

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Determinación de la Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* (Motshulsky) con los Hongos Entomopatogenos *Beauveria bassiana*(Vuillemin) y *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) en Condiciones de Laboratorio

Por:

**DANIELA JIMÉNEZ LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Determinación de la Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* (Motshulsky) con los Hongos Entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Vuillemin) y *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) en Condiciones de Laboratorio

Por:

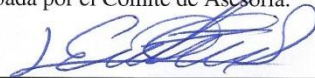
**DANIELA JIMÉNEZ LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor Principal



Dra. Yisa María Fuentes Ochoa

Coasesor



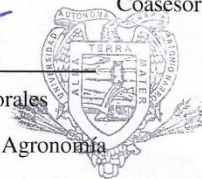
M.C. Omegar Hernández Bautista

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2015

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme salud, vida y por guiarme por el buen camino; la dicha de vivir esta vida maravillosa a lado de mis seres queridos.

### **A MI ALMA TERRA MATER**

Con mucho cariño y respeto por haberme abierto las puertas y darme la oportunidad de formarme en sus aulas como persona y como profesional.

**Dr. Ernesto Cerna Chávez** Con mucho respeto y admiración por su valiosa aportación de conocimientos y asesoría durante el desarrollo del presente trabajo.

**Dra. Yisa Ochoa Fuentes**, por su valiosa colaboración y apoyo durante el desarrollo del presente trabajo.

**M.C. Omegar Hernández Bautista**, por su apoyo y colaboración brindada durante la realización del presente trabajo.

**Alma Angélica López Juárez**, por estos cuatro años juntas, en las buenas, en las malas y apoyándome siempre.

**Israel León Calvari** por tu amistad, cariño y apoyo durante el tiempo, logrando concluir el trabajo juntos.

**Sergio Rosales de la Rosa**, por tu amistad, cariño y apoyo durante el tiempo, logrando concluir el trabajo juntos.

A mis Compañeros y amigos de la generación **CXX I.A.P.**, por brindarme su amistad, en los buenos y malos momentos, ayudándome hacer mas fácil mi estancia lejos de mi hogar.

## **DEDICATORIA**

### **A mis Padres**

José Manuel Jiménez Sánchez

Teresa López Domínguez

Por enseñarme y guiarme hasta este punto fundamental de mi vida. Amarme a pesar de mis desplantes y errores, aceptar en lo que me he convertido. Confiar en mí, y estar en mis caídas para ayudarme a levantarme. Por que los amo, por ser mis padres, sin ustedes no seria la persona que hoy soy. Por que este pequeño paso, para ustedes es un gran paso.

### **Mis Hermanas**

Citlali Idalia Jiménez López

Sabrinna Jiménez López

Siempre juntas a pesar de todo. Ser parte indispensable de mi vida. Las personas que me han ayudado, guiándome, preocupándose, y amándome siempre. Que este sea uno de los grandes logros que realizaremos juntas.

## **A mis Abuelos**

Enrique Jiménez Sánchez ( † )

Soledad Sánchez Castillo ( † )

Rafael López López ( † )

Los pilares de mi hogar, con su sabiduría y amor logramos ser quienes somos.

## **Familia Jiménez**

Dalia Jiménez Sánchez

Raúl Jiménez Sánchez

Omar Jiménez Sánchez

Christian Jiménez Sánchez

Dorian Enrique Jiménez Sánchez

María Lourdes Castro Zafra

Wendolyn Álvarez Vela

Enrique Mauri Jiménez Castro

Familia interesante, que con amor, trabajo y un carácter peculiar tiene mi respeto y amor incondicional. Cada uno aportando un grano de arena para mi formación. Los amo.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>I</b>
<b>DEDICATORIAS.....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO.....</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>IX</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
Justificación.....	3
Objetivo.....	3
Hipótesis.....	3
<b>REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
Importancia de plagas en granos almacenados.....	4
<i>Sitophilus zeamais</i> .....	6
Descripción de la plaga.....	6
Posición taxonómica.....	7
Biología y hábitos.....	7
Importancia económica.....	8
Control químico.....	9
Control físico.....	9
Hongos Entomopatogenos .....	10
<i>Lecanicillium lecanii</i> .....	11
Ubicación taxonómica.....	12

Morfología.....	12
Actividad entomopatógena.....	13
Importancia.....	14
<i>Beauveria bassiana</i> .....	15
Ubicación taxonómica.....	16
Morfología.....	16
Modo de acción.....	17
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	19
Ubicación del experimento.....	19
Material biológico.....	19
Método de bioensayo.....	19
Preparación de las mezclas.....	20
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	21
Porcentajes de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con <i>Beauveria bassiana</i> + <i>Lecanicillium lecanii</i> y la mezcla con diferentes potenciadores.....	21
<b>CONCLUSIONES</b> .....	30
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	31



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Pagina</b>
<b>1</b>	ANVA de los factores: tratamiento, concentración, día y repetición.....	<b>25</b>
<b>2</b>	Comparación de medias por método de Tukey por el factor tratamiento.....	<b>27</b>
<b>3</b>	Comparación de medias por método de Tukey por el factor concentración.....	<b>28</b>
<b>4</b>	Comparación de medias por método de Tukey por el factor días.....	<b>29</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Verticillium spp.</i> A. Esquema de conidióforos y conidias de <i>Verticillium spp.</i> B. Microfotografía de conidióforos y conidias de <i>Verticillium lecanii</i> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Beauveria                      bassiana</i> . A. Esquema de conidióforos y conidias de <i>B. bassiana</i> . B. Microfotografía de conidióforos y conidias de <i>B. bassiana</i> .....	<b>17</b>
<b>3</b>	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con la combinación de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i> los 4,7 y 10 días después del tratamiento.....	<b>21</b>
<b>4</b>	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con la combinación de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i> + Leche a los 4,7 y 10 días después del tratamiento.....	<b>22</b>
<b>5</b>	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con la combinación de <i>Beauveria. bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i> + A. húmicos a los 4,7 y 10 días después del tratamiento.....	<b>23</b>
<b>6</b>	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con la mezcla de <i>Beauveria. bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i> + Adherente mas adherente utilizado como potenciador.....	<b>24</b>

## RESUMEN

El valor económico, alimenticio, agrícola e industrial asociado a los granos y semillas, demanda cuidados especiales en el almacén para garantizar la conservación de su calidad. Este estudio tiene como finalidad la aportación de información para una alternativa de manejo no dañino para el ecosistema, contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

Uno de los objetivos fue evaluar la capacidad de mortandad que tienen los hongos *B. bassiana* y *L. lecanii* en conjunto, también probar su rendimiento con otros tipos de coadyuvantes que podrían alentar su funcionamiento.

Se realizaron cuatro tratamientos *B. bassiana* y *L. lecanii*, *B. bassiana* y *L. lecanii*+ Leche, *B. bassiana* y *L. lecanii*+ A. húmicos, *B. bassiana* y *L. lecanii*+ Adherente cada uno con dosis diferentes y tres repeticiones. Se utilizó un análisis de varianza ANVA multifactorial

Encontrando que la efectividad de la combinación de los hongos *B. bassiana* y *L. lecanii* tiene hasta un 80% de mortalidad, así como también su combinación con los adherentes resultó ser de un mayor porcentaje.

Correo electrónico; Daniela Jiménez López, [inu\\_dani@hotmail.com](mailto:inu_dani@hotmail.com)

**Palabras clave.** *Sitophilus zeamais*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, potenciadores, tratamiento, mortalidad.

