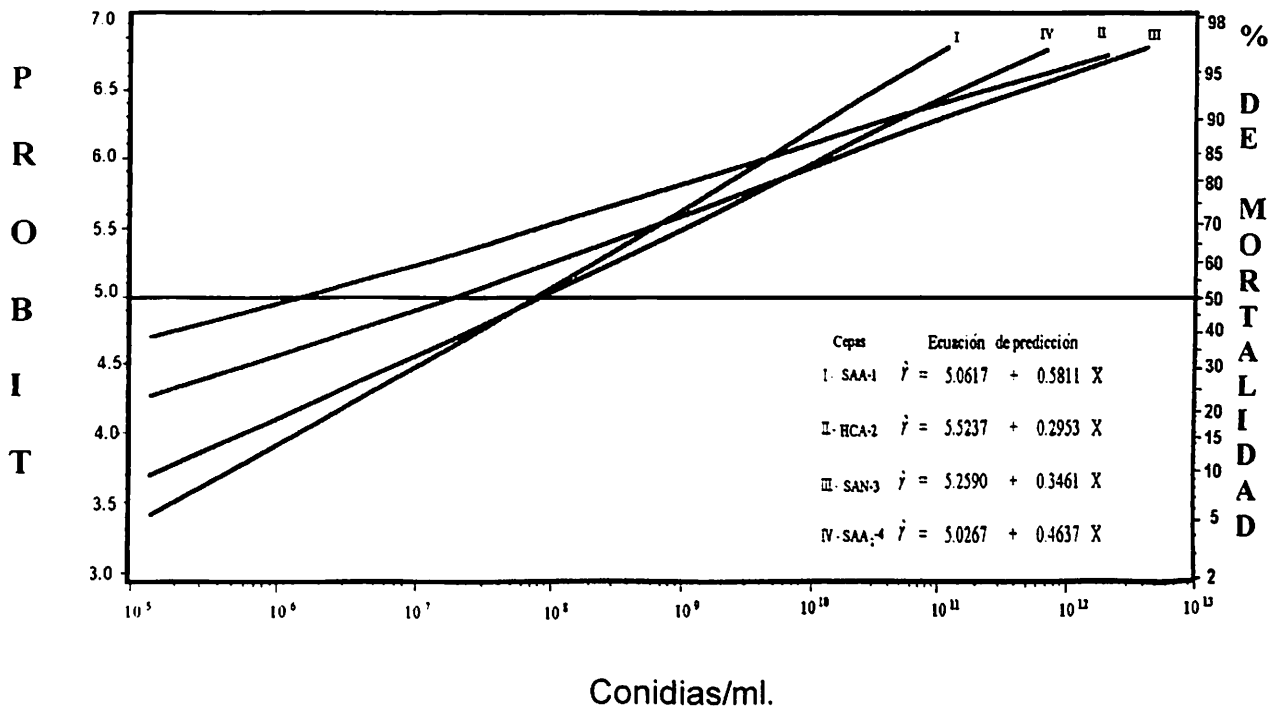


FIGURA 4.- Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción, de cepas de *Beauveria bassiana* (Vuill.) en adultos de *Amphidees* spp. a 13 días de exposición. 2001.

Los estimadores de confiabilidad de los datos obtenidos Tabla 2, nos indica con respecto a las cepas de *Bb* evaluadas, que los coeficientes de determinación oscilan entre 0.81 a 0.94, considerándose aceptables principalmente para la cepa SAN-3 con 0.94 % de confianza. En cuanto a Chi cuadrada los datos tienden a ser bajos, indicando que hay confiabilidad sobre la mortalidad observada y estimada. Por lo anterior y considerando los grados de libertad se expresa una alta probabilidad de ocurrencia del evento con un 0.999

% de seguridad en cuanto a la mortalidad de adultos de *Amphidees* spp. con las cepas nativas de *Bb*.

TABLA 2. Pruebas estadísticas de la susceptibilidad de adultos de *Amphidees* spp. a cepas de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a 13 días de exposición. 2001.

Cepas	r^2	X^2	GL	P
SAA-1	0.8312	0.0812	3	0.999
HCA-2	0.9254	0.0462	3	0.999
SAN-3	0.9482	0.0432	3	0.999
SAA ₂ -4	0.8190	0.0253	3	0.999

CONCLUSIONES

Se realizaron 21 aislamientos de cepas nativas de muscardina blanca de picudos micozados de *Amphidees* spp; de estas cuatro fueron seleccionadas e identificadas como *Beauveria bassiana*. Siendo las más eficientes la cepa SAA-1 y HCA-2, a los 13 días de exposición con una CL₉₅ con 5.2×10^{10} y 6.2×10^{11} respectivamente. De las concentraciones evaluadas durante el presente trabajo, la de mejor actividad creciente fue la de 1×10^{11} conidias/ml, en ambas cepas SAA-1 y HCA-2.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Alfonso Pámanes Guerrero, por su valiosa colaboración en la revisión, comentarios y traducción de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide J. Econ. Entomol. 18;265-267.
- Alatorre, R. R. 1999. Hongos entomopatógenos. Memorias del X Curso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Colegio de Postgraduados Montecillos, Edo., de México. Pp. 137-146.
- Barnett, G. J. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. MacMillan Publishing Company. USA. 218 pp.
- Burgos, C. W., Gonzáles, I. J. S., Hernández, V. I., Jiménez, Z. J. y Mánica R. Ma. L. 1998. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae), para el control de la broca del grano del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológica. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 247-248.
- Castelán, H. C. 1999. Efecto de entomopatógenos en laboratorio con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* contra el

- picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp), de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 46 p.
- DGSV, 1999. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico y Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha Técnica. CB-03.
- García, M. M. 1999. Actividad bioinsecticida de hongos entomopatógenos sobre el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp.) (Coleoptera: Curculionidae) de Arteaga. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila. México. 60 p.
- Hernández, V. V. M. 2001. Formulación y control de calidad de hongos entomopatógenos. Memorias de Entrenamiento en Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR. Tecoman, Colima, México. Pp. 21-26.
- INEGI, 2001. Anuario estadístico: Coahuila de Zaragoza. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Pp. 331-349.
- Jacobo, C. J. L. y Ramírez, L. M. R. 1998. Evaluación de hongos entomopatógenos, insecticidas vegetales y sintéticos para el control de *Brachyystola magna* Girard (Orthoptera: Acrididae) en chihuahua. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 291-293.
- LeOra, SOFTWARE. 1987. POLO-PC. *A user's manual for Probit or Logit analysis* LeOra Software, Berkeley, CA.

- Lezcano, B. J. A. 2000. Biología de *Amphidees latifrons* (Sharp) y susceptibilidad de larvas a insecticidas (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila. México. 111 p.
- Quechulpa, M. F. 1998. Actividad de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae), plaga del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 61 p.
- Samsom, R. A. 1988. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. Academic. Press. Cap 6. Pp. 194-222.
- Sánchez, P. S. R. 2000. Entomopathogens from two Chihuahuan desert localities in Mexico. *BioControl* 45:63-78.
- Sánchez, P. S. R., Quechulpa M. F. y García M. M. 2001. Natural enemies of the apple bud weevil (Coleoptera: Curculionidae), an apple pest in Coahuila, Mexico. *J. Entomol. Sci.* 36(2):211-213.
- Sánchez, V. V. M., Martínez V. R. A. y Sánchez P. F. de J. 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. Pp. 266-267.
- Tafoya, R. G., Gallegos M. G., Olayo P. R. P. y Cepeda S. M. 1999. Efecto de dos cofactores de crecimiento sobre el contenido de conidias producidas por *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., en un sistema tradicional sólido de producción bifásica. *Memorias. XXII Congreso Nacional de Control*

Biológico. Colegio de Postgraduados Montecillos, Edo., de México. Pp. 208 – 210.

Velázquez, D. N. J., Guerrero R. E., Sánchez V. V. M. y Aguirre U. L. A. 2002. Biología y comportamiento de *Oestrophasia* sp. parasitoide del picudo de la yema del manzano *Amphidees* spp. Entomología Mexicana. 1:289-291.

EVALUACION DE FORMULACIONES DE *Beauveria bassiana* (Vuill.) EN CAMPO SOBRE *Amphidees* spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN ARTEAGA, COAHUILA.

Olayo-Paredes R. P., Gallegos-Morales G. , Guerrero-Rodríguez E. , Sánchez-Valdez V. M., Sánchez-Pérez F. de J. y Cepeda-Siller M.

Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, C. P. 25315.

E-mail: ggalmor@narro.uaaan.mx (Tel.– Fax 01 (844) 4 - 11- 02 - 26).

Palabras clave: Bioinsecticida, Picudo de la yema del manzano, Cepas nativas.

RESUMEN

En Arteaga, Coahuila, México el cultivo del manzano se ve afectado por el complejo de picudos de la yema del manzano *Amphidees* spp., plaga de difícil combate por medios convencionales. Se estudió el empleo de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (*Bb*) como patógenos de adultos de este insecto. Se evaluaron las cepas nativas de *Bb* SAA-1 y HCA-2 en mezcla con citrolina, en polvo y en forma líquida a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml, en aplicaciones en dos huertas de manzano. La cepa SAA-1 de *Bb* con citrolina a una concentración de 1×10^{13} conidias/ml mostró un 32.7 % de eficiencia, seguido de la formulación en polvo a la misma concentración con 22.1 % de control de *Amphidees* spp. en la huerta "El Conejo". En la huerta Don Jesús los tratamientos con mejor eficiencia fueron con la misma cepa SAA-1 de *Bb* en formulación con citrolina pero en concentraciones 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml

con 58.1 y 57.9 % de control respectivamente, seguidas de la formulación líquida en la misma cepa en ambas concentraciones con 44.9 y 33.9 % de eficiencia respectivamente, en 36 días de muestreos en las dos huertas. Las condiciones imperantes de manejo en cada una de las huertas afectan de forma particular la actividad de las formulaciones de *Bb* empleadas para controlar el insecto.