## INTRODUCCIÓN

La agricultura en México sigue siendo una de las actividades principales del país, en la actualidad sigue enfrentándose a problemas, siendo uno de estos en el almacenaje y transporte de los granos.

El maíz es sin duda, el grano que ocupa el primer lugar en cultivo y consumo en México, al igual que en los países de África del sur, Guatemala, Honduras y El Salvador (Guzmán, 2009). Ya que es un grano de gran importancia económica, es de interés el manejo que se tiene en el proceso de su comercialización.

En México, 75% de los granos básicos se produce bajo condiciones de temporal, por agricultores a pequeña y mediana escala, quienes después de la cosecha se enfrentan con el problema de conservación del grano para autoconsumo y de semilla para el siguiente ciclo agrícola (Rodríguez, 1990).

La necesidad de almacenarlo, genera la capacidad de transformación de la infraestructura que existe para la conservación de granos. Sin embargo las condiciones de almacenamiento son inadecuadas y donde los factores bióticos (Microorganismos, roedores, insectos, etc.) y los abióticos (Temperatura, humedad y luminosidad), interactúan negativamente dentro del complejo sistema de almacenamiento.

Los hongos fueron los primeros microorganismos que se encontraron causando enfermedades sobre los insectos, debido a su evidente crecimiento sobre la superficie de su hospedero, sin embargo algunos hongos entomopatógenos no presentan ese crecimiento visible a la superficie o frecuentemente presenta estructuras no evidentes o insignificantes

que dificulta su detección, aunado a que en algunas ocasiones su crecimiento y desarrollo es limitado por condiciones ambientales no propicias (Tanada y Kaya, 1993).

El uso de patógenos de insectos no es un medio nuevo, desde el siglo pasado Agostino Bassi demostró que la enfermedad denominada “Muscardina blanca” del gusano de seda *Bombyxmory* era a consecuencia del hongo *Beauveria bassiana*(Subramanian, 1971)

Actualmente ha surgido la necesidad de reducir el uso de insecticidas y continuar con la búsqueda de nuevas alternativas de control en estas plagas. Buscando que estas alternativas sean más amigables con el medio ambiente, con la salud humana y no generen problemas de resistencia en corto plazo.

## **Justificación**

Este estudio tiene como finalidad la aportación de información para una alternativa de manejo no dañino para el ecosistema, contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

## **Objetivo**

Evaluar el porcentaje de mortalidad que tienen los hongos *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* en la plaga *Sitophilus zeamais*.

## **Hipótesis**

Al menos uno de los cuatro tratamientos tendrá un mayor porcentaje de mortalidad en la plaga.

## REVISION DE LITERATURA

### Importancia de plagas engranos almacenados

Actualmente, el almacenaje se ha convertido en una práctica de elevado contenido técnico, gracias a la acumulación de experiencias a la largo de muchos años. Asociar el almacenaje con la política actual de implementar reservas reguladoras debe llevar a conservar científicamente los granos, y a solucionar múltiples factores físicos, químicos y biológicos que se encuentran íntimamente concentrados con esta compleja actividad. La cosecha en la época adecuada, la limpieza, el secado, los almacenajes adecuados en cuanto a ubicación, orientación y proyecto los silos con sistemas de aireación, y la calidad del producto durante el periodo de almacenaje, determinan su conservación (Arias, 1985).

Hernández y Carballo (2014) mencionan que durante el almacenamiento uno de los principales factores que influyen en el deterioro de granos y semillas son los insectos plaga, los cuales dañan los granos por la alimentación directa en el endospermo, causando pérdidas en peso y calidad de los mismos, otras especies plaga se alimentan del embrión, lo que causa una disminución de laviabilidad. Según Lagunes (1994) en América Latina, entre 30 y 40 % de la producción de maíz se pierde durante su almacenamiento.

Los insectos causan daños considerables a los granos almacenados; en el mundo se han reportado 227 especies que afectan estos productos y en México se han reportado 66 especies que atacan a granos almacenados de maíz y entre ellas está el *Sitophilus zeamais* y se sabe que las perdidas que ocasiona este insecto oscilan entre un 15 y un 25% dependiendo de la región (Guerrero, 2003). Es importante mantener un control sobre las

plagas, antes de que causen daños físicos en los granos, disminuyendo la calidad del grano o valor nutricional.

En México el maíz es el cultivo agrícola más importante, desde el punto de vista alimentario, social, industrial y político. Participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola (88 mil mdp en 2012 y 78 mil en 2013) y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional (7.5 millones de hectáreas). El volumen de producción de maíz en el año 2012 alcanzó 22.1 millones de toneladas y se estima que para el año 2013 se alcanzaron 22.7 millones. Mientras que la superficie de temporal ocupa el 74% de la superficie, aporta únicamente el 40% del valor generado. Todas las entidades del país presentan algún nivel de producción de maíz, sin embargo, siete entidades concentran el 64.5% del volumen de producción nacional. Sinaloa es el principal productor al concentrar el 16.5% del total. Le siguen en importancia Jalisco, Michoacán, Estado de México, Chiapas, Guerrero y Veracruz (FND, 2014).



## *Sitophilus zeamais*

### **Descripción de la plaga**

Conocido comúnmente como el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* es una plaga que causa daños a gran variedad de granos, dentro ellos es el maíz.

Paez (1987) describe a *S.zeamais*, señalando que los huevecillos son opacos de color blanco, de 0.7 mm de largo por 0.3 mm de ancho, en forma de pera u ovoide. La larva es poda, de color blanco, de forma cuneiforme y raramente se observa fuera del grano. La pupa es semejante al adulto, cabeza redonda, proboscis delgada y dirigida hacia la parte inferior, con las patas dobladas hacia el cuerpo y con las alas cubriendo a estas, tienen nueve segmentos abdominales, cada uno de los cuales presentan dos 17 espinas prominentes. El adulto mide de 2.5 a 4.5 mm de longitud, es de color café oscuro de cuerpo cilíndrico y con la cabeza prolongada en un pico proboscis de donde soporta un par de mandíbulas resistentes. El tórax se encuentra marcado con punturas redondas y los élitros tienen en sus ángulos exteriores cuatro manchas de color rojo anaranjado. Las antenas son acodadas y en forma de mazo. Posee alas funcionales con vuelo activo. El abdomen está formado por ocho segmentos.

## Posición taxonómica

Reino: Animal

Phylum: Artropoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Coleóptera

Suborden: Pollyphaga

Familia: Curculionidae

Género: *Sitophilus*

Especie: *zeamais*

## Biología y hábitos

Sharifi y Mills (1971) mencionan que el ciclo de vida de *S. zeamais* dura en promedio 36.5 días a una temperatura de 27°C y 70% de humedad relativa, por otro lado Okelana y Osuji (1985) indican que a una temperatura de 28 a 32°C y 70% de humedad relativa la duración es de 35 días.

La hembra perfora el grano con su aparato bucal y oviposita individualmente los huevecillos dentro del grano y posteriormente lo cubre con una sustancia gelatinosa, una hembra oviposita de 200 a 500 huevecillos durante todo su periodo de vida, dependiendo de la

temperatura los huevecillos eclosionan entre los 3 y 5 días, emergen y completan su desarrollo, la larva pasa por cuatro estadios utiliza mezcla de desechos y secreciones para construir la celda pupal, donde se tarda de 3 a 6 días dependiendo del medio ambiente, al emerger el adulto es sexualmente maduro al término de ocho a diez días permanece dentro del grano varios días antes de dejarlo (García, 1992).