ABSTRACT

The use of several native strains of *Beauveria bassiana* (*Bb*) as pathogens of the adult bud apple weevils *Amphidees* spp. were studied. The native strains evaluated were: *Bb* SAA-1 and HCA-2 mixed with citroline, the same strains as a powder and as a liquid form at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidia/ml and applied in two apple orchards. The strain SAA-1 of *Bb* with citroline at a concentration of 1×10^{13} conidium/ml showed a 32.7 % of efficiency followed by the powder formulation at the same concentration with 22.1 % control of *Amphidees* spp. at the El Conejo orchard. At the orchard named Don Jesus, the treatments with the best control efficiency were the same strain SAA-1 of *Bb* formulated with citroline at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidia/ml which gave 58.1 and 57.9 % control respectively. The liquid formulation of the same strain at the same concentrations gave 44.9 and 33.9 % control efficiency respectively during 36 days of sampling in the two orchards. Management of

the two orchards affected the specific activity of the formulations of Bb used to control the insect.

Key words: Bioinsecticide, Bud apple weevil, Native Strains.

INTRODUCCIÓN

A nivel nacional en México el manzano *Pyrus malus* L. ocupa una superficie de 66, 738 ha de las que se tienen en producción 54,724 ha con un rendimiento de 333,833 ton. Coahuila ocupa el tercer lugar nacional con 8,282 ha y octavo en rendimiento con 9 ton/ha. La Sierra de Arteaga, se ubica en la porción suroeste de Coahuila, ocupando el 14% del área total de manzano en México (INEGI 2001), donde se tienen problemas fuertes con el complejo de adultos de picudos de la yema del manzano integrados por *Amphidees latifrons*, *Amphidees macer* y *Amphidees* sp. Esta plaga se distribuye ampliamente en la zona manzanera de la región, alimentándose de hojas causando mordeduras en forma de "u" de marzo a octubre sin causar daños económicos (Lezcano 2000) y de noviembre a febrero afectan las yemas vegetativas y florales causándoles la muerte, hasta en un 70 % (Sánchez *et al.* 1992). Durante los últimos cinco años los productores han recurrido al uso inmoderado de dosis de insecticidas y mezclas entre los mismos (Jiménez 1996), aun así se tiene un control adecuado del insecto, provocando, además de la contaminación, incremento de costos y daño a fauna benéfica de la región (Lezcano 2000).

Se han realizado estudios con diversos organismos para conocer el impacto del control biológico sobre el complejo de picudos de *Amphidees* spp., ya que es más barato, no daña la fauna benéfica, y no contamina, Velázquez *et al.* (2002) reportan los parasitoides *Oestrophia* sp. (Tachinidae), mientras que los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* y con mayor frecuencia *Beauveria bassiana* son descritos por Sánchez *et al.* (2001).

Existe interés por emplear hongos entomopatógenos como agentes de control biológico; sin embargo se menciona que estos deben ser formulados para mantenerlos en forma viable y activa para sobrevivir a condiciones desfavorables del medio ambiente (Rosas *et al.* 2001). Al respecto Hernández y Lezama (2000), mencionan que en México se han evaluado formulados de *M. anisopliae* en citrolina y otros aceites vegetales y minerales obteniéndose en laboratorio una buena mortalidad en insectos. Estos formulados presentan muchas variaciones (Sawicka *et al.* 1983), ya que no se cuenta con una formulación tipo que proteja a las conidias contra la desecación, radiación, acarreo, etc., antes y después de la aplicación (Alatorre 2000). Este estudio plantea evaluar en campo dos cepas nativas de *B. bassiana* formuladas en citrolina, polvo y en suspensión acuosa, para el combate del complejo de *Amphidees* spp. en dos huertas de la Sierra de Arteaga, Coahuila, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y las huertas El Conejo y Don Jesús de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México ubicados al suroeste y enclavado en el macizo montañoso que forma parte de la Sierra Madre Oriental, en las coordenadas 101° 50' 24" longitud oeste y 25° 25' 58" latitud norte con alturas de 1700 a 3700 msnm.

Se trabajó con dos cepas nativas de *Bb*, que son SAA-1 y HCA-2, identificadas y evaluadas por Olayo *et al.* (2002), las que se propagaron bajo el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas descrito por Tafuya *et al.* (1999). De las conidias de cada una de las cepas incrementadas, se realizaron pruebas de viabilidad de acuerdo a lo citado por Hernández (2001).

El sistema de producción de conidias descrito por Tafuya *et al.* (1999) consistió en producir primeramente la fase micelial del hongo (Fase 1) y posteriormente los conidias en medio de arroz y como sustrato y soporte (Fase 2).

Fase 1.- Producción de micelio en Caldo Dextrosa Sabouraud (CDS). Por cada cepa de *Bb* se utilizó un explante de PDA previamente cultivado, este se colocó como inóculo en matraces de 500 ml, con 200 ml de CDS, colocándose en agitación a 150 rpm para su crecimiento por 5 días a una temperatura de 25 ± 3 °C. A los cinco días se le agregó 200 ml de extracto de malta previamente esterilizada (6 g en 1000 ml de agua) más 2 g de tetraciclina (Deltamicin^{MR})

añadida por filtración. El crecimiento de *Bb* diluido se utilizó para inocular la segunda fase de producción de conidios de este entomopatógeno.

Fase 2.- Producción de conidios *Bb* en arroz como sustrato sólido. El arroz se desinfectó con hipoclorito de sodio al 6 % agregando 100 ml de este en 1 L de agua por 30 min, este se percoló y lavó con agua corriente para quitar el exceso de cloro, depositándolo en bolsas de polipapel con 250 g de arroz desinfectado y esterilizándolo por 20 min a 15 libras de presión, dejándolo reposar por 5 h. Con el inóculo (Fase 1) en el medio sólido (Fase 2), se realizó la inoculación agregando 20 ml de inóculo a cada bolsa, para incubarlas a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ por 15 días en cámara bioclimática, oxigenando las bolsas con movimiento manual cada tres días. Se obtuvieron las conidias mediante el tallado de arroz en tamices de 60, 100 y 200 mallas, este último equivalente a 75μ , de las cepas SAA-1 y HCA-2 para preparar las concentraciones y formulados de los bioensayos de campo. Estas cepas fueron seleccionadas por presentar mayor rapidez de crecimiento en laboratorio (Olayo *et al.* 2002). Los conteos previos a los ajustes del número de conidias se efectuaron en la cámara de Neubauer, mientras que las prueba de viabilidad se efectuaron por crecimiento de conidias en PDA.

Con las conidias obtenidas se estimaron por dilución las concentraciones propuestas para ambas cepas a evaluar en campo, obteniendo primero la de mayor concentración 1×10^{13} conidias/ml y posteriormente la de 1×10^{12}

conidias/ml. Con las concentraciones, se procedió a preparar las diversas formulaciones con citrolina, líquida y polvo.

Formulaciones con citrolina.- A la formulación de conidias con citrolina se le realizó pruebas de viabilidad, la cual consistió en colocar esporas de *Bb* en citrolina por 5 días, estas se extrajeron y se sembraron en PDA para observar su germinación. Para lograr una eficiente mezcla en agua, a citrolina se le agregó los coadyuvantes Bionex^{MR} y Tween 20 en una proporción de (7:2:1) respectivamente en 100 ml del formulado, con lo que se obtuvo mejor emulsión en agua, agregando las conidias de *Bb* para cada dosis a las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml.

Formulación líquida.- Se utilizó el coadyuvante Bionex^{MR} mezclado con agua en una proporción de (1:9) para preparar 100 ml del formulado, con lo que se logró una buena emulsión en agua, a la que se agregó las conidias de *Bb* con las concentraciones adecuadas para obtener las dosis de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml para cada cepa.

Formulación en polvo.- Con respecto a esta formulación como inerte se utilizó talco comercial (Chava^{MR}) el cual se mezcló con conidias de *Bb* en una proporción de (9:1) para preparar dosis de 100 g del formulado además se le añadió 2 g de tetraciclina (Deltamicín^{MR}) para evitar contaminaciones posteriores de bacterias, que causaran la muerte de las esporas en las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml para cada cepa.

En todas las formulaciones se realizaron pruebas de viabilidad de conidias; además en las formulaciones con citrolina y suspensión acuosa se

realizaron pruebas para mantener la emulsión por más de 20 min en agua y lograr una buena suspensión de conidias en las aplicaciones en campo con bombas de aspersión manual.

Evaluación en campo. Previo a los bioensayos en campo se realizaron varios conteos de preaplicación de picudos del complejo de *Amphidees* spp., en trampas de cartón corrugado de 15 cm de ancho colocado en la base de los árboles de manzano a 30 cm del suelo. Para determinar el momento de aplicar los bioinsecticidas, además del número de insectos presentes en los árboles se consideró los factores ambientales que este entomopatógeno requiere para su mejor desarrollo que son, una temperatura de $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$ y un $80 \pm 10\%$ de HR (Alatorre 2000), por lo que se optó aplicarlos en los meses de junio-septiembre. Además se incluyó un testigo comercial de *Bb* (Beasin^{MR}) y un testigo absoluto (agua). Para ello se seleccionaron 90 árboles de manzano de la variedad Golden Delicious de patrón semienano de 12 años de edad. Para cada tratamiento las formulaciones de *Bb* SAA-1 y HCA-2 con citrolina, en polvo y líquida, se usaron a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml teniendo 5 repeticiones, tomando cada árbol de manzano como una repetición. Después de aplicar los productos se realizaron muestreos de post-aplicación a los 4, 7, 15, 22, 28 y 36 días, registrando en estos conteos el número de individuos vivos, para establecer la eficiencia de los productos.

* En el análisis de los datos obtenidos se utilizó la fórmula de Henderson y Tilton (CIBA-GEIBY 1981), para estimar el porcentaje de eficiencia de los datos observados en campo. Con estos porcentajes de eficiencia, se usó un modelo

estadístico de un arreglo factorial con dos factores, en un diseño de bloques al azar y prueba de medias de Diferencia Mínima Significativa (DMS) de un paquete de diseños experimentales para determinar los mejores tratamientos (Olivares 1994).

RESULTADOS

Se realizaron varios muestreos previos a la aplicación de los tratamientos sobre el complejo de picudos de la yema del manzano (Fig. 1). Como se observó en la fluctuación de la población presente en las bandas de cartón corrugado de las dos huertas de manzano muestreadas en los conteos al día 15 de junio, se encontró el mayor número de picudos en los testigos, los que mantuvieron constantes a través del estudio. Se observó por árbol, además de que las condiciones ambientales de humedad y temperatura favorecían el desarrollo de los entomopatógenos, por lo que ese día se realizó la aplicación de los formulados de *Bb* y el repelente orgánico, continuando con los muestreos de postaplicación en el testigo para seguir la fluctuación de adultos posterior a la aplicación. Lo anterior se tomó en cuenta atendiendo las recomendaciones que se han citado con respecto a aplicar hongos entomopatógenos en períodos donde se tengan temperaturas y humedad relativa que favorezcan su desarrollo (Alatorre 2000).

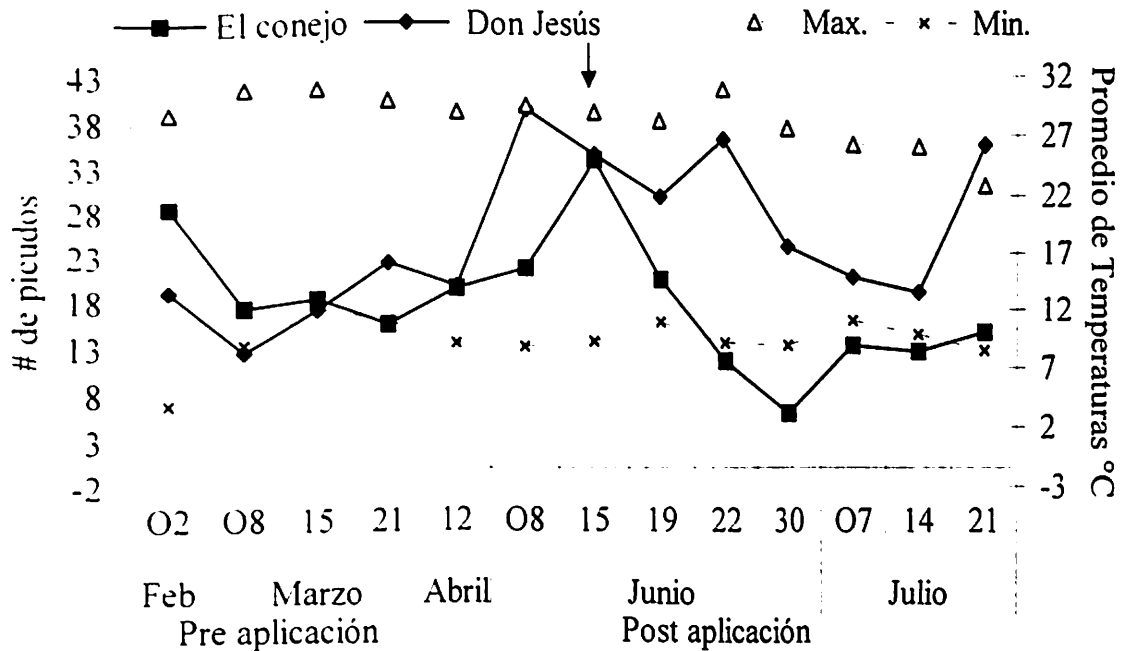


Figura 1.- Fluctuación de poblaciones de *Amphidees* spp. en relación a la aplicación de *Beauveria bassiana* (Vuill.) y temperaturas diarias durante los muestreos.

En el (Cuadro 1), se muestra el número promedio de adultos del complejo *Amphidees* spp. en los diferentes tratamientos, a partir del conteo de preaplicación, donde se observa una disminución de población en los días 4, 7 y 15 en todos los tratamientos, aunque en los testigo también se tiene una disminución de picudos en el día 7 y 15, del día 22 en adelante los testigos se mantienen constantes en cuanto al número de picudos. Se Observó que la cepa con menos población fue la SAA-1 y que la formulación más eficiente fue la de citrolina para ambas cepas ya que se encontró una disminución de adultos en comparación al resto de los tratamientos.

Cuadro 1.- Promedio de adultos de *Amphidees* spp. por tratamiento de formulaciones en citrolina, polvo y líquido de *Beauveria bassiana* (Vuill.) en La Huerta el Conejo en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	(1) *	Post aplicación (días)					
		4	7	15	22	29	36
Testigo	34.0	20.4	11.4	5.8	13.2	12.6	14.8
Bea-Sin	25.4	17.8	8.0	3.6	14.4	7.4	9.0
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	38.2	18.8	11.2	9.6	10.4	9.6	16.2
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	43.0	23.8	5.2	7.0	9.6	9.4	13.8
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	40.8	21.4	7.8	9.4	15.2	8.4	14.4
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	40.6	20.8	8.6	9.6	11.6	10.0	10.4
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	43.2	15.0	13.0	11.4	12.8	10.2	14.6
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	28.4	16.8	13.4	11.0	13.0	9.8	12.0
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	42.0	23.6	10.2	13.0	18.6	13.2	13.8
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	37.8	22.8	6.8	9.6	8.0	9.0	11.4
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	60.2	16.0	13.2	15.4	25.8	19.4	23.8
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	24.0	19.4	7.0	8.8	15.4	11.0	18.6
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	55.0	31.2	21.2	21.4	31.4	25.4	34.8
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	40.6	26.2	14.2	22.8	22.8	14.4	23.0

(1)* Muestreo de pre-aplicación y aplicación de tratamientos (15 de junio del 2002).

El por ciento de eficiencia de los formulados de *Bb* y del repelente orgánico, fueron transformados por la fórmula de Henderson y Tilton (Cuadro 2), para las diferentes fechas de post-aplicación de los tratamientos notando que en la huerta El Conejo se tienen por cientos negativos en dicho cuadro, lo que refleja un incremento de adultos, superior a los testigos en las diferentes fechas de postaplicación. Estos datos nos indican que la cepa SAA-1 muestra mayor patogenicidad que la cepa HCA-2, dado que esta última durante casi todas las fechas de muestreo presentó incremento de la población de picudos, muestra a su vez que la formulación de *Bb* con citrolina mostró los porcentos

de control superiores a los otros tratamientos, aunque también las formulaciones con polvo de la cepa SAA-1 muestran menor control de picudos, seguidas de las líquidas pero con menor porcentaje de control.

Cuadro 2.- Porcentaje de eficiencia de formulaciones con *Beauveria bassiana* (Vuill.) sobre adultos de *Amphidees* spp., en la huerta El Conejo en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Tratamientos **	Post- aplicación (días)*					
	4	7	15	22	29	36
Bea-Sin	-16.7979	6.0644	16.9156	46.0272	21.3848	18.5997
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	17.9756	12.5563	-47.319	29.8747	32.1865	2.5754
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	7.7519	63.9331	4.571	42.4947	41.0114	26.2728
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	13.01	42.98	-35.0575	4.0404	44.4444	18.9189
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	15.03	36.8248	-38.6105	26.4069	33.5366	41.153
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	42.1296	10.2502	-54.6935	23.6813	36.2875	22.3599
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	1.4085	-40.7215	-107.018	-17.9044	6.8858	2.9311
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	6.3492	27.5689	-81.445	-14.0693	15.1927	24.5174
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	-0.5291	46.3473	-48.8779	45.4866	35.7521	30.7164
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	55.92	34.7124	-49.9599	-10.3896	13.0412	9.1766
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	-34.06	13.0117	-114.9425	-65.2778	-23.6772	-78.0405
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	5.4545	-14.9601	-128.0878	-47.0523	-24.6176	-45.3563
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	-7.5534	-4.3125	-229.1999	-44.6485	4.2928	-30.1425

* Datos transformados por la fórmula de Henderson y Tilton (CIBA-GEIGY 1981).

** Aplicación (15 de junio del 2002).

Como se observa en el (Cuadro 3), el número promedio de adultos del complejo *Amphidees* spp. de los diferentes tratamientos en la aplicación a la huerta Don Jesús en las diferentes fechas, el testigo tuvo un mejor comportamiento que en la huerta El Conejo al no haber diferencia durante los

36 días de estudio. En cuanto al número de individuos se tiene que en el Bea-Sin^{MR} se observa que es menor; aunque se debe notar que también presentaron un menor número de individuos en los conteos de preaplicación; por lo que otros tratamientos como los formulados con citrolina muestran en la cepa SAA-1 que hay mayor eficiencia de control con los picudos observados al final del estudio en comparación al número inicial de individuos lo que muestra mayor disminución de picudos con las formulaciones de citrolina y en forma líquida.

Cuadro 3.- Media de adultos de *Amphidees* spp. por fecha de muestreo de formulaciones de *Beauveria bassiana* (Vuill.) y un orgánico en la huerta de Don Jesús, en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Tratamientos	(1)*	Post aplicación (días)					
		4	7	15	22	29	36
Testigo	34.6	29.8	36.0	24.2	20.8	19.2	35.6
Bea-Sin	5.8	12.0	19.6	13.0	18.4	12.2	15.0
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	76.0	46.0	34.8	21.8	22.4	11.0	30.4
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	77.6	29.4	34.6	18.6	26.2	18.4	41.6
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	38.6	46.8	46.4	27.2	19.8	14.6	36.2
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	55.8	40.4	38.0	19.0	19.6	21.0	34.6
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	74.4	54.0	51.4	39.4	24.6	13.8	34.6
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	43.4	36.6	23.0	15.4	20.0	15.2	29.6
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	15.0	17.0	9.8	17.4	13.2	15.0	21.2
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	18.0	19.4	16.6	12.8	18.2	19.8	35.8
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	9.4	20.4	18.6	12.2	10.4	14.2	18.6
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	12.4	23.4	18.2	11.0	14.6	13.4	24.6
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	19.6	8.6	9.4	19.8	11.0	9.4	16.6
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	16.8	14.0	10.2	13.4	9.4	8.0	15.2

(1)* Muestreo de pre-aplicación y aplicación de tratamientos (15 de junio del 2002).

En cuanto al porcentaje de eficiencia en campo de los formulados de *Bb* y el repelente orgánico (Cuadro 4), muestran datos que al ser transformados por la fórmula de Henderson y Tilton, para la huerta de Don Jesús reporta datos negativos lo que indica incrementos superiores al testigo. Así, los formulados con mayor eficiencia fueron básicamente las formulaciones con citrolina durante los 36 días de observación en la cepa SAA-1 con ambas concentraciones obteniéndose un 61.1 y 47.8 % de eficiencia respectivamente, seguido del formulado líquido, donde se muestra que se tiene eficiencia en ambas cepas, aunque es mayor en la SAA-1, siendo a su vez muy superior al formulado con polvo. Además en general se observa mayor patogenicidad de la cepa SAA-1 con respecto a la cepa HCA-2. Por otro lado se encontró que el producto *Bea-Sin*^{MR} no tuvo eficiencia sobre el complejo de picudos, lo cual factiblemente se deba a que la cepa empleada para su producción no fue aislada de este insecto, mostrando mortalidad inferior a los aislados nativos de *Bb*.