Las larvas pasan por cuatro estadios en el interior del grano donde se alimentan haciendo galerías, las cuales algunas veces son visibles a través de la testa de este. En el cuarto instar las larvas mediante sus secreciones y desechos elaboran una cámara pupal; este estado pupal tiene una duración de 18.1 a 21.6 días y una vez que el adulto emerge no sale inmediatamente al exterior sino que dura de 4 a 5 días alimentándose dentro del grano (Sharifi y Mills, 1971).

### **Importancia económica**

Al gorgojo del maíz se le considera como plaga primaria porque el adulto es capaz de dañar los granos sanos y las larvas se alimentan en su interior. Al emerger, el adulto deja típicos orificios en los granos. En harina y productos de la molienda se considera de importancia secundaria ya que no es capaz de multiplicarse. Se han reportado causando daños en semillas de oleaginosas pero en este caso no se reporta el daño en frijol (González et al., 1983).

## **Control químico**

En la actualidad el uso de productos químicos para controlar plagas de granos almacenados ha progresado desde el uso de productos inorgánicos de principio de siglo a la aparición y uso de un gran número de compuestos orgánicos altamente efectivos (Bond, 1973).

A largo plazo, los insecticidas pueden llegar a ser inefectivos debido al desarrollo de una población de insectos resistentes; sin embargo, también debe ser reconocido que presentan muchas ventajas y que si son usados correctamente pueden marcar la diferencia entre un buen cultivo o el fracaso total del mismo (Granados, 2001). En México los insecticidas que se encuentran autorizados para el control de *S. zeamais* en grano de Maíz son deltametrina (GRANBIOL y K-OBIOL C.E. 2.5), lindano de uso restringido (LINDANO 1%), malatión (CUIDADOR M, PLAGRANO, TROJE 2000, etc) y pirimifosmetil como ACTELLIC 2% (SENASICA, 2011).

## **Control físico**

El cambio o manipulación de la temperatura ya sea disminuyendo o aumentándola, se ha utilizado para controlar las plagas de granos almacenados lo anterior se basa en que el intervalo de temperatura en que se desarrollan los insectos se encuentra comprendido entre los 13 y 35°C y fuera de él los insectos generalmente mueren, sin embargo, este método no puede ser adoptado por los agricultores de escasos recursos (Fields, 1992).

## Hongos Entomopatogenos

Los hongos entomopatógenos poseen extrema importancia en el control de insectos, virtualmente todos los insectos son susceptibles a las enfermedades fungosas y existen aproximadamente 700 especies y alrededor de 100 géneros de hongos entomopatógenos. Dentro de los más importantes se mencionan: *Metarhizium spp*, *Beauveria spp*, *Aschersoniaspp*, *Entomophthoraspp*, *Zoophthoraspp*, *Eryniaspp*, *Eryniopsispp*, *Akanthomycesspp*, *Fusarium spp.*, *Hirsutellaspp.*, *Hymenostilbespp*, *Paecilomycesspp* y *Verticillium spp*, pertenecientes a la clase Zygomycetes y Ascomycetes (López y Hans Börjes, 2001).

Los hongos entomopatógenos infectan individuos en todos los órdenes de insectos; por ejemplo Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera (Tanada y Kaya, 1993; Humber, 1997). En algunos órdenes los estados de ninfa o larvason más susceptibles que los adultos, en otros ocurrelo contrario. Los estados de huevo y pupa frecuentemente no son infectados por estos hongos (TanadayKaya, 1993).

Tanada y Kaya (1993) mencionan que tanto el micelio de *Verticilium lecanii* como el de *Beauveria bassiana* producen la toxina bassianolide que causa una alteración en el núcleo de las células y puede funcionar como un antibiótico al igual que bauvericin al prevenir la invasión de bacterias, lo que hace que exista una momificación del insecto hospedero.

### *Lecanicillium lecanii*

*Lecanicillium lecanii* (Ascomycota: Hypocreales) es un importante patógeno de áfidos, mosca blanca, tripsy escamas, que considerando su alta virulencia ha sido desarrollado como agente de control biológico o micoinsecticida (Hall, 1981; Deshpande, 1999; Shah y Pell, 2003)

El género *Lecanicillium* parece haber sido observado por primera vez en Ceylan (Sri Lanka) por el año de 1861, infectando *Lecanium coffea* (Hemiptera: Coccidae). Posteriormente se encontró sobre *Lecanium viridiae* en café por Zimmermann, en Java (Indonesia) y brevemente fue descrito en 1988 con el nombre de *Cephalosporium lecanii* Zimmermann propagó este hongo en agar con nutrientes y destacó la importancia de utilizarlo como agente de control biológico de escamas (Petch, 1925). Desde el punto de vista taxonómico *L. lecanii* ha recibido diferentes nombres, entre los que se mencionan: *Cephalosporium lecanii* Zimmermann (1898), *Cephalosporium aphidicola* Petch (1931), *Cephalosporium muscarium* Petch (1931), *Verticillium hemileiae* Bouriquet (1939) (Brady, 1979), *Verticillium lecanii* (Hall 1981; Samson et al., 1981) y *Lecanicillium lecanii*. El género *Lecanicillium* Gams & Zare fue introducido para acomodar a los hongos anamorfos entomopatógenos y micopatógenos previamente clasificados en *Verticillium* sección Próstata (Zare y Gams 2001) tomando en cuenta su similitud a nivel molecular (secuencia de la región ITS,  $\beta$  tubulin y DNA mitocondrial)

## Ubicación taxonómica

Phylum: Eumycota

Clase: Hyphomycetes

Subdivisión: Deuteromycotina

Orden: Moniliales

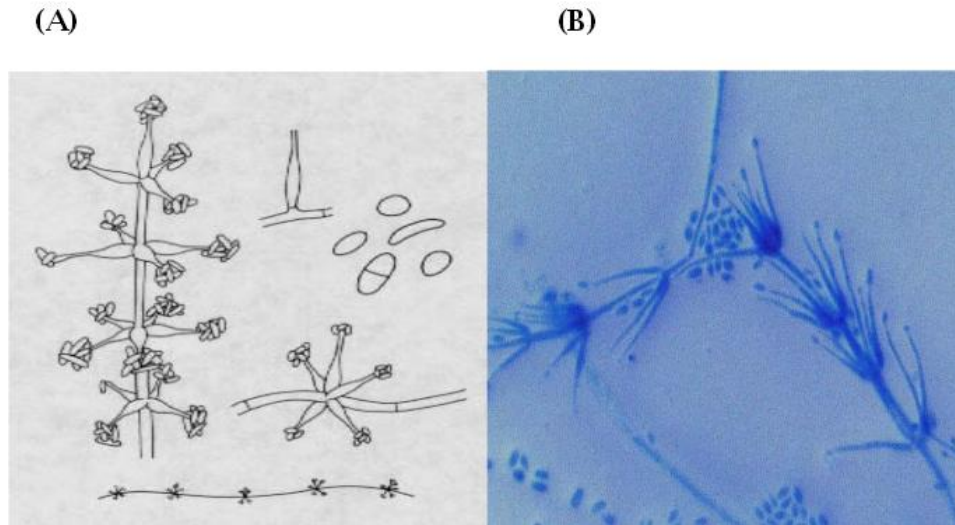
Familia: Moniliaceae

Género: *Lecanicillium*

Especie: *lecanii*

## Morfología

El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* Z. Gams y Zare (Deuteromycete: Moliniales), es un hongo imperfecto que se reproduce asexualmente por conidias, las cuales son pequeñas, hialinas, cilíndricas o elipsoidales y redondeadas, con medidas que varían de 2.3 a 10 milimicras de largo por 1-2.5 milimicras de ancho; estas conidias se encuentran insertadas en los extremos de conidióforos erectos, con fiálides colocadas de manera verticilar. Es un hongo de amplia distribución que puede ocasionar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos.



**Figura 1** Características microscópicas y macroscópicas de *Verticillium spp.* **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *Verticillium spp.* **B.** M microfografía de conidióforos y conidias de *Verticillium lecanii.*

### Actividad entomopatogena

*L. lecanii* infecta principalmente a los áfidos mediante la penetración de la cutícula (Ascaryet *al.*, 1999). Los conidios del hongo se adhieren sobre la cutícula y germinan. La cutícula del insecto está constituida principalmente de una matriz de quitina mezclada con proteínas (Clarkson y Charnley, 1996). Las microfibrillas de quitina constituyen el 30 % de la cutícula de los insectos y representa una barrera para la infección (St.Legeret *al.*, 1986).

El proceso infectivo del hongo se cumple en tres fases: La primera fase de germinación de conidios y penetración de hifas al cuerpo del huésped dura de 3 a 4 días. La penetración del hongo en el huésped ocurre a través de la cutícula. Cuando la penetración se da por la cutícula intervienen lipasas, quitinasas y proteasas. El tubo germinativo de la conidia invade directamente, produciendo unas estructuras abultadas llamadas apresorios que penetran la



epicutícula, dando lugar a cuerpos hifales, los cuales se desarrollan en el hemocele y circulan en la hemolinfa.

El entomopatógeno *V. lecanii* es un hongo de amplia distribución y puede provocar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos de invernaderos (García, 1996)

### **Importancia**

Este hongo que es utilizado como agente de control biológico, se usa para el control de insectos dañinos a las plantas; es muy efectivo y provoca en el insecto la pérdida de sensibilidad, dificultad de movimientos, obstrucción mecánica de los conductos respiratorios, agotamiento de las reservas, interrupción de los órganos y parálisis. (EcuRed 2015).

En la agricultura sustentable, el control biológico se ha convertido en una parte fundamental para el manejo de plagas. Los hongos entomopatógenos, entre ellos *Lecanicillium lecanii*, se han utilizado para la producción de bioinsecticidas para el control de plagas. Una de las principales razones de usar agentes microbianos para el control de plagas es la necesidad de restringir el uso de los pesticidas químicos y orientar la agricultura hacia una actividad ecológicamente sustentable. Los bioinsecticidas han sido definidos como el uso de organismos vivos como agentes para el control de plagas, entre los que se encuentra: baculovirus, bacterias, hongos, nemátodos y protozoario (Cannon R., 1989).

### ***Beauveria bassiana***

De los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, fue uno de los primeros en ser descritos desde 1935, denominándosele “muscardina blanca” en donde se encontró afectando al gusano de seda. Desde entonces es uno de los agentes de control biológico de insectos más importantes. Bálamo, en honor de Agostino Bassi de Lodi nombra a este hongo *Botrytis bassiana*, pero en 1912 Hoog, menciona a dos especies de *B. bassiana* y *B. brongniartii* (Tenella) que afectan a diferentes grupos de insectos (Rosas, 2002).

*B. bassiana* ha sido reconocido en muchas especies de insectos en climas templados y regiones tropicales y es usado para el control de plagas en una moderada escala en Europa del este y en China (Starnes *et. al*, 1993). Por otro lado Méndez (1990) menciona que existen muchos reportes de la incidencia natural de *B. bassiana* causando epizootias que varían en magnitud sobre insectos de importancia agrícola y forestal en su mayoría.

## Ubicación taxonómica

Existen numerosas especies de hongos entomopatógenos reportados en los diferentes grupos taxonómicos los cuales ofrecen posibilidades de usarse como factores de regulación de insectos. La mayoría de los hongos entomopatógenos se encuentran en 10 la división Mycota (Ainsworth.1973).

Reino: Mycota

División: Amatiomicotina

Clase: Deuteromicetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Genero: *Beauveria*

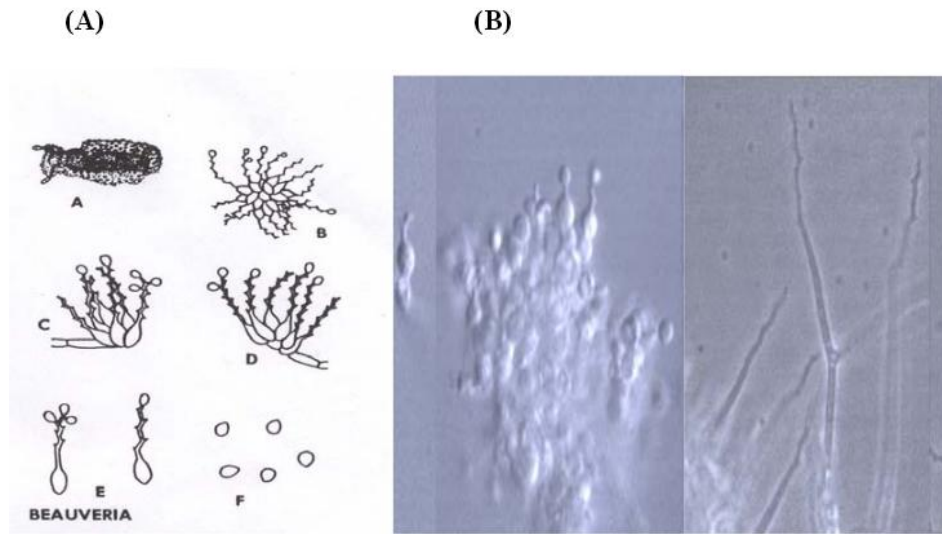
Especie: *bassiana*.

## Morfología

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

*B. bassiana* está definido como un hongo imperfecto, 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 cuales miden de 2 a 3 , con esterigmas curvados e irregulares o dispuestos en zig-zag de color blanco cremoso (Rosas, 1994; DGSV, 1999).



**Figura 2** Características microscópicas y macroscópicas de *Beauveria bassiana*. **A.** Esquema de conidióforos y conidias de *B. bassiana*. **B.** Microfotografía de conidióforos y conidias de *B. bassiana*.

### Modo de acción

Ignoffo (1981), menciona que en el caso de los hongos Hyphomycetes entomopatógenos como *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *N. rileyi*, *P. lavanicus*, presentan su ciclo en dos partes, una es la parasitaria y otra no parasitaria. En la primera las esporas germinan en la superficie de la cutícula de insecto hospedero emitiendo un tubo germinativo el cual penetra al insecto mediante dos mecanismos, uno físico (austorios) y el otro es enzimático, (endotoxinas) antes mencionados.