Cuadro 4.- Por ciento de eficiencia de formulaciones con *Beauveria bassiana* (Vuill.) sobre adultos de *Amphidees* spp., en la huerta Don Jesús en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Tratamientos **	Post-aplicación (días)					
	4	7	15	22	29	36
Bea-Sin	-140.222	-224.789	-220.4617	-427.719	-279.059	-151.356
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	29.7245	55.9912	58.9887	50.9717	73.9172	61.1236
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	56.0109	57.1463	65.7302	43.8367	57.2702	47.8976
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	-40.7726	-15.5325	-0.7493	14.6721	31.8382	8.8519
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	15.9365	34.5479	51.3166	41.5701	-552.478	39.7346
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	15.7285	33.6007	24.2846	44.9984	66.5742	54.8009
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	2.0846	49.0655	49.2669	23.3427	36.8855	33.713
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	-31.5884	37.2074	-65.8512	-46.3846	-80.2083	-37.3633
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	-25.138	11.3642	-1.6713	-68.1944	-98.2292	-93.3021
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	-151.978	-90.1773	-85.5635	84.0425	-172.23	-92.3141
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	-119.106	-41.0663	-26.8328	-95.8591	94.7412	-92.8144
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	49.0549	53.9059	-44.4341	6.6424	13.5735	17.6851
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	3.2438	41.6468	-14.0397	6.9253	14.1865	12.0652

* Datos transformados por la fórmula de Henderson y Milton (CIBA-GEIGY 1981).

** Aplicación (15 de junio del 2002).

DISCUSIÓN

Las medias generales del porcentaje de eficiencia de los diferentes tratamientos evaluados sobre picudos de la yema del manzano en las dos huertas de manzano de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, (Cuadro 5), muestran que tanto para la huerta El Conejo como Don Jesús, los mejores tratamientos fueron del formulado de la cepa nativa SAA-1 de *Bb* con

citrolina a las concentraciones de 1×10^{13} y 1×10^{12} conidias/ml donde se encontró porcentos de 32.71 de eficiencia en la huerta el Conejo y 58.10 y 57.92 % respectivamente para la huerta de Don Jesús, que son superiores a los reportados por García *et al.* (1998), sobre el complejo *Amphidees* spp. Estos resultados son concordantes con lo reportado para formulados en aceites por Pereira and Donald (1991), Bateman *et al.* (1993), quienes citan mayor eficiencia de control de formulaciones de entomopatógenos al usar emulsiones con citrolina. Los formulados en polvo en la huerta el Conejo y líquidos en la huerta de Don Jesús, son estadísticamente iguales ($P \geq 0.05$), manteniendo una menor eficiencia pero son formulados viables de emplearse tal y como lo menciona Alatorre (2000), Hernández y Lezama (2000).

Entre cepas la que mostró mayor patogenicidad es la cepa SAA-1 en sus diferentes formulados, ya que la cepa HCA-2 muestra valores negativos en la mayoría de los tratamientos en ambas huertas (El Conejo y Don Jesús). Entre concentraciones de los formulados existió una diferencia de eficiencia de control de picudos de la yema del manzano, lo que podría deberse a la concentración de conidias viables en atención a las condiciones externas del medio ambiente tal como lo señalan Burgos *et al.* (1998) y Alatorre (2000).

Cuadro 5.- Análisis estadístico del por ciento de eficiencia de los formulados de *Beauveria bassiana* (Vuill.) en dos huertas de manzano, sobre el complejo de *Amphidees* spp., en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México.

TRATAMIENTO	% de Eficiencia por huerta			
	EL CONEJO		DON JESUS	
	Media	*	Media	*
Bea-Sin	16.7991	AB	-205.4010	E
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	12.2928	ABC	58.1024	A
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	32.7193	A	57.9274	A
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	18.4480	AB	5.2725	ABCD
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	22.1344	AB	-44.7961	CD
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Liquido	17.6021	AB	44.9125	AB
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Liquido	-18.0026	BCDE	33.9655	ABC
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	2.8734	ABCDE	-29.8841	BCD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	20.9565	AB	-36.7387	BCD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	16.1001	ABC	-71.2600	D
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	-39.8552	E	-38.3625	CD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Liquido	-28.5171	CDE	16.5754	ABC
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Liquido	-38.7079	DE	11.5468	ABC

* Valores seguidos de la misma letra se consideran estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de medias por DMS cuando ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

De los estudios de campo en las huertas, El conejo y Don Jesús, la mejor eficiencia sobre las poblaciones de *Amphidees* spp. se obtuvo con la formulación de *Bb* con citrolina con la cepa SAA-1 a la concentración de 1×10^{13} y 1×10^{12} conidias/ml, seguida de la formulación en polvo con 1×10^{13} conidias/ml en la misma cepa. En la huerta Don Jesús, también se obtuvieron buenos

resultados con la formulación líquida en ambas concentraciones. El empleo de cepas nativas de *Bb* como fueron los aislados de SAA-1 y HCA- 2 recuperadas del complejo de *Amphidees spp.*, producen mejores resultados de control sobre este insecto que el producto comercial Beasin que posiblemente sea activo para otra clase de plagas; sin embargo, en las condiciones ambientales de la Sierra de Arteaga, Coahuila carecen de actividad insecticida para el picudo del manzano.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alfonso Pámanes Guerrero, por su valiosa colaboración en la revisión, comentarios de este trabajo. Y a Edgar Quintero Cadena, Francisco Bautista Cristóbal y Adrián Sánchez Rodríguez por su colaboración y apoyo para llevar acabo este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Alatorre, R. R. 2000. Hongos entomopatógenos. Memorias. XI Curso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. Pp. 123-134.
- Barnett, G. J. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. MacMillan Publishing Company. USA. 218 pp.
- Bateman, M. R. P., Moore C. D. and Prior C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviridae* in oil formulations to desert locust at low humidities. Ann. Appl. Biol. 122: 145-152.

- Burgos, C. W., González, I. J. S., Hernández, V. I., Jiménez, Z. J. y Mánica R. Ma. L. 1998. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae), para el control de la broca del grano del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológica. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 247-248.
- CIBA-GEIGY. 1981. Manual para ensayos de campo en protección vegetal. CIBA GEIGY S.A. Basilea, Suiza. p 33.
- García, M. M., Sánchez P. S. R., Quechulpa M. F. y Castelán I. C. 1998. Aplicación en laboratorio y campo de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae). Memorias. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 252-254.
- Hernández, V. V. M. 2001. Formulación y control de calidad de hongos entomopatógenos. Memorias de Entrenamiento en Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR. Tecoman, Colima, México. Pp. 21-26.
- Hernández, V. V. M. y Lezama G. R. 2000: Formulación y aplicación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* párale control de *Schistocerca piceifrons* en México. Memorias. XXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. Pp. 194-196.
- INEGI, 2001. Anuario estadístico: Coahuila de Zaragoza. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Pp. 331-349.

- Jiménez, M. J. A. 1996. Evaluación en campo de mezclas de insecticidas para el control del picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* Say. de la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Lezcano, B.J. A. 2000. Biología de *Amphidees latifrons* (Sharp) y susceptibilidad de larvas a insecticidas (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coah. México. 111 p.
- Olayo, P. R. P., Gallegos M. G., Guerrero R. E. y Sánchez V. V. M. 2002. Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Vuill.) SOBRE *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) de Arteaga, Coahuila. Memorias. XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Hermosillo, Sonora, México. pp 193-195.
- Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.
- Pereira, R. M. and Donald W. R. 1991. Alginate and cornstarch mycelial formulations of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. J. Econ. Entomol. 84(6): 1657-1661.
- Rosas, G. N. M., Arévalo N. K., Medrano R. H., Galán W. L. J., Luna O. H. A. and Morales R. L. H. 2001. Spray – dried encapsulated *Beauveria bassiana* formulations using biodegradable polymers. Southwestern Entomologist. 26(3): 259-267.

- Sánchez, P. S. R., Quechulpa M. F. y Garcia M. M. 2001. Natural enemies of the apple bud weevil (Coleoptera: Curculionidae), an apple pest in Coahuila, Mexico. *J. Entomol. Sci.* 36(2):211-213.
- Sánchez, V. V. M., Martínez V. R. A. y Sánchez P. F. de J. 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. Pp. 266-267.
- Sawicka, E. M. and Couch T. L. 1983. Formulations of Entomopathogens. Pesticide Formulations and Application Systems: Third Symposium, ASTM STP 828, T. M. Kaneko and N. B. Akesson, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia. Pp. 5-11.
- Tafoya, R. G., Gallegos M. G., Olayo P. R. P. y Cepeda S. M. 1999. Efecto de dos cofactores de crecimiento sobre el contenido de conidias producidas por *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., en un sistema tradicional sólido de producción bifásica. Memorias. XXII Congreso Nacional de Control Biológico. Colegio de Postgraduados Montecillos, Edo. de México. Pp. 208 – 210.
- Velázquez, D. N. J., Guerrero R. E., Sánchez V. V. M. y Aguirre U. L. A. 2002. Biología y comportamiento de *Oestrophasia* sp. parasitoide del picudo de la yema del manzano *Amphidees* spp. *Entomología Mexicana.* 1:289-291.

CONCLUSIONES

Se colectaron 24 muestras de picudos micozados en huertas de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, de los cuales se realizaron 21 aislamientos de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Vuillemin).

De los aislamientos obtenidos se seleccionaron cuatro por sus características de crecimiento, producción de conidias; además de que fueron identificadas como *Beauveria bassiana*.

Se les asignaron claves para efecto de manipulación las cuales fueron; SAA-1, HCA-2, SAN-3 y SAA₂-4. Con los datos obtenidos se observó que la cepa de *B. bassiana* HCA-2 mostró un CL₅₀ de 1.6×10^6 conidias/ml y la cepa SAA-1 mostró un CL₅₀ de 7.8×10^7 conidias/ml a 13 días. Y la CL₉₅ para las cepas SAA-1, HCA-2 SAN-3 y SAA₂-4 fueron de 5.2×10^{10} , 6.2×10^{11} , 1.0×10^{12} , y 3.0×10^{11} conidias/ml respectivamente, todos a los 13 días del bioensayo.

De estas en los bioensayos de laboratorio las más eficientes la cepa SAA-1 y HCA-2, a los 13 días de exposición.

De las concentraciones evaluadas durante el presente trabajo, la de mejor actividad creciente fue la de 1×10^{11} conidias/ml, en ambas cepas SAA-1 y HCA-2.

De los estudios de campo en las 2 huertas (El conejo y de Don Jesús), la mejor eficiencia sobre las poblaciones de *Amphidees* spp. se obtuvo con la formulación de *Bb* con citrolina con la cepa SAA-1 a la concentración de 1×10^{13} y 1×10^{12} conidias/ml, seguida de la formulación en polvo con 1×10^{13} conidias/ml en la misma cepa.

En la huerta Don Jesús, también se obtuvieron buenos resultados con la formulación líquida en ambas concentraciones. El empleo de cepas nativas de *Bb* como fueron los aislados de SAA-1 y HCA- 2 recuperadas del complejo de *Amphidees* spp., producen mejores resultados de control sobre este insecto que el producto comercial Beasin que posiblemente sea mas activo para otra clase de plagas; sin embargo, en las condiciones ambientales de la Sierra de Arteaga, Coahuila carecen de actividad insecticida para el picudo del manzano.

RESUMEN

En la Sierra de Arteaga, Coahuila, México, el cultivo del manzano es de mucha importancia, por los recursos que genera para la población. Representa el 14 % de la superficie cultivada de manzano a nivel nacional, así Coahuila ocupa el tercer lugar en superficie sembrada y octavo lugar en rendimiento. La reducción o pérdida de la producción puede deberse a varios factores, principalmente bióticos, entre los que tenemos; la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L., pulgón lanigero *Eriosoma lanigerum* (Hausmann), trips *Frankiniella helianthi* (Moulton), araña roja *Eotetranychus lewisi* (McGregor) y los picudos de la yema del manzano *Amphidees latifrons*, *A. macer* y *Amphidees* sp. Dentro de estas plagas, las que más daño causan es el complejo de picudos, los cuales se alimentan de hojas haciendo mordeduras en forma de "u" durante los meses de marzo a octubre sin causar daño económico, pero durante los meses de noviembre a febrero dañan las yemas vegetativas y florales, causando la muerte de hasta un 70 % de yemas. Lo que ha provocado que los productores realicen aplicaciones inmoderadas recurriendo a altas dosis y mezclas de insecticidas, sin lograr un control adecuado, además de afectar la fauna benéfica, contaminando e incrementado los costos de control.

Por lo que se han realizado estudios para recurrir a enemigos naturales como parasitoides y los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*. Por lo anterior el presente trabajo se encauzó a evaluar cepas nativas de este hongo en laboratorio y en diferentes mezclas (formulaciones) en campo.

De 24 muestras colectadas en campo, se obtuvieron 21 cepas de adultos de *Amphidees* spp, de las cuales se seleccionaron cuatro, pertenecientes a la especie *Beauveria bassiana*, de acuerdo a las características morfológicas de Barnett y Hunter (1998), asignándoles las claves SAA-1, HCA-2, SAN-3 y SAA₂-4. Estas cepas fueron las que presentaron mejor crecimiento en Papa Dextrosa Agar y mayor cantidad de esporas producidas.

La producción de conidias de *B. bassiana*, se realizó bajo el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas: a) producción de micelio en Caldo Dextrosa Agar y b) producción de conidias de *B. bassiana* en arroz como sustrato sólido. De aquí se obtuvo las conidias por raspado en malla y se preparó las diferentes concentraciones para los bioensayos, además de realizar pruebas de viabilidad.

En los bioensayos de laboratorio, se obtuvo que de las cuatro cepas de *B. bassiana* evaluadas sobre adultos de *Amphidees* spp., dos fueron las que presentaron mayor patogenicidad; SAA-1 y HCA-2, a los 7 y 13 días después de la aplicación, obteniendo mortalidades en adultos de 77–99 y 68–97 por ciento respectivamente. Con los datos obtenidos se encontró que la cepa de *B. bassiana* HCA-2 mostró un CL₅₀ de 1.6×10^6 conidias/ml, mientras que la CL₉₅ para las cepas SAA-1, HCA-2 SAN-3 y SAA₂-4 fueron de 5.2×10^{10} , 6.2×10^{11} ,

1.0×10^{12} , y 3.0×10^{11} conidias/ml respectivamente, todos a los 13 días del bioensayo.

En los estudios de campo se evaluaron las cepas nativas SAA-1 y HCA-2, que presentaron mayor patogenicidad en laboratorio, para tal efecto se realizaron tres mezclas (formulaciones); con citrolina, en polvo y en forma líquida a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml, evaluándose en dos huertas de manzano. La cepa SAA-1 de *B. bassiana* con citrolina mostró 32.7 por ciento de control, seguido del formulado en polvo de la misma cepa con 22.1 por ciento de control, ambas a la concentración de 1×10^{13} conidias/ml en la huerta El Conejo. En la huerta Don Jesús los tratamientos con mejor respuesta de control fueron los de la cepa SAA-1 de *B. bassiana* con citrolina en las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml con 58.1 y 57.9 por ciento de control respectivamente, seguido del formulado líquido de la misma cepa y concentraciones con 44.9 y 33.9 por ciento de eficiencia respectivamente, a los 36 días a partir de la aplicación.

La variación en la eficiencia del control de picudos del Manzano para el área de San Antonio de las Alazanas, tanto por el aislado del entomopatógeno empleado, como en la mezcla (formulación) en que esta se aplique. El grado de mortalidad obtenido en el complejo de *Amphidees* spp. varió de un 42 a 78 por ciento del obtenido en laboratorio al menos para cepa SAA-1 y HCA-2. Esta variación pudiesen estar incluidas las condiciones de manejo de cada huerta, como el aislado de *Bb* y la mezcla empleada.

El empleo de formulaciones comerciales de *Bb* y de repelentes orgánicos produjeron resultados poco satisfactorios al control del picudo del manzano, bajo las condiciones experimentales reportadas.

LITERATURA CITADA

- Alatorre, R.R. 1999. Hongos entomopatógenos. Memorias, X Curso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Colegio de Postgraduados. Montecillos. Estado de México. Pp. 137-146.
- Alatorre, R.R. 2000. Hongos entomopatógenos. Memorias, XI Curso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. Pp. 123-134.
- Alexopoulos, C.J. y Mims C.W. 1979. Introductory mycology. 3ª Ed. John Wiley and Sons. New York.
- Ávila, A.R. 1998. Fluctuación poblacional de parasitoides de los picudos del manzano *Paranametis* sp y *Amphidees* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 70 p.
- Barnett, G.J. and Hunter B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. McMillan Publishing Company. USA. 218 p.
- Barrientos, L.L. 2002. Uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas en campo: Comercialización, uso actual y futuro de hongos entomopatógenos. Memorias, I Curso Internacional de Patología de Insectos. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. Cap. 6.18 p.
- Basisav, 1997.. Insecticida biológico granulado. INISAV. La Habana, Cuba. Boletín técnico. 2 p.
- Bateman, M.R. P., Moore C.D. and Prior C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviridae* in oil formulations to desert locust at low humidities. Ann. Appl. Biol. 122;145-152.
- Berlanga, P.A.M. 2001. Manejo y conservación de hongos entomopatógenos. Memorias. Curso de entrenamiento en producción masiva de hongos

- entomopatógenos. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Tecoman, Colima, México. Pp 1-7.
- Berlanga, P.A.M. y Hernández V.V.M. 2001. Parámetros de calidad del bioformulado de *Metarhizium anisopliae* var. *acridium*. Taller Internacional de Control Microbiano de Langosta. Mérida, Yucatán, México. Pp 74-80.
- Blatchley, N.S. and Leng C.N. 1916. Rhynchophora or weevils of worth Eastern America. The Nature Publishing Company. Indianapolis, USA. 745 p.
- Borror, D.J., Triplehorn C.A. and Johnson N. F. 1989. An Introduction to the study of insects. Sixth Edition. Saunders College Publishing. USA. 875 p.
- 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, Coahuila, México. 45 p.
- Castelán, H.C. 1999. Efectos de entomopatógenos en laboratorio con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* contra el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp) , de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 46 p.
- Cepeda, S.M. y Hernández C. 1983. Revisión bibliográfica de enfermedades asociadas al cultivo del manzano (*Pyrus malus* L.). UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. Boletín No. 8.
- Conde, M.E. 1998. Distribución poblacional del picudo de la yema del manzano (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga y bajo diferentes condiciones agronómicas. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 59 p.
- Davidson, R.H. y Lyon W.F. 1992. Plagas de insectos agrícolas del jardín. Editorial Limusa. México. 743 p.
- De la Rosa, R.W. y López M.M. 1998. Producción de Unidades infectivas de *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) en medios líquidos y determinación de parámetros de control de calidad de productos biológicos. Memoria, XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Tapachula, Chis. Pp. 244-246.

- DGSV, 1999. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico y Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha Técnica . CB-03.
- Domínguez, G.R. 1995. Efectos de mezclas de insecticidas de diferentes grupos toxicológicos sobre el picudo de la yema del manzano de la Sierra de Arteaga. Tesis de Licenciatura . UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 66 p.
- FAO. 1992. Propuesta del Proyecto "Integrated Control of Locust and Grasshoppers in Brazil". FAO/AGPP. Rome, Italy. Pp. 10.
- FAO, 1993. Anuario de producción. Food and Agriculture Organization. 167 p.
- FAO, 2001. Anuario de producción. Food and Agriculture Organization 142 p.
- Fargues, J., Duriez, T. and Popeye R. 1974. Analyse serologique de deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill et *Beauveria tenella* (Delacr). Siem. C.R. Acad. Sci. Pp.278 –290.
- Fargues, J., Moniania W.K., Delwals J.C. , and Smith N. 1992. Influence de la temeparture sur the croissance in vitro Hyphomycetes entomopatogenous. Agronomic 12:557-564.
- Feng, M.G., Poprawski T. J. and Khachatourians G.G. 1994. production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current status. Biocontrol Sci. 8 Technol. 4:3-34.
- Ferron, P. 1981. Pest control by the fungus *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. In microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Burgues, H.D. (Ed) Academic Press. Pp 3-13.
- García, G.C., Hernández V.V., Hernández V.V., Segovia V. y Medrano R.H. 1997. Producción de conidia-espora de *Beauveria bassiana* en medio líquido y su evaluación con larvas de *Epilachna varivestis*. Memorias. XX. Congreso Nacional de control biológico. Durango, México. Pp. 30-37.
- García, M.M. 1999. Actividad bioinsecticida de hongos entomopatógenos sobre el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp),

(Coleoptera:Curculionidae) de Arteaga. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 60 p.