*Beauveria bassiana* se caracteriza por presentar una apariencia polvosa de color blanco algodonoso o amarillo cremoso. En medio de cultivo alcanza su desarrollo en 21 días a 27°C. Los hospederos de este género son principalmente Lepidopteros, Coleópteros y Heminopteros pero también pueden presentarse en Hymenopteros (Hernández y Berlanga, 1996).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Ubicación del experimento**

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Toxicología, el cual se encuentra ubicado en el departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio, en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

### **Material biológico**

La cría de estos insectos se inició a partir de una colonia madre, para esto en un frasco limpio, se colocó harina y se dejó durante 72 horas en refrigeración con la finalidad de eliminar organismos que pudieran estar en la harina nueva utilizada y ocasionar alguna interferencia con la cría. Transcurridas las 72 horas se colocó en la cámara bioclimática, durante 24 horas con el propósito de proporcionar condiciones favorables para el desarrollo de los insectos, posteriormente se incorporaron insectos adultos, provenientes de la colonia madre y se dejaron por un periodo de 24 hrs para su ovoposición, pasadas las 24 hrs los adultos se retiraron y se mantuvo la harina en observación hasta la emergencia de los nuevos adultos.

### **Método del bioensayo**

Para realizar la evaluación del hongo entomopatógeno, se realizó una solución madre en 100 ml de agua y se agregó 1 gramo del producto(esporas) de hongo *Beauveria bassiana* *Lecanicillium lecanii*, a partir de esta se hicieron diluciones, para la dilución 5 se tomó 1 ml y se diluyó en 99 ml de agua, para las dos veces se hizo lo mismo tomando 1ml de la solución anterior hasta llegar a la dilución final. La concentración de conidias fue

determinada con el apoyo de una cámara de Newbauer, una vez conociendo el número de estas, se determinó la concentración de conidias en las diluciones realizadas, las cuales fueron de  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^0$  y el testigo.

Una vez obtenidas las diluciones (seis), se realizaron los bioensayos con tres repeticiones, utilizando la metodología descrita por *Fatihah et al.*, (2007) con ligeras modificaciones. En cada bioensayo se utilizaron 21 cajas de Petri. El método que se utilizó consistió en poner sobre una tela organza de 10x10 cm una muestra de 10 insectos y sumergirlos durante 5 segundos en las diluciones correspondientes. Posteriormente los insectos tratados se depositaron en su respectiva caja de Petri, la cual se selló, la caja contenía un papel filtro en el fondo con la finalidad de tener la humedad, las cajas se metieron en una cámara bioclimática para tener una temperatura constante y el hongo se desarrollará.

Una vez obtenidas las diluciones, estas se evaluaron solas y con la mezcla de diferentes productos como potenciadores (adherente, leche en polvo y ácidos húmicos), con la finalidad de observar si existe un incremento en su efectividad.

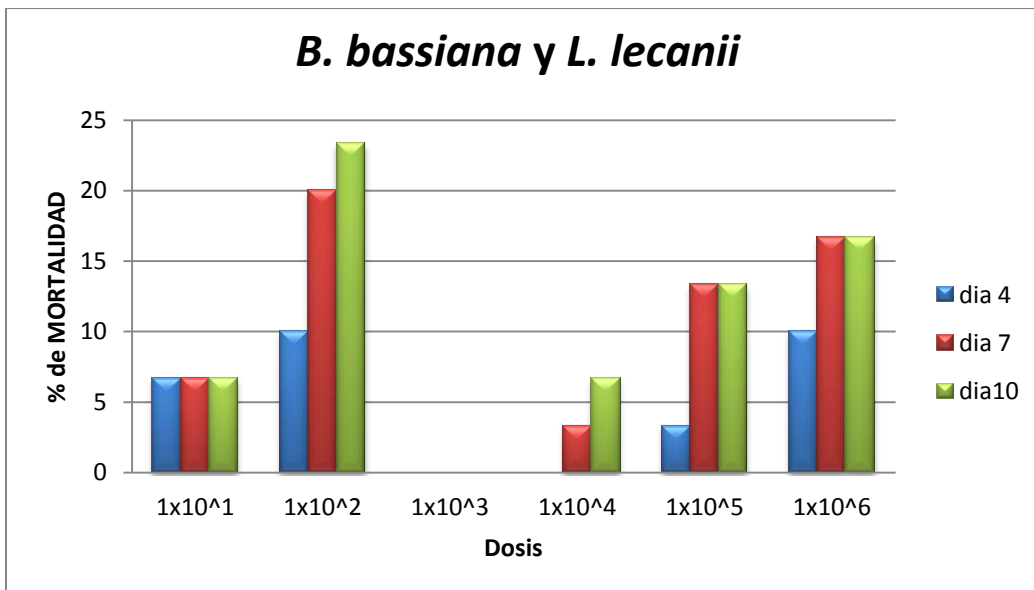
### **Preparación de las mezclas**

Una vez determinada la efectividad del entomopatógeno solo, se realizó la mezcla de las mismas concentraciones evaluadas más los productos potenciadores (adherente, leche en polvo y ácidos húmicos), con el objetivo de evaluar si se incrementaba su eficiencia.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Porcentajes de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con *Beauveria bassiana*+  
*Lecanicillium lecanii* y la mezcla con diferentes potenciadores**

De acuerdo a la **Figura 3**. La combinación de los hongos *B. bassiana* y *L. lecanii* en el día cuatro la dosis  $1 \times 10^2$  fue en la que mayor porcentaje de mortalidad obtuvo, acentuándose en el día 7 y 10, mientras que la dosis de  $1 \times 10^3$  no se obtuvo individuos muertos en ninguno de los días muestreados.

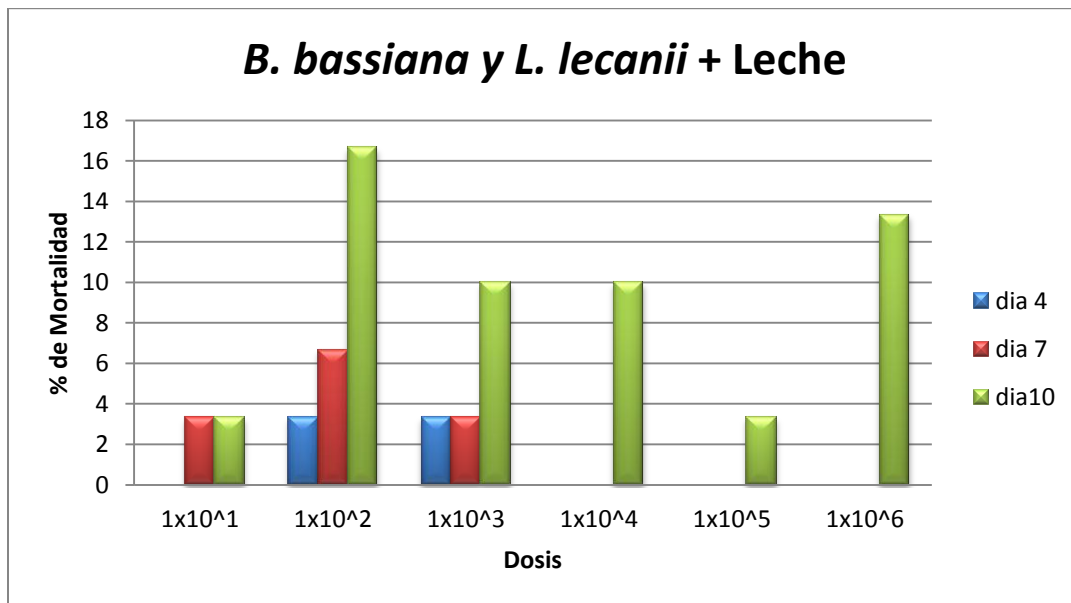


**Figura 3.** Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con la combinación de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* los 4,7 y 10 días después del tratamiento.