- García, M.M., Sánchez P.S.R., Quechulpa M.F. y Castelán H.C. 1998. Aplicación en laboratorio y campo de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano *Crocidema* sp (Coleoptera: Curculionidae). Memorias. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo , Tamaulipas , México. Pp 252-254.
- González, R.A., Fernández E. S., Peña del Río Ma. De los A. y Flores D.M. 1998. Enemigos naturales del picudo de la yema del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Memorias, XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 159-160.
- Hernández, V.V.M. 2001. Formulación y aplicación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* Walker para el control de *Schistocerca piceifrons* en México. Taller Internacional de Control Microbiano de Langosta. Mérida, Yucatán, México. Pp. 63-67.
- Hernández, V.V.M. y Berlanga P.A.M. 1996. Control microbiano con hongos entomopatógenos. Memorias, II Curso de Actualización en Control Biológico. Tecoman, Colima, México. Pp. 94-106.
- Hernández, V.V.M. y Berlanga P.A.M. 1997. Producción masiva en sustrato sólido y formulación de hongos entomopatógenos. Memorias, II Curso Taller de Producción Masiva de Agentes de Control Biológico. Tecomán, Colima, México. Pp. 31-40.
- Ignoffo, C.M. 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. Florida Entomol. 75:516-525.
- INEGI, 2001. Anuario estadístico; Coahuila de Zaragoza, Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Pp. 331-349.
- Jenkins, M.E., Bateman R. and Thomas M.B. 2001. The lubilosa programme: Development of a mycoinsecticide for locust and grasshopper control. Taller Internacional de Control Microbiano de Langosta. Mérida, Yucatán, México. Pp. 24-30.
- Jiménez, M.S.A. 1996. Evaluación en campo de insecticidas para el control del picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* (Say.) de la Sierra

de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 52.p.

Lezcano, B.J.A. 2000. Biología de *Amphidees latifrons* (Sharp) y susceptibilidad de larvas a insecticidas (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 111 p.

McCoy, C.W. 1990. Entomogenous fungi as microbial pesticides in: New directions. Loss, A.R. Inc. In Biological Control: Alternatives for Agricultural Pests and Diseases. Pp. 139-159.

McCoy, C.W., Samson R.A. and Boucias D.G.1988. Entomopatogenous fungi. In: C.M. Ignoffo. CRC Handbook of natural pesticides. V Microbial insecticides Part a entomopatogenous, protozoa and fungi. (Ed) CRC, Press. Inc. Boca Ratón, Florida. Pp. 151-236

Mendoza, M.A.1995. determinación del efecto sinergista del ácido fúlvico en insecticidas de diferentes grupos toxicológicos sobre el picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* Say. en poblaciones de San Antonio de las Alazanas, Arteaga. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 54 p.

Metcalf, R. L. y Lauckman W.H. 1990. Introducción al manejo de insectos Primera Edición. Editorial Limusa. 710 p.

Milner, R.J. 2001. Formulation of entomopathogenic fungi. Taller Internacional de Control Microbiano de Langosta, Mérida, Yucatán, México. Pp. 60-62.

NAS, 1992. Control de plagas de plantas y animales. National Academy of Sciences. Tercera reimpresión. Editorial, Limusa. México (5) 189-217.

Ocaña, R. O. 1996. Distribución e incidencia poblacional del picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* (Say.) (Coleoptera: Curculionidae), plaga del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 52 p.

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* spp. Horn. (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 49 p.

- Quechulpa, M.F. 1998. Actividad de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae), plaga del manzano en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila. 64 p.
- Quechulpa, M.F. y Sánchez P.S. R. 1997. Algunos patógenos y parasitoides del picudo de la yema del manzano (Coleoptera: Curculionidae: Otorhynchinae) en la sierra de Arteaga, Coahuila, México. Memorias. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Guadalajara, Jalisco, México. Pp. 82-83.
- Ramírez, R.H. y Cepeda S.M. 1993. El manzano. Segunda Edición. Editorial Trillas. México. 208 p.
- Ramírez, T.J.F. 1998. Detección de hongos entomopatógenos en el picudo de la yema del manzano en la Sierra de Arteaga. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 69 p.
- Rodríguez, P.D. 1995. Determinación de la susceptibilidad de ocho insecticidas de diferentes grupos toxicológicos sobre el picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* (Say.) en poblaciones de San Antonio de las Alazanas, Arteaga. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 36 p.
- Rosas, A.S.L. 2002. Hongos entomopatógenos. Memorias, I Curso Internacional de Patología de Insectos. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Cap. 5. 49 p.
- Rosas, S.G. 1994. Sensibilidad y rapidez de mortalidad de *Oebalus mexicana* (Sailer) en cuatro estados biológicos, con 11 asilamientos de *Beauveria bassiana* (Bals). Vuill. (Hyphomycetes: Moniliales). Tesis de Licenciatura. Universidad de Guanajuato. Pp. 3-13.
- Samson, R.A. 1988. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. Academic Press. Pp 194-222.
- Sancén, L.J.A. 1999. Influencia del pH del agua sobre la efectividad de insecticidas de tres grupos toxicológicos sobre el picudo de la yema del manzano *Amphidees latifrons* (Sharp). Tesis de Licenciatura. UAAAA. Saltillo, Coahuila, México. 32 p.

- Sánchez, P. S. R. 2000. Entomopathogens from two Chihuahuan desert localities in Mexico. *BioControl* 45:63-78.
- Sánchez, P. S. R., Quechulpa M. F. y García M. M. 2001. Natural enemies of the apple bud weevil (Coleoptera: Curculionidae), an apple pest in Coahuila, Mexico. *J. Entomol. Sci.* 36(2):211-213.
- Sánchez, V.V.M. 1981. 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. 90 p.
- Sánchez, V.V.M., Martínez V.R.A y Sánchez P.F. de J. 1992. Ecuaciones predictivas de daño en base a la densidad tiempo de exposición de *Anametis* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en manzano. Memorias XXVII Congreso Nacional de Entomología. San Luis Potosí México. Pp 266-267.
- Sinnott, E. y Wilson K. 1975. Botánico ; principios y problemas. Ed. Continental. México. p.
- Storey, G.Y. and McCoy C.W. 1992. Potential biological control of soil insects using microbial pesticides in de caribbean . *Fol. Entomol.* 75:533-539.
- Tanada, y. and Kaya K.H. 1993. Insect pathology. Academic Press. San Diego, Ca. 666 p.
- Velázquez, D. N.L., Guerrero R.E., Sánchez V.V.M. y Aguirre U.L.A. 2002. Biología y comportamiento de *Oestrophasia* sp parasitoide del picudo de la yema del manzano *Amphidees* spp. *Entomología Mexicana*. 1:289-291.

APÉNDICE

CONSULTAS PÁGINAS WEB.

www.infoagro.com El cultivo del manzano. Agroalimentación, 2001.

- www.lacapital.net.com.or/agustino/feria.htm. Control Microbiano de las plagas. Casamayor, A. 1998.

www.inegi.org.mx Ficha informativa, 1998.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Página
A1	80
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 4 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.	
A2	80
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 4 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.	
A3	80
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 4 días de infección con la cepa SAA-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A4	81
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 4 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A5	81
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 7 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A6	81
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 7 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A7	82
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 7 días de infección con la cepa SAN-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A8	82
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 7 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A9	82
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 10 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A10	83
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 10 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	
A11	83
Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 10 días de infección con la cepa SAN-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	

	concentraciones.....	83
A12	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 10 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	83
A13	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 13 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	84
A14	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 13 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	84
A15	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 13 días de infección con la cepa SAN-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	84
A16	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 13 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	85
A17	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 16 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	85
A18	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 16 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	85
A19	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 16 días de infección con la cepa SAN-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	86
A20	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 16 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	86
A21	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 20 días de infección con la cepa SAA-1 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	86
A22	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 20 días de infección con la cepa HCA-2 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	87

A23	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 20 días de infección con la cepa SAN-3 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	87
A24	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. a 20 días de infección con la cepa SAA ₂ -4 de <i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.) a diferentes concentraciones.....	87
	PRUEBAS DE CAMPO.....	88
B1	Promedio de picudos de <i>Amphidees</i> spp. por árbol de manzano durante varias fechas, previas al establecimiento de estudios, en la huerta El Conejo.....	88
B2	Promedio de picudos de <i>Amphidees</i> spp. por árbol de manzano durante varias fechas, previas al establecimiento de estudios, en la huerta de Don Jesús.	88
	POSTAPLICACIÓN.....	89
B3	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de preaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 15 de junio de 2002..	89
B4	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 19 de junio de 2002..	89
B5	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 22 de junio de 2002..	90
B6	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 30 de junio de 2002..	90
B7	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 07 de julio de 2002..	91
B8	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 14 de julio de 2002..	91
B9	Número de picudos de <i>Amphidees</i> spp. presentes por tratamiento	

- en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 21 de julio de 2002.. 92
- B10 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de preaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 15 de junio de 2002.. 92
- B11 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 4 de junio de 2002.... 93
- B12 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 22 de junio de 2002.. 93
- B13 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 30 de junio de 2002.. 94
- B14 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 07 de julio de 2002... 94
- B15 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 14 de julio de 2002... 95
- B16 Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 21 de julio de 2002... 95
- B17 Análisis de varianza de un arreglo con dos factores de bloques al azar, en la huerta El Conejo, de los diferentes tratamientos..... 96
- B18 Análisis de varianza de un arreglo con dos factores de bloques al azar, en la huerta de Don Jesús, de los diferentes tratamientos..... 96