En la **Figura 4** observamos a *B. bassiana* y *L. lecanii*+ Leche, para el día 4 la mayor respuesta se obtuvo en las dosis  $1 \times 10^2$  y  $1 \times 10^3$  con un 3% de mortalidad, las peores dosis

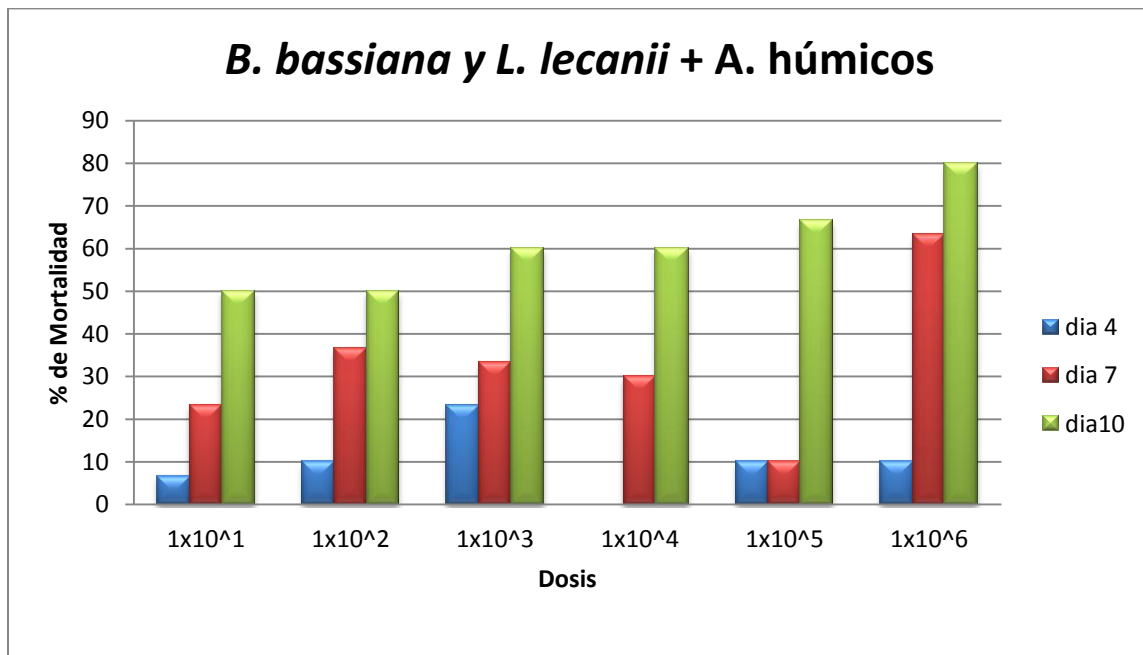


fueron  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  sin mortalidad, en el día 7 la mayor mortalidad fue la dosis  $1 \times 10^2$  y la peores continuaron siendo las dosis  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$ . Finalmente en el día 10 la mejor dosis fue  $1 \times 10^2$  con un 17% de mortalidad de lo contrario a las dosis  $1 \times 10^1$  y  $1 \times 10^5$  con un 3%.



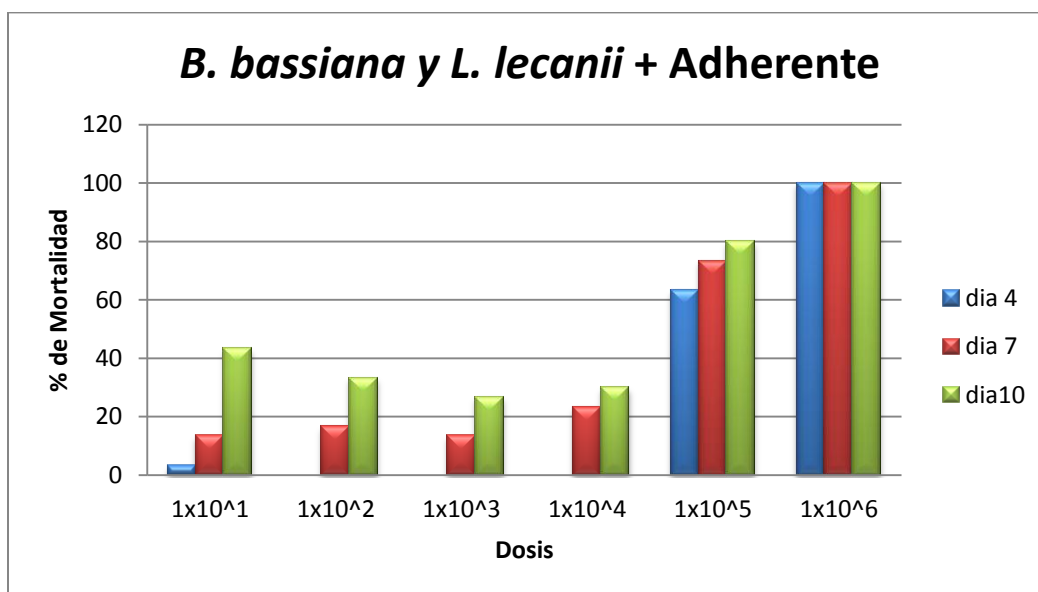
**Figura 4.** Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con la combinación de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*+ Leche a los 4,7 y 10 días después del tratamiento.

Observando la **Figura 5** la combinación *B. bassiana* y *L. lecanii*+ A. húmicos en el tratamiento  $1 \times 10^3$  del día 4 fue la mejor con un 23% de mortalidad, seguida de la dosis  $1 \times 10^2$  solo con 5%, en el día 7 obtuvimos que la dosis  $1 \times 10^6$  fue la mejor con un porcentaje mayor al 60% de lo contrario la dosis  $1 \times 10^1$  solo con un 22%, por ultimo en el día 10 la mejor dosis fue  $1 \times 10^6$  con 80% de mortalidad y la peor fueron las dosis  $1 \times 10^2$  y  $1 \times 10^1$  con un 50%.



**Figura 5.** Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con la combinación de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*+ A. húmicos a los 4,7 y 10 días después del tratamiento.

En la **Figura 6**, para el día 4, el mejor tratamiento fue el  $1 \times 10^6$  ya que desde su comienzo se obtuvo un 100% de mortalidad en los individuos, seguido de la dosis  $1 \times 10^5$  con un porcentaje mayor a 60%, en ese mismo día no se consiguieron resultados de las dosis  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^3$  y  $1 \times 10^4$ , para el día 7 el comportamiento fue similar donde la dosis  $1 \times 10^5$  subió a un 75 % de mortalidad. Finalmente en el día 10, la dosis de  $1 \times 10^5$  alcanzo un 80% de mortalidad y la que menos logro resultados fue  $1 \times 10^3$  con un 25%.



**Figura 6.** Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con la mezcla de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* + Adherente mas adherente utilizado como potenciador.

Al realizar un ANVA por el método multifactorial podemos observar que existe una diferencia significativa entre los factores, donde deducimos que los factores tratamiento, tratamiento\*concentración, tratamiento\*día, concentración, y día tienen significancia estadística.

**Cuadro 1** Análisis de varianza de los factores tratamiento, concentración y días de exposición de adultos de *Sitophilus zeamais* contra el hongo *Beauveria bassiana*+ *Lecanicillium lecanii* y sus mezclas.

---

**Cuadrado de**

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>la media</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>trat3</b>	<b>4.46195788</b>	<b>1.48731929</b>	<b>135.86</b>	<b>&lt;.0001</b>	
<b>trat*conc</b>	<b>15</b>	<b>3.35887265</b>	<b>0.22392484</b>	<b>20.46</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>trat*día</b>	<b>6</b>	<b>0.99674944</b>	<b>0.16612491</b>	<b>15.18</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>conc</b>	<b>5</b>	<b>1.81571724</b>	<b>0.36314345</b>	<b>33.17</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>conc*día</b>	<b>10</b>	<b>0.07836117</b>	<b>0.00783612</b>	<b>0.72</b>	<b>0.7088</b>
<b>día</b>	<b>2</b>	<b>1.62935038</b>	<b>0.81467519</b>	<b>74.42</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>rep</b>	<b>2</b>	<b>0.01439677</b>	<b>0.00719838</b>	<b>0.66</b>	<b>0.5194</b>

---

trat= Tratamientos (Hongo solo y las mezclas con adherente, leche en polvo y ácidos húmicos)conc= Concentración ( $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^1$ )  
día= 4, 7 y 10 días

Al realizar una comparación de medias por el método de Tukey ( $P = 0.05$ ) podemos observar el **Cuadro 2**, que el factor de tratamientos, el que presento un máximo control fue el tratamiento con *B. bassiana* y *L. lecanii*+ Adherente con un valor transformado de 0.36889, seguido del tratamiento de *B. bassiana* y *L. lecanii*+ A. húmicos con un valor transformado de 0.32859, continuando con el tratamiento *B. bassiana* y *L. lecanii* con un valor transformado de 0.08653 y por último el tratamiento *B. bassiana* y *L. lecanii*+ Leche con un valor transformado de 0.04231.

De acuerdo con Vázquez (2002) en los biopreparados de los hongos *V. lecanii* y *B. bassiana* demostraron ser altamente patogénicos a *Cotesia americanus*, con mortalidades mayores del 80%, resultados similares a los de esta investigación.

Vázquez (2002) al mezcla hongos entomopatógenos demostró que la mayor mortalidad y virulencia fue ocasionada por *V. lecanii* por lo que el efecto en las dosis que obtuvimos puede haber sido causada por este hongo.

Para formular un hongo es necesaria la utilización de agentes humectantes, dispersantes, reguladores de la viscosidad, protectores de luz UV, desintegrantes, tensoactivos, solventes, emulsificantes o gelificantes, y otros aditivos que pueden ser nutrientes o estimulantes. Estos materiales favorecen la viabilidad del hongo, mejoran su desempeño en el campo y facilitan su aplicación (Gomez; *et al*, 2012). Por lo anterior podemos mencionar que la mezcla con alguna sustancia no insecticida, puede ser benéfica en el aumento de la virulencia y por ende de la mortalidad que produzca el hongo.

**Cuadro 2** Comparación de las medias de los tratamientos evaluados contra adultos de *Sitophilus zeamais* mediante el método de Tukey.

Tukey	Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	0.36889	54	4	
A	0.32859	54	3	
B	0.08653	54	1	
C	0.04231	54	2	

1: Hongos solos, 2: Mezclas con leche en polvo, 3: Mezcla con ácidos húmicos y 4: Mezcla con adherente

Al realizar una comparación de medias por el método de Tukey ( $P = 0.05$ ) podemos observar el **Cuadro 3** que el factor de concentraciones el que presentó un máximo control fue la concentración  $1 \times 10^6$  con un valor transformado de 0.38477, seguido de la concentración  $1 \times 10^5$  con un valor transformado de 0.26259, continuando con las concentraciones  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^1$ ,  $1 \times 10^4$  los cuales con un valor transformado 0.18485, 0.13972, 0.13535, 0.13221 respectivamente, de éstas últimas y de acuerdo al análisis hecho no hay diferencia alguna entre ellas.

**Cuadro 3** Comparación de las medias de las concentraciones evaluadas contra adultos de *Sitophilus zeamais* mediante el método de Tukey.

Tukey Agrupamiento	Media	N	concentración
A	0.38477	36	6
B	0.26259	36	5
C	0.18485	36	2
C	0.13972	36	3
C	0.13535	36	1
C	0.3221	36	4

Concentración: 6:  $1 \times 10^6$ , 5:  $1 \times 10^5$ , 4:  $1 \times 10^4$ , 3:  $1 \times 10^3$ , 2:  $1 \times 10^2$  y 1:  $1 \times 10^1$

Al realizar una comparación de medias por el método de Tukey ( $P = 0.05$ ) podemos observar el **Cuadro 4** que el factor de días, el que presento un máximo control fue el día 10 con un valor transformado de 0.31539, seguido del día 7 con un valor transformado de 0.20152, por último el día 4 con un valor transformado de 0.10283.

En los estudios de Vázquez (2002) a partir de que los adultos de los insectos que se pusieron en contacto con el biopreparado, la muerte se inició a los 3-5 días, y la esporulación del hongo en las cámaras húmedas se manifestó a los 7-8 días. De modo similar obtuvimos los resultados más favorables en el día 10.

**Cuadro 4** Comparación de las medias de los días de exposición evaluados contra adultos de *Sitophilus zeamais* mediante el método de Tukey

<b>Tukey Agrupamiento</b>		<b>Media</b>	<b>N días</b>
<b>A</b>	<b>0.31539</b>	<b>72</b>	<b>10</b>
<b>B</b>	<b>0.20152</b>	<b>72</b>	<b>7</b>
<b>C</b>	<b>0.10283</b>	<b>72</b>	<b>4</b>



## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que:

- La combinación de los hongos no hubo efecto antagónico entre ellos, por lo que es recomendable trabajar con los dos.
- El mayor control lo ejerce a una concentración de  $1 \times 10^6$ , alcanzando un 100% de mortalidad.
- La mezcla con adherente potencializó la virulencia de los hongos al alcanzar una mayor mortalidad, en comparación con los hongos solos.
- Se puede concluir que el mejor de los tratamientos fue el de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* + Adherente, en la concentración  $1 \times 10^6$  iniciando desde el día 3 donde comenzó a dar resultados.
- Por lo anterior podemos mencionar que las mezclas de hongos con ácidos húmicos es una buena opción de control al incrementar la virulencia del hongo.

## LITERATURA CITADA

- Ainsworth, G.C. 1973. Introduction any keys to higher taxa. En. Ainaworth, G.C. Sparrow, F.K, Saussan, A.S. The fungi an advaneedtrestisc New York Academic Press Inc. Vol. IV A. 621pp.
- Anonimo (s/f). Sitophilus zeamais (Consulta noviembre 2015) <http://www.fao.org/docrep/x5030s/x5030s01.htm>
- Arias, V. C. J. 1985. Programa de prevención de pérdidas de alimentos poscosecha. FAO. RLA. [www.fao.org/inpho/vlibrary/x0053s/xoo53oo.htm](http://www.fao.org/inpho/vlibrary/x0053s/xoo53oo.htm).
- Askary, H., Benhamou, N. and Brodeur, J. 1999. Ultrastructural and cytochemical characterization of aphid invasion by the hyphomycete *Verticillium lecanii*. Journal of Invertebrate Pathology 74: 1-13
- Bond, E.J.1973. Chemical control of stored grain. Insects and mites. Grain storage part of a system. Sinha Muir. The Avi Publishing Co. U.S.A. 875 p.
- Clarkson, J.M. and Charnley, A.K. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. Trends in Microbiology. 4:197-203.
- Deshpande, M.V. 1999. Mycopesticide Production by Fermentation: Potential and Challenges. Critical Reviews in Microbiology 25(3):229-243.
- EcuRed. 2015. Conocimientos para todo. [www.ecured.cu/index.php/Verticillium\\_Lecanii\\_consulta\\_16/02/15](http://www.ecured.cu/index.php/Verticillium_Lecanii_consulta_16/02/15).