BIOENSAYOS

Cuadro A1 - Número de picudos de *Amphidees* spp. a 4 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	1		2		3		4		5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	10	0	10	0	10	0
10 ⁷	9	2	9	1	9	1	10	0	10	0
10 ⁸	9	1	9	1	8	2	9	1	8	2
10 ⁹	8	2	9	1	9	1	8	2	8	2
10 ¹⁰	10	0	10	0	8	2	6	4	9	1
10 ¹¹	8	2	10	0	7	3	8	2	9	1

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A2.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 4 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	10	0	9	1	8	2	9	1
10 ⁷	8	2	9	1	7	3	9	1	9	1
10 ⁸	8	2	8	2	6	4	8	2	10	0
10 ⁹	10	0	8	2	9	1	8	2	8	2
10 ¹⁰	9	1	9	1	8	2	6	4	7	3
10 ¹¹	6	4	6	4	8	2	6	4	9	1

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A3.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 4 días de infección con la cepa SAA-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	9	1	9	1	8	2
10 ⁷	8	2	10	0	7	3	8	2	9	1
10 ⁸	9	1	7	3	9	1	10	0	6	4
10 ⁹	8	2	8	2	8	2	9	1	9	1
10 ¹⁰	7	3	9	1	9	1	9	1	8	2
10 ¹¹	8	2	9	1	6	4	7	3	8	2

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A4.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 4 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	10	0	9	1	10	0	9	1	9	1
10 ⁷	9	1	9	1	8	2	7	3	8	2
10 ⁸	9	1	8	2	9	1	7	3	8	2
10 ⁹	7	3	9	1	6	4	9	1	9	1
10 ¹⁰	10	0	8	2	4	6	8	2	8	2
10 ¹¹	8	2	8	2	9	1	7	3	7	3

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A5.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 7 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	10	0	9	1	10	0	10	0
10 ⁷	9	1	5	5	7	3	9	1	8	2
10 ⁸	7	3	6	4	5	5	8	2	7	3
10 ⁹	5	5	7	3	6	4	5	5	6	4
10 ¹⁰	5	5	6	4	6	4	5	5	5	5
10 ¹¹	0	10	4	6	3	7	0	10	4	6

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A6.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 7 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	9	1	9	1	9	1	9	1
10 ⁷	7	3	7	3	7	3	6	4	7	3
10 ⁸	7	3	7	3	7	3	5	5	7	3
10 ⁹	8	2	5	5	10	0	6	4	7	3
10 ¹⁰	6	4	5	5	6	4	6	4	6	4
10 ¹¹	3	7	2	8	1	9	1	9	7	3

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A7.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 7 días de infección con la cepa SAN-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	9	1	9	1	8	2
10 ⁷	6	4	8	2	6	4	6	4	7	3
10 ⁸	6	4	5	5	9	1	8	2	6	4
10 ⁹	6	4	6	4	6	4	7	3	7	3
10 ¹⁰	5	5	6	4	6	4	8	2	7	3
10 ¹¹	7	3	7	3	6	4	6	4	6	4

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A8.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 7 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	10	0	9	1	9	1
10 ⁷	7	3	7	3	6	4	6	4	6	4
10 ⁸	7	3	8	2	7	3	8	2	8	2
10 ⁹	6	4	8	2	7	3	5	5	6	4
10 ¹⁰	6	4	7	3	3	7	6	4	6	4
10 ¹¹	4	6	5	5	6	4	4	6	5	5

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A9.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 10 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	10	0	9	1	9	1
10 ⁷	5	5	3	7	4	6	2	8	3	7
10 ⁸	3	7	5	5	4	6	6	4	5	5
10 ⁹	2	8	5	5	4	6	1	9	4	6
10 ¹⁰	1	9	2	8	3	7	3	7	1	9
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A10.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 10 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	9	1	9	1	9	1	9	1
10 ⁷	3	7	4	6	6	4	3	7	6	4
10 ⁸	4	6	3	7	3	7	1	9	5	5
10 ⁹	5	5	2	8	9	1	2	8	4	6
10 ¹⁰	3	7	3	7	4	6	5	5	4	6
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	1	9

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A11.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 10 días de infección con la cepa SAN-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	8	2	9	1	9	1	8	2
10 ⁷	3	7	7	3	4	6	4	6	2	8
10 ⁸	3	7	4	6	3	7	8	2	3	7
10 ⁹	2	8	2	8	5	5	5	5	5	5
10 ¹⁰	2	8	1	9	4	6	4	6	4	6
10 ¹¹	1	9	3	7	2	8	1	9	2	8

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A12.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 10 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	10	0	9	1	9	1
10 ⁷	4	6	3	7	5	5	4	6	6	4
10 ⁸	6	4	6	4	5	5	4	6	8	2
10 ⁹	3	7	3	7	6	4	6	4	3	7
10 ¹⁰	3	7	3	7	1	9	4	6	3	7
10 ¹¹	1	9	0	10	1	9	0	10	2	8

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A13.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 13 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	8	2	10	0	9	1	9	1
10 ⁷	4	6	1	9	3	7	2	8	3	7
10 ⁸	2	8	5	5	6	4	5	5	5	5
10 ⁹	0	10	4	6	1	9	0	10	2	8
10 ¹⁰	1	9	3	7	3	7	1	9	1	9
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A14.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 13 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	8	2	9	1	9	1	8	2
10 ⁷	2	8	3	7	4	6	1	9	6	4
10 ⁸	0	10	3	7	3	7	0	10	3	7
10 ⁹	2	8	1	9	4	6	1	9	4	6
10 ¹⁰	2	8	2	8	1	9	2	8	1	9
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	1	9

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A15.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 13 días de infección con la cepa SAN-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	8	2	8	2	9	1	8	2
10 ⁷	2	8	7	3	3	7	3	7	3	7
10 ⁸	4	6	2	8	0	10	5	5	4	6
10 ⁹	0	10	2	8	3	7	3	7	4	6
10 ¹⁰	2	8	1	9	0	10	4	6	3	7
10 ¹¹	0	10	0	10	2	8	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A16.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 13 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	9	1	9	1	9	1	8	2
10 ⁷	4	6	5	5	4	6	2	8	4	6
10 ⁸	4	6	3	7	5	5	4	6	5	5
10 ⁹	1	9	2	8	5	5	3	7	3	7
10 ¹⁰	2	8	3	7	0	10	2	8	1	9
10 ¹¹	1	9	0	10	2	8	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A17.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 16 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	8	2	9	1	8	2	9	1
10 ⁷	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9
10 ⁸	0	10	2	8	3	7	3	7	4	6
10 ⁹	1	9	0	10	0	10	0	10	1	9
10 ¹⁰	1	9	1	9	2	8	0	10	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A18.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 16 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	7	3	8	2	9	1	8	2	8	2
10 ⁷	2	8	1	9	2	8	0	10	1	9
10 ⁸	0	10	0	10	2	8	0	10	0	10
10 ⁹	1	9	1	9	3	7	0	10	2	8
10 ¹⁰	0	10	2	8	1	9	2	8	1	9
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A19.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 16 días de infección con la cepa SAN-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	8	2	8	2	8	2	7	3
10 ⁷	1	9	4	6	3	7	2	8	0	10
10 ⁸	1	9	2	8	0	10	1	9	3	7
10 ⁹	0	10	0	10	2	8	3	7	2	8
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	2	8	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	1	9	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A20.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 16 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	9	1	8	2	8	2	8	2	8	2
10 ⁷	2	8	2	8	2	8	3	7	1	9
10 ⁸	4	6	2	8	2	8	2	8	1	9
10 ⁹	1	9	1	9	1	9	2	8	3	7
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	1	9	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A21.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 20 días de infección con la cepa SAA-1 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	8	2	7	3	7	3	7	3
10 ⁷	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ⁸	0	10	1	9	1	9	1	9	1	9
10 ⁹	0	10	0	10	0	10	0	10	1	9
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A22.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 20 días de infección con la cepa HCA-2 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	6	4	7	3	8	2	8	2	5	5
10 ⁷	0	10	0	10	2	8	0	10	0	10
10 ⁸	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ⁹	0	10	0	10	2	8	0	10	0	10
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A23.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 20 días de infección con la cepa SAN-3 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	8	2	7	3	7	3	8	2	7	3
10 ⁷	1	9	2	8	1	9	1	9	0	10
10 ⁸	0	10	0	10	0	10	0	10	1	9
10 ⁹	0	10	0	10	0	10	1	9	1	9
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	1	9	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

Cuadro A24.- Número de picudos de *Amphidees* spp. a 20 días de infección con la cepa SAA₂-4 de *Beauveria bassiana* (Vuill.) a diferentes concentraciones.

Concentración Conidias/ml	REPETICIONES									
	R1		R2		R3		R4		R5	
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
T	7	3	8	2	6	4	7	3	5	5
10 ⁷	2	8	1	9	2	8	0	10	1	9
10 ⁸	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9
10 ⁹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ¹⁰	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
10 ¹¹	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

V).- Número de picudos vivos. M).- Número de picudos muertos.

PRUEBAS DE CAMPO

Cuadro B1.- Promedio de picudos de *Amphidees* spp. por árbol de manzano durante varias fechas, previas al establecimiento de estudios, en la huerta El Conejo.

Tratamientos	02-Feb	08-Mar	15-Mar	21-Mar	12-Abr	08-Jun	15-Jun
1 *	28.60	17.40	18.40	15.60	19.60	21.80	34.00
2	10.40	7.00	10.40	12.40	15.40	36.40	42.60
3	10.60	11.00	9.40	8.80	11.80	18.00	25.40
4	15.00	22.00	13.00	19.40	13.40	46.00	38.20
5	11.00	18.00	17.60	12.80	14.00	41.80	43.00
6	12.00	8.80	11.40	11.40	16.20	30.00	40.80
7	21.80	27.60	36.80	31.20	20.20	39.20	40.60
8	11.40	9.20	15.80	13.00	7.80	33.00	43.20
9	20.60	13.00	17.80	19.60	16.20	14.60	28.40

No. de tratamientos predeterminados (5 árboles por tratamiento).

Cuadro B2.- Promedio de picudos de *Amphidees* spp. por árbol de manzano durante varias fechas, previas al establecimiento de estudios, en la huerta de Don Jesús.

Tratamientos	02-Feb	08-Mar	15-Mar	21-Mar	12-Abr	08-Jun	15-Jun
1 *	19.20	12.60	17.20	22.40	19.80	39.60	34.60
2	10.40	7.00	10.40	12.40	15.40	36.40	42.60
3	10.60	11.00	9.40	8.80	11.80	18.00	25.40
4	22.80	11.80	15.80	10.20	13.40	39.60	42.00
5	18.40	10.20	10.20	11.80	10.60	24.80	37.80
6	10.60	3.20	5.80	6.00	12.20	31.40	60.20
7	13.60	6.20	7.40	3.20	8.00	13.80	24.00
8	12.20	4.60	8.00	8.20	13.40	54.40	55.00
9	10.60	4.00	6.60	6.00	14.00	25.40	40.60

No. de tratamientos predeterminados (5 árboles por tratamiento).

POSTAPLICACIÓN

Cuadro B3 - Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de preaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 15 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	20	11	22	53	64
BEASIN ²	25	16	15	31	40
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	31	73	21	32	34
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	31	42	33	69	40
³ SAA-1 ¹² + POLVO	13	34	56	28	73
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	28	27	56	34	58
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	58	11	33	40	74
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	15	18	15	45	49
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	46	31	29	36	68
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	29	43	37	32	48
³ HCA-2 ¹² + POLVO	43	56	70	75	57
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	18	25	32	22	23
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	49	61	72	50	43
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	50	48	32	37	36

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B4.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 19 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	5	8	7	38	44
BEASIN ²	19	11	13	18	28
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	7	42	13	20	12
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	9	12	8	71	19
³ SAA-1 ¹² + POLVO	12	24	31	15	25
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	8	10	33	25	28
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	28	10	15	13	9
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	12	21	13	8	30
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	22	19	26	22	29
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	21	17	20	23	33
³ HCA-2 ¹² + POLVO	12	15	30	13	10
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	28	18	15	17	19
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	31	36	24	21	44
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	21	22	27	23	38

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B5.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 22 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	5	6	9	16	21
BEASIN ²	7	6	6	7	14
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	11	12	10	13	10
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	2	5	4	6	9
³ SAA-1 ¹² + POLVO	3	8	11	10	7
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	6	1	15	10	11
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	11	9	11	17	17
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	9	8	14	12	24
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	11	13	7	5	15
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	6	4	7	12	5
³ HCA-2 ¹² + POLVO	11	8	19	13	15
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	6	8	5	7	9
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	20	28	20	10	28
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	14	15	9	21	12

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B6.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 30 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	0	8	1	5	15
BEASIN ²	0	3	6	5	4
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	14	13	6	8	7
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	4	5	5	12	9
³ SAA-1 ¹² + POLVO	7	5	11	8	16
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	6	7	14	12	9
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	9	7	15	8	18
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	8	8	13	11	15
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	12	10	13	10	20
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	15	13	7	12	1
³ HCA-2 ¹² + POLVO	22	12	15	16	12
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	4	9	9	10	12
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	27	23	28	15	14
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	26	33	17	19	19

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B7.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 07 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	9	7	9	19	22
BEASIN ²	13	11	5	8	35
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	14	10	11	11	6
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	2	7	3	23	13
³ SAA-1 ¹² + POLVO	8	16	8	25	19
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	12	7	21	10	8
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	11	6	16	14	17
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	12	9	21	9	14
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	11	14	18	19	31
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	8	6	5	15	6
³ HCA-2 ¹² + POLVO	27	21	28	30	23
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	12	20	19	12	14
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	42	28	32	17	38
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	20	17	31	22	24

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B8.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 14 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	9	11	13	16	14
BEASIN ²	9	9	8	6	5
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	11	4	16	6	11
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	8	9	5	17	8
³ SAA-1 ¹² + POLVO	4	8	10	9	11
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	7	5	14	11	13
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	6	8	12	10	15
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	5	7	14	9	14
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	14	11	12	10	19
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	14	8	9	10	4
³ HCA-2 ¹² + POLVO	12	19	22	25	19
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	13	7	8	5	22
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	31	18	26	16	36
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	16	5	26	9	16

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B9.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta El Conejo. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 21 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	14	8	7	20	25
BEASIN ²	11	9	7	6	12
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	19	24	6	18	14
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	8	15	9	24	13
³ SAA-1 ¹² + POLVO	12	8	17	7	28
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	7	12	10	9	14
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	21	6	5	20	21
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	14	12	6	9	19
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	10	14	15	13	17
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	11	15	12	5	14
³ HCA-2 ¹² + POLVO	29	26	24	28	12
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	22	16	20	12	23
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	38	37	34	27	38
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	20	19	29	25	22

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B10.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de preaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 15 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	55	28	17	30	43
BEASIN ²	6	6	9	3	5
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	20	114	121	40	85
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	98	60	25	95	110
³ SAA-1 ¹² + POLVO	32	51	58	35	17
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	85	45	86	40	23
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	44	115	105	56	52
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	90	47	23	16	41
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	20	6	15	21	13
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	54	17	6	6	7
³ HCA-2 ¹² + POLVO	6	7	6	24	4
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	15	24	2	8	13
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	5	25	20	30	18
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	42	13	9	11	9

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B11.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 4 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	54	25	10	22	38
BEASIN ²	17	14	23	3	3
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	39	47	60	52	32
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	28	17	21	42	39
³ SAA-1 ¹² + POLVO	28	37	136	20	13
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	89	33	56	11	13
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	45	76	72	39	38
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	75	34	18	11	45
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	20	3	14	21	27
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	17	21	28	12	19
³ HCA-2 ¹² + POLVO	20	19	32	19	12
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	25	23	29	28	12
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	6	11	6	5	15
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	26	12	2	8	22

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B12.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 22 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	41	32	30	40	37
BEASIN ²	14	8	26	12	38
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	19	43	60	12	40
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	42	45	19	30	37
³ SAA-1 ¹² + POLVO	24	46	108	32	22
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	89	20	46	19	16
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	43	64	72	35	43
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	47	19	13	10	26
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	11	2	6	20	10
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	35	9	15	10	14
³ HCA-2 ¹² + POLVO	9	17	10	44	13
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	27	29	8	9	18
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	4	12	9	7	15
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	10	7	5	10	19

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B13.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 30 de junio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	25	26	20	28	22
BEASIN ²	1	23	14	15	12
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	13	8	56	16	16
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	33	22	26	5	7
³ SAA-1 ¹² + POLVO	26	45	26	17	22
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	57	8	20	5	5
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	28	55	67	15	32
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	27	17	7	10	16
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	12	18	7	30	20
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	18	15	11	7	13
³ HCA-2 ¹² + POLVO	6	8	7	17	23
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	20	8	5	9	13
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	9	21	10	28	31
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	13	15	2	23	14

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B14.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 07 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	15	39	22	9	19
BEASIN ²	15	24	24	22	7
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	7	24	48	18	15
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	36	21	23	32	19
³ SAA-1 ¹² + POLVO	28	18	23	12	18
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	39	15	19	9	16
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	12	22	43	21	25
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	27	25	17	6	25
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	17	14	12	13	10
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	39	9	21	14	8
³ HCA-2 ¹² + POLVO	6	15	8	16	7
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	19	13	13	19	9
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	0	7	13	14	21
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	8	11	8	8	12

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B15 - Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 14 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	20	24	12	24	16
BEASIN ²	14	14	20	8	5
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	4	12	22	6	11
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	23	16	12	20	21
³ SAA-1 ¹² + POLVO	14	12	19	10	18
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	37	21	19	13	15
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	13	18	12	15	11
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	32	16	6	4	18
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	28	16	9	13	9
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	42	14	12	16	15
³ HCA-2 ¹² + POLVO	9	22	11	18	11
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	17	14	8	20	8
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	4	11	5	15	12
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	5	8	11	3	13

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B16.- Número de picudos de *Amphidees* spp. presentes por tratamiento en el muestreo de postaplicación en la huerta de Don Jesús. San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila. 21 de julio de 2002.

Tratamientos	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
TESTIGO	61	26	35	31	25
BEASIN ²	1	26	28	20	0
³ SAA-1 ¹² + CITROLINA	20	48	45	15	24
³ SAA-1 ¹³ + CITROLINA	71	42	13	44	38
³ SAA-1 ¹² + POLVO	26	34	75	22	24
³ SAA-1 ¹³ + POLVO	43	37	42	22	29
³ SAA-1 ¹² + LÍQUIDO	10	37	70	22	34
³ SAA-1 ¹³ + LÍQUIDO	48	32	17	18	33
³ HCA-2 ¹² + CITROLINA	39	17	7	23	20
³ HCA-2 ¹³ + CITROLINA	84	24	22	12	37
³ HCA-2 ¹² + POLVO	12	27	12	27	15
³ HCA-2 ¹³ + POLVO	23	35	10	21	34
³ HCA-2 ¹² + LÍQUIDO	15	10	18	12	28
³ HCA-2 ¹³ + LÍQUIDO	22	31	4	14	5

² Producto comercial de *Beauveria bassiana*, ³ Cepas nativas.

Cuadro B17.- Análisis de varianza de un arreglo con dos factores de bloques al azar, en la huerta El Conejo, de los diferentes tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P<F
REPETICIONES	4	1.8289	0.4572	11.9729	0.000 **
FACTOR A	14	8.2789	0.5913	15.4850	0.000 **
FACTOR B	6	19.1256	3.1876	83.4696	0.000 **
INTERACCION	84	5.1484	0.0612	1.6050	0.002 **
ERROR	416	15.8865	0.0381		
TOTAL	524	50.2684			
C. V.	16.92 %				

** Cuando ($P \leq 0.05$)

Nota: Datos transformados por logaritmo natural

Cuadro B18.- Análisis de varianza de un arreglo con dos factores de bloques al azar, en la huerta de Don Jesús, de los diferentes tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P<F
REPETICIONES	4	0.3473	0.0868	4.0312	0.004 **
FACTOR A	8	1.2888	0.1611	7.4785	0.000 **
FACTOR B	5	1.0262	0.2052	9.5276	0.000 **
INTERACCION	40	1.2687	0.0317	1.4724	0.044 *
ERROR	212	4.5669	0.0215		
TOTAL	269	8.4981			
C.V.	27.90 %				

** Cuando ($P \leq 0.05$)

Nota: Datos transformados por arco-seno