- Fatiha, L.; A, Shaukat.; R, Shunxiang.; A, Muhammad. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticilliumlecanii* against *Bemisiatabaci* (HOMOPTERA: Aleyrodidae) on eggplant. *PakistanEntomology*. 29 (2).
- Ferron, P. 1985. Ocurrence and pathogenicity of *Beauveria bassiana* infesting larval *Sitonadiscoideus* (Col: Curculionidae) in the Mediterranean region. *En tomophaga*. Florida. 30(1): 73-82.
- Fields; G.P. 1992. The control of stored-product insects and mite with extreme temperatures. *J. StoredProd. Res.* 28(2) 69-118p
- Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (FND). 2014. Panorama del maíz. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. Secretaria de Hacienda y Créditopublico. [www.financierarural.gob.mx/.../Panorama%20Maíz%20\(may%202014](http://www.financierarural.gob.mx/.../Panorama%20Maíz%20(may%202014)
- García Leños María L., Aguirre Gómez José A., Narro SánchezJesus, Elvira Cortés Baheza y José Guadalupe Rivera Reyes (2007). Silo hermético para el control de plagas de granos almacenados en Guanajuato, México. *Agric. Téc. Méx* vol.33 no.3 México sep./dic. 2007.
- García-Lara S, C. Espinosa Carrillo y D.J. Bergvinson. 2007. Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. México, D.F.: CIMMYT Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz. p. 7

- García Rodríguez Ixida. 1992. Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* Motsch.(Coleoptera: Curculionidae) a insecticidas de diferentes grupos toxicológicos detres áreas de Veracruz. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Instituto de ciencia y cultura. 54 p.
- García J. 1996. Evaluación de cepas nativas de *Verticilliumlecanii*(Zímm.) Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Tesis pregrado, Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá. 121 p.
- González, J., O. Arregoces, R. Hernández y O. Parada. 1983. Insectos y ácaros plagas y su control en el cultivo de arroz en América Latina. Ed. Federación Nacional de Arroceros. Bogotá, Colombia. pp: 50-54.
- Granados, G. 2001. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y Producción. In: Manejo Integrado de plagas. FAO. Roma (Italia).
- Guerrero Rodríguez Eugenio. Silva Martínez Hilda L. Corrales Reynaga Jorge. 2003.
- Guzmán Ibarra Martín. 2009. Monografía. Conservación de granos almacenados. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 63p.
- Hall, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphid and scales. In: Burges, H.D. (ed) *Microbial Control of Pest and Plant Disease*. Academic Press, New Yourk.483-498 pp.
- Hernández G., A. y A. Carballo C. 2014. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para

el Desarrollo Rural. Colegio de Postgraduados. (Consulta: 05/05/2014)

Disponible: [www.sagarpa.gob.mx/.../Almacenamiento%20de%20semillas.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/.../Almacenamiento%20de%20semillas.pdf)

Hernández, V. V. M., P. A. M<sup>a</sup>. Berlanga. 1996. Control Microbiano con Hongos Entomopatógenos. Memoria. II Curso de Actualización en Control Biológico. Tecoman, Colima. Mayo. pp. 94-106.

Ignoffo, C. M. 1981. The fungus *Nomuraearileyi* as a microbial insecticide En: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Burgues. H.D (ed.) Academic Press, NY. pp. 541-580.

Lagunes T., A. 1994. Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Memoria. Colegio de Postgraduados USAID-CONACYT-BORUCONSA. México. pp:32.

López L.V.; Hans Börje J. (2001) Biodiversidad del suelo: control biológico de nemátodos fitopatógenos por hongos nematófagos. Cuaderno de Biodiversidad 6: 12-15 pp.

Méndez, M. P. y S. G. H. Rosas. 1978. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* como una alternativa de control de termitas. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas.

Okelana, F.A. y Osuji, F.N.C. 1985. Influence of relative humidity at 30°C on the oviposition, development and mortality of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) in maize kernels. Journal of Stored Products Research, 21: 13-19.

Paez L., A. 1987. El uso de polvos vegetales e inertes minerales como una alternativa para el combate del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera:

- Curculionidae) en maíz almacenado. Colegio de Postgraduados. Tesis de maestría. 108p.
- Petch, T. 1925. Studies in entomogenousfungi. Transactions of BrithishMycological Society 16:55-75
- Petch, T. 1931. Notes on entomogenous fungi. Transactions of the British Mycological Society16:55-75.
- Rodríguez R., R. 1990. Perspectivas de la investigación entomológica de productos almacenados en la zona sur de México. XXV Congreso Nacional de Entomología, II Simposio Nacional, Entomología de productos almacenados. Perspectivas de la investigación en México. Ediciones Mexicanas de Postcosecha Vol. II, Oaxaca, Oaxaca, México. p. 43–51.
- Rodríguez R., R. 1990. Perspectivas de la investigación entomológica de productos almacenados en la zona sur de México. XXV Congreso Nacional de Entomología, II Simposio Nacional, Entomología de productos almacenados. Perspectivas de la investigación en México. Ediciones Mexicanas de Postcosecha Vol. II, Oaxaca, Oaxaca, México. p. 43–51.
- Rosas, A. S. L. 2002. Hongos Entomopatógenos. Memorias, Curso Internacional de Patología de insectos. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Cap. 5:49.
- Samson, R. A. 1981. Identification: EntomopathogenicDeuteromycetes. In: Burges, H.D. (ed) 1981. Microbial control of pest and plant diseases. Academic Press, London. pp. 93-105

- Scharf, M.E. 2008. Bioassays with arthropods. *Florida Entomologist*,91(3): 510-511.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2011. Listado de plaguicidas de uso agrícola. Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera
- Shah, P.A. and Pell. J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61:413-423.
- St. Leger, R. J., Cooper, R. M. and Charnley, A. K. 1986 a. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi cuticle degradation in vitro by enzymes from entomopathogens. *Journal of Invertebrate Pathology*47:167-177.
- Starnes, R. L., Liu, Ch. L. and Marrone P.G. 1993. History, use, and future of microbial insecticides. *American Entomologist*. USA. (39): 83-90
- Subramanian, C.V. 1971. *Hyphomycetes*, Vol. I Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- Tanada, Y. and Kaya K. H. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego, Ca. 666 p.
- Vázquez, Luis L. EFECTO DE VERTICILLIUM LECANII Y BEAUVERIA BASSIANA SOBRE COTESIA AMERICANUS (LEPELETIER) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE), PARASITOIDE DE LARVAS DE LA PRIMAVERA DE LA YUCA (ERINNYIS ELLO L.) *Fitosanidad*, vol. 6, núm. 1, marzo, 2002, pp. 25-27 Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana, Cuba
- Zare, R. and Gams, W. 2003. *Lecanicillium lecanii*. Description of pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Mycological Institute. No. 1565.